Revista *SEMILLEROS Med*

FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA

DIRECTOR

CR. MD. Juan Miguel Estrada Grueso
Decano Facultad de Medicina

COORDINADORA DE EDICIÓN

Martha Lucía Torres Chaparro, M.Sc.
Docente Ciencias Básicas

EDITOR

Omar Javier Calixto Castaño
Estudiante VII semestre

COEDITORES

Esteban Camilo Rodríguez Estupiñán
Estudiante XII semestre
Carlos Alberto Barrera Rojas
Estudiante V semestre

COMITÉ EDITORIAL

Enrique Melgarejo Rojas, MD.
Docente Semiología
Beatriz Pescador Vargas, M. Sc.
Docente Ciencias Básicas
Martha Lucía Torres Chaparro, M. Sc.
Docente Ciencias Básicas
Ernesto L. Ravelo Contreras, Ps.
Asesor Revista Med

GRUPO COLABORADOR DE EDICIÓN

Juliana Andrea Arteaga Quintero
Estudiante IV semestre
Claudia Cárdenas Hernández
Estudiante VII semestre
Briyit M. García Rodríguez
Estudiante VIII semestre
Iván Mauricio González Zambrano
Estudiante V semestre
Juan Sebastián Montoya Morales
Estudiante IV semestre
Cristian C. Murcia Guzmán
Estudiante VII semestre
Angélica María Pinzón Beltrán
Estudiante VI semestre
Andrés C. Prieto Forero
Estudiante VII semestre
Julie Paola Sánchez Cárdenas
Estudiante VI semestre
Laura J. Urbina Riveros
Estudiante IV semestre
Laura Zea Quintero
Estudiante II semestre

COMITÉ CIENTÍFICO

Juan S. Bravo Ojeda, MD.
Egresado Facultad de Medicina
Oscar Manrique Mogollón, MD.
Egresado Facultad de Medicina
Iván A. Méndez Rodríguez M. Sc.
Docente Ciencias Básicas
Oscar Ortega Hernández, MD.
Egresado Facultad de Medicina
Diana P. Pachón Barinas, M. Sc.
Docente Ciencias Básicas
Paul Rainer Gis, MD.
Egresado Facultad de Medicina
Sandra Rodríguez Martín, B. Sc.
Docente Ciencias Básicas
Mayerli B. Rodríguez Martínez, MD.
Egresada Facultad de Medicina

DISEÑO DE PORTADA

Luis Fernando Sastre
Estudiante XII semestre

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

M. G. Eduardo Antonio Herrera Berbel
Rector
B.G. Alberto Bravo Silva
Vicerrector General
M.G. Édgar Ceballos Mendoza
Vicerrector Administrativo
Dra. Martha Lucía Bahamón Jara
Vicerrectora Académica
José Ricardo Cure Hakim Ph. D.
Vicerrector de Investigaciones
CR. MD. Juan Miguel Estrada Grueso
Decano Facultad de Medicina

Diagramación e Impresión:
Editorial Kimpres Ltda.
PBX: 413 6884
Bogotá, D.C.

Dirección de Correspondencia: Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada
Transversal 3 Nº 49-00 Bogotá, D.C. Colombia
Conmutador" 6500000 Ext.: 2046
e-mail: revista.semillerosmed@unimilitar.edu.co

CONTENIDO

Volumen 5 • No. 1 • Marzo de 2011

EDITORIAL

Es más que actividades extracurriculares
Omar J. Calixto Castaño 4

ARTÍCULOS ORIGINALES

Biopsias por aspiración con aguja fina y gruesa de lesiones de seno en el Hospital Militar Central durante los años 2006- 2008
Diana Cháves S., Sofia Garzón R., Dayanis Pinzón G., Claudia Robayo G., Paula Sánchez V., Diego Vanegas S, y Alfredo Ballén T. 5

Búsqueda de anticuerpos IgM en población de riesgo de adquirir leptospirosis
Diana P. Pachón, Andrea E. Rodríguez, Iván Alberto Méndez 12

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Deficiencia de alfa-1 antitripsina en relación al hábito tabáquico
Aura Barrero, Natalia Buitrago, Jose F. Mikán V. 17

El eslabón perdido entre la respuesta inmune innata y la adaptativa, NKT's
Omar J. Calixto, Juan F. Vásquez, Diana P. Pachón B. 24

Biología y epidemiología del VIH, un virus enigmático
Natalia C. Perdomo B., Iván A. Méndez 37

Papel del gen tcirg-1 en osteopetrosis y propuesta de un enfoque terapéutico alternativo
Camilo Gómez, Nestor Caicedo, Manuel Benítez, Daniel Franco, José F. Mikán 47

Etiología, aspectos clínicos y tratamiento de la dermatitis atópica. Revisión
Piedad Almario, Nataly González 56

Deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa: un defecto fatal para el eritrocito que conduce a su hemólisis prematura
Diana C. Poveda. Sandra L. Rodríguez Martín 63

Una visión al estado hiperglucémico hiperosmolar
Andrés F. Galindo R., Nórida T. Núñez G., Luis C. Ribón V. 70

Diagnóstico temprano de la síntesis y/o traslocación defectuosa de sglt1 en síndrome de malabsorción glucosa galactosa
Angie V. Amador R., Laura C. Leal F., Luz C. Martínez M., José F. Mikán V. 79

REPORTES DE CASO

Pancreatitis necrotizante por trauma: reporte de caso
Esteban González M., Carlos González, Kelly Guerrero, Javier Hernández 85

PACIENTE IMAGINARIO 5
Esteban Rodríguez 93

REFLEXIÓN

Consumo moderado de alcohol
Paula A. Jaime, Nestor D. Caicedo, Luis A. González 95

ENTORNO

I. Los premios nobel en medicina y su importancia en el desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas y en el diagnóstico 3 97
II. *Sabía usted que…* 99
III. Congresos de Medicina 99
IV. ¿Sabe qué es el TOEFL? 101
V. ACEMED-UMNG abre fronteras 103
VI. Respuestas caso clínico 104

CARTA AL EDITOR 105

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES 107

Los auores son responsables de lo artículos aquí publicados.

FE DE ERRATAS

Artículo: "Síndrome de Mirizzi: caso clínico y revisión de la literatura"
Pagina 50: Tabla 1. Resultados del hemograma. Los valores enunciados se presentan con la unidad de medida mg/dl. Debe decir: recuento de glóbulos blancos 4.800-10.800 células/mm3, recuento de glóbulos rojos 4.000.000-5.400.000 células/mm3, Hemoglobina 12-16 g/dl, hematocrito 37-47%, VCM 80-94 fl, MHC 27-31 pg/célula, MCHC 31-37 g/dl y plaquetas 150.000-450.000 celulas/mm3. Respecto al conteo diferencial las unidades deben ser en porcentaje.
Pagina 51: Tabla 2. Resultados de química sanguínea. Los valores de AST, ALT y fosfatasa alcalina se presentan como mg/dl done la medida correcta es UI/L.

EDITORIAL

OMAR JAVIER CALIXTO[1]

ES MÁS QUE ACTIVIDADES EXTRACURRICULARES

Como todos sabemos, el nivel de conocimiento aumenta de manera exponencial cada año y se difunde por todo el mundo por medio de publicaciones en revistas. En relación con la información sobre temas en Medicina, los diferentes medios de difusión diariamente publican varios artículos en las diferentes áreas; por ejemplo, sólo en PubMed en el año 2010 se registraron 822.516 publicaciones. Este fenómeno nos obliga a los estudiantes de medicina a tener criterio selectivo en el momento de la búsqueda y evaluación de la información que nos muestran; no obstante, para poder lograrlo es importante un cambio en nuestra actitud donde prime la capacidad analítica, la crítica (no solo hacerla sino también aceptarla) y la humildad para buscar ayuda en personas que son expertas en el tema.

El mundo, en constante evolución cambia rápidamente y a estos debemos responder apropiadamente. Sin embargo, para no ser simples espectadores, en espera de mejores resultados e información nueva, es importante que participemos en los procesos que nos permitan adquirir las herramientas que nos ayuden a desarrollar aptitudes para generar nuevas iniciativas y nuevo conocimiento. La generación de conocimiento se logra a través de la investigación y la difusión de ese conocimiento se hace por medio de publicaciones en revistas que tengan visibilidad, o por conferencias en los congresos que son los espacios en los que los expertos en un tema específico, presentan de manera concreta la última información que han obtenido en su práctica profesional.

A medida que aumenta la producción de conocimiento debe haber un cambio en la educación, en donde se haga mayor énfasis en un cambio de actitud, que nos haga más participativos; es importante que desde las primeras etapas de formación se involucre a los estudiantes en el ámbito investigativo y se les brinde la oportunidad de participar en congresos, no solo como asistentes, sino de forma más activa, presentando posters y porque no, como conferencista en los eventos que tienen sesiones especiales para que los estudiantes presenten resultados de las investigaciones en las que han participado. Esto permite adquirir nuevos puntos de vista y al desarrollo de aptitudes acordes a la nueva panorámica global. Un ejemplo de ello son los estudiantes de nuestra Facultad de Medicina que participaron en la organización y logística del V Congreso Colombiano de Morfología que se realizó en el mes de noviembre del 2010, a quienes les queremos hacer un reconocimiento especial. En este evento los estudiantes de primer año participaron en la sección de posters elaborados en diferentes proyectos junto a docentes en el área de anatomía y morfología y luego, con la colaboración de algunos de los integrantes de la Revista Semilleros Med, se elaboraron cinco artículos los cuales serán publicados en el próximo volumen de la revista. Esta fue una labor que demandó un gran esfuerzo de parte de todos los involucrados, pero luego de su realización se pudo apreciar por los resultados obtenidos la importancia de incentivar la participación estudiantil desde los inicios de su carrera profesional.

La participación estudiantil es un fenómeno que está tomando fuerza alrededor de nosotros y es por esto que debemos ser consientes que se requiere, pues no es solo la fuerza que permite a los docentes siempre estar a la vanguardia y brindar una oportunidad magnífica al propio estudiante, sino también es la energía y la motivación del estudiante la que permite la renovación de la academia. Nunca es tarde para empezar y es real que no es necesario tener una cierta edad para poder participar en la creación y desarrollo de una gran idea.

[1] Editor Revista Semilleros ***Med*** y estudiante VII semestre Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.

BIOPSIAS POR ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA Y GRUESA DE LESIONES EN SENO EN EL HOSPITAL MILITAR CENTRAL DURANTE LOS AÑOS 2006-2008

Diana Cháves S.[1], Sofia Garzón R.[1], Dayanis Pinzón G.[1], Claudia Robayo G.[1]* Paula Sánchez V.[1], Diego Vanegas S. Md.[2] y Alfredo Ballén T. Md.[2]*

Resumen

La biopsia por aspiración es un método ampliamente utilizado y reconocido para el diagnóstico temprano de patologías, que se manifiestan en órganos y tejidos tanto superficiales como profundos, permitiendo así la extracción inmediata de una muestra de tejido, por medio de una punción percutánea o directa utilizando presión negativa. Presenta una clara ventaja sobre la biopsia excisional ya que es poco invasiva, muy precisa, con un riesgo mínimo de complicaciones, se evidencia menos dolor, la estancia hospitalaria es más corta, no siempre se requiere el uso de salas de cirugía, no se asocia a alteraciones estéticas mayores y el costo tanto para la institución como para el paciente es menor. En este artículo se describe la técnica realizada en el servicio de cirugía de seno en el Hospital Militar Central (HMC), en el periodo comprendido entre diciembre del 2006 y septiembre 2008, tiempo en el cual se realizaron 145 procedimientos de biopsia por aspiración con aguja fina (ACAF) y biopsia con aguja gruesa en tejido mamario, siendo mas común el uso de aguja gruesa para el diagnostico de lesiones en seno.

Palabras clave: ultrasonografía, aspiración con aguja fina, biopsia con aguja gruesa

FINE NEEDLE ASPIRATION BIOPSYS AND DIRECT BIOPSYS IN BREAST LESIONS IN "HOSPITAL MILITAR CENTRAL" DURING THE PERIOD 2006-2008

Abstract

The aspiration biopsy is a method widely used and recognized for the early diagnosis of Pathologies in organs and superficial or deep tissue; it allows the immediate extraction of the lesion by percutaneous needle aspiration or by direct biopsy through the mucous, using negative pressure. Percutaneous needle aspiration presents a clear advantage over the percutaneous biopsy, since it is slightly invasive, precise, with a minimal risk of complications, with less pain, and lower hospitable stay, less use of surgery rooms, whit best aesthetic, and something very important the aspiration biopsy decrease costs for the institution and for the patient. This article describes the method followed in the breast surgery service at the Central Military Hospital (HMC), in the period between December 2006 and September 2008, time span in which 145 procedures of biopsy were performed by thin needle aspiration (ACAF) and thick needle biopsy in mammary gland, being most commonly used for the diagnosis of breast injuries.

Key words: fine needle aspiration biopsy, ultrasonography

Introducción

La biopsia por aspiración es un método diagnóstico invasivo cuyo objetivo principal es la extracción directa de una muestra de tejido afectado, por medio de una punción percutánea o directa en la mucosa (endoscópica) utilizando presión negativa; en la literatura se encuentran diversas denominaciones para este método diagnóstico, las cuales dependen del instrumento utilizado para realizar el procedimiento. Lo ideal es utilizarla para lesiones palpables iguales o mayores a un centímetro (cm), pero cuando estas no lo son y dependiendo de la ubicación de la lesión a estudiar, el uso de ultrasonografía o endoscopia es útil para guiar

[1] Estudiante séptimo semestre Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Cirujano General, Grupo de Cirugía de seno y tejidos blandos. Hospital Militar Central.
* Correspondencia: Luz Dayanis Pinzon Garzon: luzdayanis16pinzon@gmail.com; Claudia Ximena Robayo: ximena_rg5@hotmail.com. Dirección postal: TR. 3 #49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá.

el procedimiento, aumentando la efectividad y utilidad de este método diagnóstico.

Las lesiones no palpables detectadas por imágenes eran diagnosticadas anteriormente con arpón, práctica que hoy en día ha sido descontinuada debido a la gran cantidad de lesiones benignas sometidas a biopsia y a las complicaciones que con lleva esta técnica quirúrgica. Se ha potenciado e implementado el uso de diferentes técnicas de biopsia percutáneas que combinadas con la ultrasonografía, son muy eficaces a la hora de realizar biopsias a lesiones no palpables reemplazando así a las biopsias excisionales por las incisionales (1).

La biopsia por aspiración es un método ampliamente utilizado hoy en día y reconocido para el diagnóstico de patologías que se manifiestan en órganos y tejidos tanto superficiales como profundos, es poco invasiva, muy precisa, tiene un índice reducido de complicaciones y tiene una clara ventaja sobre la biopsia excisional ya que disminuye el dolor, la estancia hospitalaria, el uso salas de cirugía y las consecuencias estéticas; implicando menos costos para la institución y para el paciente (2-6). La finalidad de este procedimiento es obtener un diagnóstico temprano para un adecuado manejo del paciente, ya que permite distinguir entre lesiones de origen maligno o benigno, y plantea el beneficio que se obtiene de la cirugía al diferenciar las lesiones quirúrgicas de las no quirúrgicas (2,3,7-11). La ACAF y la biopsia por aspiración con aguja gruesa son dos métodos diagnósticos donde el principio y objetivo es el mismo pero el instrumento utilizado es diferente, lo cual le confiere a cada uno una denominación diferente.

Hablando de forma independiente de cada una, en la ACAF podemos utilizar una jeringa generalmente de 10 a 20 cm y una aguja de calibre 20 gauges (G) a 22 G para la obtención de forma percutánea aplicando presión negativa sobre la lesión, y obteniendo líquido en el caso de una lesión quística o pequeñas porciones de tejido para una lesión nodular, que posteriormente serán enviadas a patología para estudio citológico o inmunohistoquímico dependiendo de lo que se requiera según la patología estudiada. En el caso de la biopsia por aguja gruesa se pueden utilizar también jeringas entre 10 a 20 cm y agujas de un mayor calibre que las utilizadas para la ACAF, entre 18 G y 14 G para obtener ya sea líquido en el caso de una lesión quística o cilindros de tejidos de mayor tamaño, en comparación con lo que se obtiene en la ACAF, y que posteriormente serán enviadas a patología para el estudio histológico. Con el auge de la tecnología en medicina se han diseñado nuevos elementos como el set para biopsia con sistema de vacío tipo *SONOCAN*, con agujas con calibre que van desde 17 a 21 y un porta jeringas, el cual permite la toma de la muestra con una sola mano facilitando la fijación de la lesión con la otra mano.

Historia

El término biopsia fue acuñado hace 124 años por el dermatólogo francés E.H. Vencer, fue inicialmente utilizada para el reconocimiento de patologías específicas especialmente infecciosas y con el tiempo esta técnica ha ido evolucionando (12,13). La técnica de la ACAF fue descrita por primera vez en tumores de cabeza y cuello en 1847 por Kaun (9,14). En en 1912 Hirschfeld y Guthrie utilizaron este procedimiento para diagnosticar linfomas (2,15). Durante la primera mitad del siglo XX, la biopsia por aspiración alcanzó poca o ninguna aceptación por presentar variaciones en la técnica, y fue solo hasta los años cincuenta que se demostró su utilidad, gracias a varios estudios suecos (9,14); posteriormente James Paget comenzó a utilizar el procedimiento en el diagnóstico de tumores mamarios; sin embargo, es hasta veinte años mas tarde que alcanza su aceptación en Europa. En el *Memorial Hospital* de New York, los cirujanos Hayes Martín y Bradley Coley, con la colaboración de Edward Ellis y la participación como patólogo de Fred W. Stewart, realizaron miles de estudios de ACAF en diferentes lesiones, que los llevaron a ser los pioneros en dicha técnica (2,3,9,13,14,16-18)

Los estudios realizados para la validación de la aspiración con aguja fina como procedimiento efectivo data de los años 50 y actualmente, la precisión de esta técnica es alrededor del 95% (17). En los años 70, en Estados Unidos se comenzó a utilizar la ACAF en lesiones de glándula mamaria y en los 80, este método se generalizó tanto por los patólogos como por los hematoncólogos, convirtiéndose con el pasar de los años en un método diagnóstico habitual (18). A finales de los años 80, se estandarizaron las técnicas de punción percutánea, como la punción por aspiración con aguja fina o la biopsia con aguja gruesa, que permitieron la obtención de una muestra de tejido, sin necesidad de una biopsia excisional. A mediados de los años 90 se comercializaron nuevas técnicas de punción que permitieron la obtención de muestras de mayor volumen, más representativas de la lesión a estudio (15).

Hoy en día, la ACAF admite dos grandes apartados: la punción de órganos superficiales y de órganos profun-

dos. Son considerados como órganos superficiales todos aquellos que puedan ser explorados por palpación, fácilmente accesibles como tiroides, mama, glándulas salivares, ganglio linfático de cadena superficial, etc. y es así que la denominada punción por aspiración de nódulos profundos, queda restringida para aquellos órganos en los que la exploración requiera medios más sofisticados, tales como radiología, ultrasonografía, TAC, resonancia magnética nuclear (RMN), etc. (11,13).

Epidemiología

En Colombia la incidencia de cáncer de seno es de 26 a 36 casos nuevos por 100.000 mujeres; actualmente es la primera causa de cáncer en la mujer y ocupa el tercer lugar en mortalidad por cáncer; por esta razón se hace necesario el avance de los métodos diagnósticos.

En la literatura hay muchos estudios comparativos acerca de la ACAF y la biopsia por aspiración con aguja gruesa, los cuales buscan determinar la eficacia y la utilidad de ambos métodos diagnóstico y se evalúan parámetros tales como los materiales, el costo y el beneficio para el paciente, pero los resultados obtenidos son diversos y contradictorios. Un estudio retrospectivo realizado en el Hospital General de México y la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de México mostró que tanto el ACAF como la biopsia por aspiración con aguja gruesa presentan la misma proporción de falsos negativos (ocho casos en cada procedimiento): 6,7% en ACAF y 7% en la biopsia por aguja fina; también se observó que los resultados pueden variar dependiendo de la calidad de la muestra, la experiencia del observador y las características celulares de la lesión; con este estudio se llegó a la conclusión que no hay diferencias significativas entre ambos métodos de diagnóstico (27).

En otro estudio realizado en Singapur con 39 mujeres a las cuales se les realizó los dos procedimientos: la ACAF realizada con aguja calibre 23 G y jeringa de 10 ml y la biopsia por aspiración con aguja gruesa con aguja calibre 18 G *Autovac*, los resultados mostraron que la tasa de detección del cáncer de seno por la aspiración con aguja fina es de 90% y en la biopsia por aspiración con aguja gruesa es de 67%; la explicación de estos resultados es que por la técnica con aguja fina, el muestreo puede ser multidireccional y es de fácil manejo, mientras que con la aguja gruesa se puede lograr un muestreo unidireccional y la técnica utilizada es menos práctica por el calibre de la aguja; sin embargo, la biopsia por aspiración con aguja gruesa dio un diagnóstico que se relacionó con el histológico en un 100%, mientras que con aguja fina la mayoría de veces es necesario realizar una biopsia excisional para obtener un diagnóstico histológico final antes de proceder a una cirugía definitiva (28).

Se han realizado otros trabajos en los cuales además de mirar la sensibilidad y especificidad del ACAF se determina la prevalencia de lesiones tanto malignas como benignas. En el Hospital General de México se revisaron 778 casos a los cuales les realizaron ACAF; las lesiones benignas se encontraron con mayor frecuencia en la mama derecha con predominio en los intercuadrantes externos, en tanto que las lesiones malignas tuvieron una mayor frecuencia por la mama izquierda con predominio del cuadrante superior externo (CSE). Este estudio demostró una sensibilidad y especificidad del 100% valor predictivo positivo, valor predictivo negativo de 100% y exactitud de 100% para ACAF (18). En otro estudio retrospectivo realizado por el Servicio de Patología Mamaria del Instituto de Oncología del Salvador, en donde se evaluaron un total de 8.500 citologías de pacientes con edades entre 14 y 90 años, el 91% eran lesiones sólidas y el 9% quísticas, el 59% benignas y el 41% malignas y el 10% de los resultados de las citologías fueron falsos positivos. La sensibilidad fue del 90% y la especificidad 94%, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo del 90%, con lo que concluyeron que la citología por ACAF es altamente confiable y permite diagnosticar rápidamente los tumores mamarios (10).

Se puede concluir que los dos procedimientos tienen una sensibilidad y especificidad mayor o igual al 80% y por lo tanto la validez diagnóstica es adecuada para clasificar los diferentes tipos de lesiones en seno ya sean benignas o malignas. En cuanto a valor predictivo positivo y negativo se encontró que era mayor del 90%, determinando así que tanto el ACAF como la Biopsia por aspiración con aguja gruesa son seguros a la hora de ser utilizados como métodos diagnósticos. Por otro lado, los valores de falsos positivos y negativos no son concluyentes ya que no se encuentran datos sobre estos en la mayoría de estudios. Los dos procedimientos requieren de personal entrenado, generalmente un cirujano, con amplio conocimiento del tema y experiencia, ambas técnicas se recomiendan para el estudio de lesiones palpables que estén entre 1 y 2 cm; cuando la lesión es menor a este tamañom, la técnica debe ser guiada con ultrasonido. Con estas dos técnicas se evalúan tanto los cambios morfológicos como la arquitectura de las células; sin embargo, la biopsia por aspiración con aguja gruesa puede dar una muestra de tejido más

adecuada en cantidad de células que las que se obtienen con la aspiración por aguja fina. A pesar de que la ACAF es un método mas económico, rápido y sencillo asociado a menos complicaciones con un resultado que se puede obtener en pocas horas, es cada vez menos usado y remplazado por la biopsia por aspiración con aguja gruesa. También se observa que en la mayoría de centros especializados donde se realizan estas técnicas, se elige una de ellas, dependiendo de las ventajas y desventajas que presentan en cada caso en particular.

Usos

Las indicaciones acerca del uso de ACAF y la biopsia por aspiración con aguja gruesa son múltiples y se encuentran sustentadas en el estudio de masas sospechosas de órganos que sean fácilmente ubicables por palpación, imagen diagnóstica o endoscopia (13,19).

En algunas instituciones la conducta para el diagnóstico de lesiones de mama es: ecografía, mamografía y biopsias percutáneas; si el resultado es indeterminado o no concuerda con las imágenes, es necesario la biopsia excisional, aunque ésta debe ser restringida a los casos en los que se requiera remover el tumor. En caso contrario, donde no se requiera remover el tumor, la biopsia por aspiración con aguja gruesa es un procedimiento de gran efectividad y seguridad, para el diagnóstico de lesiones malignas como el carcinoma ductal infiltrante (20). En este artículo se hace referencia al uso que tienen estos métodos diagnósticos en patología mamaria, en el cual es muy utilizado en el diagnóstico de masas y nódulos en estudio.

Complicaciones

Con este procedimiento se pueden presentar en un 0,6% a un 2,9% de los casos, una de las siguientes complicaciones: formación de hematomas, hemorragia dentro de la lesión, infección en la zona de punción, dolor y lesiones nerviosas (2,5,7,19,21). Existen factores inherentes y no inherentes al procedimiento que favorecen las complicaciones; dentro de los primeros, falta de colaboración del paciente, múltiples punciones realizadas para obtener una muestra adecuada y el uso de aguja de gran calibre durante el procedimiento. Los segundos están relacionados con las condiciones clínicas particulares del paciente como coagulopatías, grado de afectación sistémica, características y localización de la lesión (2).

Procedimiento y materiales indicados

Es indispensable tener claridad acerca de los materiales a usar dentro del procedimiento ACAF o biopsia por aspiración con aguja gruesa, para evitar retrasos en su desarrollo, complicaciones o tomas muestras inadecuadas y seguir el procedimiento adecuado.

Preparación del paciente: para realizar una biopsia por aspiración es necesario explicarle al paciente el procedimiento que se le va a practicar, los riesgos y los beneficios; además, es indispensable tener previamente consentimiento informado; igualmente se debe revisar minuciosamente la historia clínica del paciente buscando antecedentes de importancia que puedan interferir en el buen desarrollo del procedimiento (22,23). Se acomoda al paciente decúbito dorsal, con el brazo en extensión y el antebrazo en flexión, colocando la mano por detrás de la cabeza. De esta forma se limitará el movimiento durante el procedimiento y se me mantendrá la comodidad del paciente (16).

Asepsia y antisepsia: es de suma importancia en el momento de la punción para evitar complicaciones como la infección del sitio de punción; se realiza lavado de manos quirúrgico de ocho minutos con clorhexidina. A continuación se utilizan guantes de manejo y se limpia el área de punción con alcohol etílico al 70% iniciando del centro hacia la periferia, posteriormente se cubre al paciente con campos estériles.

Ubicación: se ubica la masa por palpación si es posible o usando imágenes. Cuando la lesión es nodular se prefiere la guía por ecografía; cuando la lesión corresponde a una microcalcificación que generalmente no es palpable, puede utilizarse ecografía o mammotone, un instrumento de biopsia direccional asistido por vacío (2,15).

Infiltración: por ser un procedimiento invasivo es primordial el bienestar del paciente. La infiltración de un anestésico local disminuye el dolor y las complicaciones que éste puede traer, como movimientos inadecuados del paciente que pueden llevar a la mala recolección de la muestra. Se recomienda anestesiar la zona de punción de forma local con Lidocaína al 2% succionando antes de inyectar para evitar la entrada del anestésico en un vaso sanguíneo.

Punción: es la parte clave del procedimiento en donde gran parte del éxito de la biopsia depende de la habilidad del clínico. Antes de realizar la punción es necesario

contar con los elementos indispensables tales como porta- jeringa, gasas y la aguja adecuada. Con las agujas de calibre delgado (21G-23G) se obtiene un aspirado para citología, que permite realizar un diagnóstico de malignidad; las de mayor calibre (16G-19G) y bordes cortantes, mejoran la cantidad de la muestra y se obtienen cilindros para histología permitiendo así, realizar un diagnóstico confiable hasta en un 90% de los casos (Figuras 1,2) (4).

Figura 1. *Aguja de calibre 16-19*

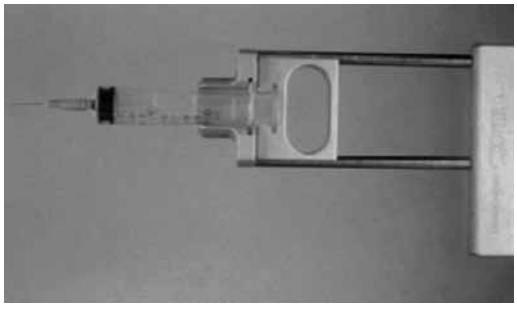

Figura 2. *Porta Jeringa*

Se sitúa la aguja Sonocan en el portajeringa o se usa con una jeringa de 20 cc, (el uso del portajeringa es opcional, éste facilita el uso de ambas manos durante el procedimiento). Se fija la masa y se inserta la aguja tratando de evadir los vasos sanguíneos, una vez la aguja este en la lesión hay que movilizar suavemente el émbolo hacia atrás para crear presión negativa, hay que tenerlo así para mantener el tejido dentro de la jeringa. Se mueve la aguja realizando movimientos de entrada y salida, con cuidado (Figura 3) (2,3). En el caso de lesiones quísticas, se debe vaciar el contenido y aspirar después cualquier masa residual. Si el material obtenido es necrótico, se debe intentar aspirar la periferia de la lesión para obtener células viables y si no se obtiene un buen material después de aspirar en tres ocasiones, es preferible repetir el procedimiento dos semanas después (22).

Figura 3*. Aspiración con aguja SONOCAN (HMC)*

Recolección de la muestra: en esta última etapa se debe tener: láminas, fijador celular y frasco de recolección de muestras. La duración promedio del procedimiento es de 5-10 minutos (22).

Preparación de la muestra: para el ACAF las muestras se colocan sobre un portaobjetos de vidrio agregando presión positiva a la jeringa, para extraer la muestra de la aguja, tener en cuenta aspirar con el embolo cuando no esté sujeta la jeringa a la aguja, ya que se puede perder la muestra, posteriormente se realiza un extendido ayudado con otra lámina y por último se fija con el aerosol de fijación celular. Para la biopsia por aspiración con aguja gruesa las muestras se extraen inicialmente en papeles para cilindros de tejido y posteriormente se colocan en el frasco de recolección de muestra (Figura 4 a y b).

A B

Figura 4. A- *Preparación de los cilindros de tejido en papel.* ***B-*** *Preparación de muestra en recipiente para estudio. (HMC)*

Finalización del procedimiento: se desmonta la jeringa, se retira la aguja y se desecha en el guardián, subsecuentemente debe aplicarse presión en el sitio de la punción, para evitar la formación de un hematoma. Después de terminado el procedimiento el paciente debe ser acompañado, y se le debe explicar los signos y síntomas de alarma de posibles complicaciones. Puede utilizarse posterior al procedimiento algunos analgésicos vía oral (5,12,17,22,24,25).

Procedimientos del Hospital Militar Central durante el periodo de 2006-2008

Se realizó una revisión de casos en el HMC, donde se recolectaron los datos de archivos que contienen descripciones quirúrgicas del servicio de Cirugía General, de procedimientos realizados por ACAF y aspiración con aguja gruesa en el Servicio de Cirugía de Seno, durante el periodo de diciembre de 2006 y septiembre de 2008. Las variables analizadas fueron la técnica utilizada, lateralidad del seno biopsiado, localización específica, el sexo, edad del paciente y el tipo de lesión.

Resultados

Se revisaron 145 estudios de los cuales 87 (60%) fueron biopsia por aspiración con aguja gruesa y 58 (40%) fueron ACAF. La frecuencia de procedimientos realizados fue del 95,2% en mujeres y 4,8% en hombres. En la literatura revisada se encontró que la ubicación mas frecuente de lesiones en mama es el CSE, lo cual fue similar a los datos obtenidos de los procedimientos realizados en el HMC (Tablas 1 y 2), en donde se muestra que la localización más frecuente es CSE en seno izquierdo.

Tabla 1. *Frecuencia de localización de la lesión*

SENO		
	Frecuencia	**Porcentaje**
Derecho	52	35,9
Izquierdo	75	51,7
Bilateral	8	5,5
Perdidos	10	6,9
Total	145	100

Discusión

En la literatura revisada se encontró que la sensibilidad y especificidad tanto para el ACAF como para la biopsia por aspiración con aguja gruesa era mayor o igual al 80% por lo cual se puede concluir que la validez diagnóstica es adecuada para clasificar los diferentes tipos de lesiones en seno ya sean benignas o malignas para ambos métodos.

Tabla 2. *Frecuencia de localización de la lesión según cuadrante.*

UBICACIÓN		
	Frecuencia	**Porcentaje**
CSE	27	18,6
CSI	6	4,1
CIE	5	1,4
CLI	8	2,1
IS	22	15,2
II	6	4,1
IE	5	3,4
INT	4	2,8
PERIA REOLAR	6	4,1
RETROAREOLAR	11	7,6
Perdidos	30	34,5
Total	145	100

Cuadrante Superior Externo CSE, Cuadrante Superior Interno CSI, Cuadrante Inferior Externo CIE, Cuadrante Inferior Interno CII, Intercuadrantes Superiores IS, Intercuadrantes Inferiores II, Intercuadrante Externo IE, Intercuadrantes Internos INT.

En el HMC, es mas común el uso de la aspiración con aguja gruesa en comparación con la aguja fina para el diagnóstico de lesiones en seno, y aunque los dos métodos son utilizados, las ventajas diagnósticas que tiene la aspiración con aguja gruesa en muchos aspectos en comparación con la ACAF, hace que sea uno de los procedimientos diagnósticos mas utilizados en esta institución.

Referencias

1. Pina L, Apesteguía L, de Luis E, Sáenz Bañuelos J, Zornoza G, Domínguez Cunchillos F. Biopsy techniques for the diagnosis of non-palpable mammary lesions. An Sist Sanit Navar. 2004; 27(3):345-58.
2. Murillo E. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Delgada. Rev Med Hondur. 1998; 66:24-30.
3. Pitman M. Fine Needle Aspiration Biopsy: Point of Care Testing in Anatomic Pathology.Point of Care. 2002; 1(2):71–77.
4. Bermúdez S, Uriza LF, Arellano MC, Holguín A, Arbeláez A. Biopsias Percutáneas Guiadas Por Imágenes Diagnósticas. Universitas Medica. 2005; 46(4):1-23.
5. Ferrucci JT Jr, Wittenberg J, Mueller PR, Simeone JF, Harbin WP, Kirkpatrick RH, et al. Diagnosis of abdominal malignancy by radiologic fine-needle aspiration biopsy. AJR Am J Roentgenol. 1980; 134(2):323-30.
6. Papanikolaou IS, Adler A, Wegener K, Al-Abadi H, Dürr A, Koch M, et al. Prospective pilot evaluation of a new needle prototype

for endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration: comparison of cytology and histology yield. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2008; 20(4):342-8.
7. Biopsia de mama guiada por ultrasonido, Radiology inform. American College of Radiology and Radiological Society of North America, Inc. Agosto 2005.
8. Salla C, Chatzipantelis P, Konstantinou P, Karoumpalis I, Sakellariou S, Pantazopoulou A, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. A study of 8 cases. JOP. 2007; 8(6):715-24.
9. Gonzalez N, Machin V, Quesada DM, Palmon M. Biopsia por aspiración con aguja fina en el síndrome adénico cervical crónico. Rev Cubana Cir. 1997; 36(2):102-108.
10. Medina-Franco H, Abarca-Pérez L, Cortés-González R, Soto-Germes S, Ulloa JA, Uribe N. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Fina En Lesiones Mamarias: Experiencia Institucional. Rev Invest Clin. 2005; 57(3):394-8.
11. Sucre L, Saldivia F, Capocefalo M, Rebolledo V, Miranda J, Quijada O. Valor De La Citología Por Punción Aspiración Con Aguja Fina En La Glándula Mamaria. Rev Venez Oncol 2006; 18(3):167-170.
12. Peña E, Martínez J. Hospital Militar Central "Dr. Carlos J. Finlay". Departamento De Cirugía General. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Fina En Afecciones Quirúrgicas Del Tiroides. Rev Cubana Cir 2002; 41(2):69-74.
13. Morales I, Sanchez R, Ruiz I. Jacome J. Exactitud De La Biopsia Por Aspiración Con Aguja Fina En El Diagnostico De Nódulos Tiroideos. Cir Cirugia. 1999; 67(6):195-199.
14. Gutiérrez N, Mora V, Reigosa A, Caleiras E. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Fina En El Diagnóstico De Lesiones De Glándula Salival. Rev Venez Oncol. 2007; 19(1):51-57.
15. Gutiérrez A, Taboada J, Apesteguía L, Arrizabalaga R, Asua J, Andreu FJ. Nuevas Técnicas Percutáneas De Diagnóstico Histológico De Lesions No Palpables Sospechosas De Cáncer De Mama. Proyecto FIS. Vitoria-Gasteiz. Departamento de Sanidad. Gobierno Vasco, 2005. Informe nº: Osteba D-05-02.
16. Braun-Roth G, Calderón C, Ruano JM. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Delgada En Pediatría. Acta Pediat Mex. 1996; 17(4):203-208.
17. Portillo-Vásquez S, Zelaya-Mendoza R. Fine-Needle Aspiration Biopsy Of The Thyroid At The Hospital Escuela: Evaluation Of Its Accuracy As A Screening Test. Rev Med Post Ünah. 2003; 8(25):28-39.
18. Sierra C, Martínez N, Tafoya F. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Fina De Glándula Mamaria. Correlación Citohistológica. Rev Fac Med Unam. 2005; 48(5):183-186.
19. García-Roco ON, Arredondo M. Citología Aspirativa Con Aguja Fina En El Diagnóstico De Tumores Cervicales. 7º Congreso Virtual Hispanoamericano De Anatomía Patológica. Cuba: 1-7 [Comunicacion libre]
20. Nakano S, Sakamoto H, Ohtsuka M, Mibu A, Sakata H, Yamamoto M. Evaluation And Indications Of Ultrasound-Guided Vacuum-Assisted Core Needle Breast Biopsy. Breast Cancer.2007; 14(3):292-296.
21. Ortíz CM. Hematoma Mamario Recidivante Posterior A La Biopsia Por Aspiración Con Aguja Delgada En Un Angiosarcoma. Ginecol Obstet Mex. 2007; 75: 164-16.
22. Duarte R, Hurtado LM. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Fina En Lesiones De Cabeza Y Cuello: Utilidad Y Limitaciones. Asociación Mexicana De Cirugía General. 2004: 26(3):183-191.
23. Gherardi G, Croce AM, Ferrari A, Battarino D, Cirillo G, Jannacci A, et al. Efectividad De La Puncion Por Aspiracion Con Aguja Fina En El Diagnóstico De Cancer Paratiroideo Intratiroideo : A Propósito De Un Caso. 7º Congreso Virtual Hispanoamericano De Anatomía Patológica: 1-10. [Comunicacion libre]
24. Ortega PG, Pérez V, Sotelo-Regil R. Biopsia Por Aspiración Con Aguja Delgada En El Diagnóstico De Lesiones En Región Parotídea. Rev Inst Nal Cancerol (Mex). 2000; 2:81–84.
25. Selcuk A, Peker K. Short Report Open Access Comparison Of Palpation-Versus Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration Biopsies In The Evaluation Of Thyroid Nodules. BMC Research Notes. 2008; 1(12):1-5.
26. Olivares-Montano AK, Hernández-González M, Morales G, Alonso P, Córdova-Ramírez S. Estudio Comparativo De La Biopsia Por Aspiración Con Aguja Fina Y La Biopsia Por Tru-Cut En El Diagnóstico De Carcinoma De Mama. Rev Med Hosp Gen Mex. 2005; 68:208-212.
27. Yong WS, Chia KH, Poh WT, Wong CY. A Comparison Of Trucut Biopsy With Fine Needle Aspiration Cytology In The Diagnosis Of Breast Cancer. Singapore Med J. 1999; 40(9):587-9.
28. Fabian CJ, Kimler BF, Zalles CM, Klemp JR, Kamel S, Zeiger S, et al. Short-term breast cancer prediction by random periareolar fine-needle aspiration cytology and the Gail risk model. J Natl Cancer Inst. 2000; 92(15):1217-27.

BÚSQUEDA DE ANTICUERPOS IgM EN POBLACIÓN DE RIESGO DE ADQUIRIR LEPTOSPIROSIS

Diana P. Pachón[1], A. Rodríguez[2], Iván A. Méndez[1]*

Resumen

La leptospirosis es una antropozoonosis producida por espiroquetas del género *Leptospira* presentes principalmente en los túbulos renales de los reservorios como los roedores; el contagio de esta enfermedad se da por mecanismos directos o indirectos con desechos y materiales contaminados. El cuadro clínico puede dividirse en tres tipos: asintomático, leve y grave o síndrome de Weil. En este artículo se presentan los resultados de una investigación realizada para establecer la seroprevalencia de leptospirosis en una población de riesgo de una universidad en Bogotá, Colombia. Se recolectaron 445 muestras de suero de las personas participantes quienes firmaron el consentimiento informado, y se analizaron con la prueba ELISA para detectar los niveles de IgM, obteniendo 28 muestras positivas lo que representa un 6% de la población evaluada.

Palabras clave: leptospirosis, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima, seroprevalencia

Abstract

Leptospirosis is an antropozoonotic disease caused by spirochetes of the genus *Leptospira*, primarily in the renal tubules in reservoirs such as rodents, the spread of this disease occurs by direct or indirect mechanisms with waste and contaminated materials. The clinical picture may be divided into three types: asymptomatic, mild and severe or Weil syndrome. The objective of this research was to establish the seroprevalence of leptospirosis in a population at risk from a university in Bogotá, Colombia. We collected 445 serum samples with informed consent and were analyzed by ELISA IgM positive obtaining 28 samples representing 6% of the population studied.

Key words: Leptospirosis, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, seroepidemiologic studies

Introducción

La leptospirosis es una antropozoonosis de importancia global producida por una espiroqueta de la familia *Leptospiraceae* y del género *Leptospira*. Entre las especies, existe dos especies de mayor importancia: *L. biflexa* caracterizada por ser de vida libre o saprofita y *L. interrogans* que es la principal causa de enfermedad en el ser humano (1).

Esta antropozoonosis es producida por el contacto que el ser humano tiene con las fuentes infectantes y en las condiciones ambientales tales como las de las áreas tropicales donde las características climáticas como la humedad, las temperaturas y las lluvias favorecen la supervivencia de la bacteria (2). Es una infección que afecta a más de 160 especies de animales salvajes y domésticos que constituyen los reservorios y por consiguiente, son las posibles fuentes de infección para el hombre que está en contacto con estos animales. Entre las principales especies afectadas se encuentran los roedores, los perros, el ganado bovino y el porcino. Durante la infección en el reservorio, la bacteria se localiza en los túbulos renales sin causar enfermedad, y es eliminada constante o transitoriamente por la orina, lo que representa un riesgo potencial para el ser humano (3, 4).

Se ha encontrado que esta enfermedad es asociada a un riesgo ocupacional principalmente con actividades que permiten el contacto con animales, por ejemplo

[1] Docente Facultad de Medicina, Grupo de Patogenicidad Microbiana, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Estudiante VI Semestre Medicina. Universidad Militar Nueva Granada.
* Correspondencia: Diana Patricia Pachón. diana.pachon@unimilitar.edu.co. Dirección postal Transversal 5 # 49-00 Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.

médicos veterinarios, criadores de animales, empleados de mataderos, trabajadores rurales, granjeros y grupos con precarias condiciones de vivienda en contacto con roedores y sus excreciones (3). En el hombre, la transmisión puede darse de forma directa cuando la piel o mucosas tienen contacto con la orina del animal infectado o indirectamente, cuando éstas tienen contacto con alimentos o aguas contaminadas con la orina de dichos animales (5).

La transmisión persona a persona es rara pues el hombre está al final de la cadena de transmisión de la *Leptospira* (4). En el contexto clínico se tienen tres tipos de presentación: asintomática, variante leve o anictérica (90%) y leptospirosis grave o Síndrome de Weil (5-10%). La sintomatología de la forma leve es inespecífica y autolimitada, similar a un proceso pseudogripal de 5-10 días de duración, con síntomas iníciales como fiebre de tres a diez o más días, cefalea, nauseas, vómito, escalofríos, cefalalgia intensa, fotofobia, mialgias generalizadas, infección conjuntival, malestar y a veces, postración. La leptospirosis grave que cursa con un cuadro de ictericia, manifestaciones hemorrágicas, hiperbilirrubinemia, insuficiencia renal aguda, también puede presentarse un síndrome pulmonar hemorrágico que es la forma más grave y fatal descrita hasta el momento con tos, disnea, hemoptisis e insuficiencia respiratoria (5,6).

En Colombia, se conoce poco sobre el verdadero impacto epidemiológico de este microorganismo especialmente la prevalencia y los factores de riesgo en zonas urbanas, pues muchos casos de leptospirosis no son identificados adecuadamente y pueden ser confundidos con otras enfermedades endémicas como dengue, malaria, fiebre amarilla, que presentan síntomas asociados (5). En agosto de 1995 se documentó un brote de leptospirosis en el departamento de Atlántico, Colombia, con 47 casos confirmados (mortalidad de 17%) y 284 casos sospechosos donde se identificaron mediante microaglutinacion (MAT) anticuerpos contra las serovariedades *Icterohaemorragiae, Pomona* y *Canicola* (5,7). Por otra parte en un estudio realizado en Villavicencio (Meta) en el 2008 se observó en la población que participó en el estudio, una prevalencia del 17% en los médicos veterinarios (8).

Los datos del Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS) muestran que a la semana epidemiológica número 52 de 2010 se habían notificado 2.433 casos de leptospirosis, observándose un aumento en el número de casos del 25,4% comparado con el 2009; los departamentos con mayor porcentaje de casos fueron Valle del Cauca, Antioquia, Risaralda, Sucre y Atlántico (Barranquilla), encontrándose en esta ciudad el 57,3% del total de casos notificados. Del total de casos reportados, el 67,7% fueron reportados como probables y el 31,5% fueron confirmados por el laboratorio. Durante el 2010 se reportaron dos casos de mortalidad por leptospirosis (9).

El diagnóstico temprano de la enfermedad permite un rápido y apropiado tratamiento antibiótico; sin embargo, en muchos casos es difícil debido a la inespecificidad en los síntomas de la leptospirosis (10). El método diagnóstico más apropiado es la serología, y entre las pruebas de caracterización por laboratorio está la prueba de microaglutinación (MAT) como *gold* estándar y la de ELISA (*Enzyme Linked inmunoabsorbent assay*) para el seguimiento serológico de los pacientes. Las pruebas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han permitido la identificación de la bacteria y puede ser utilizada como prueba complementaria en el diagnóstico. (11,12).

El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de Leptospira en una población de riesgo en Bogotá, Colombia, detectando la presencia de IgM por ELISA.

Materiales y Métodos

Tipo de estudio: Estudio descriptivo observacional en estudiantes de una Facultad de Medicina Veterinaria en Bogotá expuestos a factores de riesgo.

Muestreo: Se tomaron en tubo 445 muestras de sangre de estudiantes de Medicina Veterinaria de una universidad de Bogotá, Colombia, quienes firmaron el consentimiento informado. A estos estudiantes se les realizó una encuesta en la cual se indaga sobre la frecuencia de contacto con posibles transmisores, el tipo de contacto, el conocimiento del control médico animal (diagnóstico de posibles patologías al animal), la vacunación y la presencia y la frecuencia de la sintomatología característica de la leptospirosis. La numeración de las encuestas se hizo de forma consecutiva según la muestra de sangre tomada del paciente, asignándole a cada uno un código. Las muestras de sangre fueron transportadas desde la Facultad de Medicina Veterinaria en Bogotá, al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Militar Nueva Granada para procesarlas.

Procesamiento de las muestras

Después de separar los sueros, estos fueron guardados en tubos eppendorf a -20°C, en el laboratorio de la Universidad Militar Nueva Granada, hasta su procesamiento.

Para la identificación de anticuerpos contra Leptospira se utilizó el kit de ELISA IgM PANBIO y se siguió el procedimiento descrito en el kit. Se prepararon diluciones 1/10 de las muestras y de los controles, se colocaron 100 µl de cada una de ellas en pozos diferentes (el calibrador se probó por triplicado) y se incubaron a 37°C durante 30 min; luego se realizaron seis lavados con buffer de lavado. Se agregaron 100 µl de conjugado anti-IgM marcado con HRP (horseradish peroxidasa) a cada pozo y se incubó a 37°C durante 30 min, luego se realizaron nuevamente seis lavados. Después se agregaron 100 µl de TMB (3,3′,5,5′-tetramethylbenzidine) a cada pozo y se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos, tiempo en el cual se desarrolló un color azul; para detener la reacción se agregaron 100 µl de una solución de ácido fosfórico al 1M. Finalmente, se hace la lectura de la absorbancia de cada pozo a una longitud de onda de 450 nm.

Se toma el mayor valor de absorbancia de los tres micropozos del suero calibrador como el punto de corte. Para determinar el resultado de cada muestra se deben calcular las unidades PANBIO así: 10 x Absorbancia de la muestra/Absorbancia del punto de corte. El número de unidades PANBIO determinan la cantidad de anticuerpos encontrada en la muestra. De acuerdo a las interpretación sugerida en kit, las muestras que presentaron valores < 9 unidades fueron consideradas negativas (no hay evidencia de Ac IgM), las que mostraron valores entre 9 – 11 unidades sugieren la realización una nueva prueba para confirmar y las que presentaron valores >11 unidades fueron consideradas positivas (Ac IgM específicos presentes) (13-16).

Resultados

Después de procesar y analizar las 445 muestras de suero obtenidas de los estudiantes de medicina veterinaria, una población considerada con factor de riesgo para la adquisición de la infección por *Leptospira spp.*, por el contacto con animales, a través de piel, mucosas y orina del animal infectado o indirectamente con alimentos o aguas contaminadas con la orina de dichos animales, se pudo observar que sólo el 6% de la población estudiada presentaba una serología positiva (anticuerpos IgM anti-leptospira) (figura 1) y el 91% una negativa. El 3% restante de la población presentaron unos títulos con valores entre 9 y 11 unidades se le denominó zona gris; a la población de esta zona se les debía confirmar si en realidad estos individuos estaban comenzando un proceso de infección aguda o si por el contrario este resultado podría ser una reacción cruzada con otra patología. Para ello se debía tomar una segunda muestra un mes después, pero en este estudio no se hizo esta confirmación.

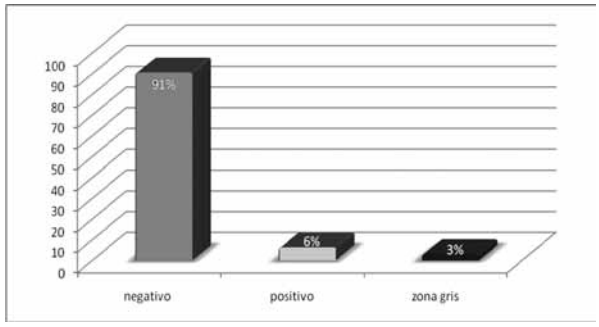

***Figura 1**. Porcentaje de la población que presentaban títulos de IgM detectados por ELISA*

Discusión

Con los resultados obtenidos en este estudio podemos concluir que la prueba de Elisa es sensible y que permite identificar los anticuerpos IgM producidos por los individuos al enfrentarse por primera vez a la *Leptospira spp*. Debido a la cinética de la IgM, (periodo corto de permanencia en el suero), es necesario un diagnóstico serológico rápido y específico, para detectarla en los pacientes sospechosos.

Llama la atención que el 91% de los individuos mostraron un resultado negativo para IgM (la cual indica una infección reciente), por lo cual es deseable realizar una segunda fase del proyecto en donde se mida la respuesta de IgG para establecer si el patrón de respuesta se debe a una fase crónica y/o a segundas exposiciones. Para que los resultados sean epidemiológicamente significativos es importante realizar una comparación entre los resultados obtenidos de muestras positivas con ELISA y los obtenidos con la microaglutinación (MAT) y así establecer la prevalencia real en esta población. Además con ésta última técnica se podrá conocer la serovariedad con la cual el individuo tuvo contacto (18,19,20).

En este estudio se pudo observar que la población estudiada asocia esta patología únicamente al contacto con

orina de roedores, y no a la manipulación y contacto continuo con pequeñas especies como caninos o félidos, en donde la transmisión se hace a través de piel, mucosas o el contacto con secreciones u orina o a través de las aguas contaminadas (8,25); también se evidenció una prevalencia significativa (6%) si se toma en cuenta que ninguno de los individuos refirió tener algún tipo de sintomatología que pudiera asociarse con infección por *Leptospira spp*, a diferencia del 17% encontrado en el estudio de Gongora, A., Parra, J y colaboradores donde los individuos del estudio si hacían referencia a la presencia de alguna sintomatología (9,24).

En Colombia no se ha realizado una valoración del impacto epidemiológico de la leptospirosis, tal como se ha hecho en Holanda y Estados Unidos debido a que el diagnóstico se hace basado sólo en la clínica del paciente, y que la sintomatología que se presenta en esta entidad puede confundirse con otras patologías que son endémicas como es el caso del dengue, fiebre amarilla y otras (16,17). Dada la posibilidad de co-infecciones con *Brucella spp*, con el virus del dengue o de la Fiebre amarilla se sugiere que en futuros estudios se realice un análisis serológico que permitan establecer en la población a estudiar si han sufrido o están sufriendo una de las infecciones mencionadas anteriormente, que en muchos casos puede llevar al paciente a la muerte. Con estas medidas se pueden seleccionar de manera apropiada la población a estudiar, medir el impacto epidemiológico y a su vez, establecer medidas de control y tratamiento adecuados (16,17, 21, 23,24).

Los resultados indican que los estudiantes de Medicina Veterinaria de la población de estudio tiene riesgo de contacto con la *Leptospira spp*, por su exposición ocupacional y se debe tomar en cuenta que muchas veces esta infección en el personal que tiene contacto con los animales pasa desapercibida dada la evolución crónica de la enfermedad; es necesario entonces realizar en los individuos sospechosos la confirmación y un seguimiento a los que mostraron un resultado positivo para anticuerpos IgM.

En Colombia aun no se ha tomado conciencia de la importancia del diagnóstico oportuno de la leptospirosis. Debido el alto riesgo ocupacional para adquirir la infección que existe en la población colombiana, se han realizado varios estudios en diferentes departamentos tales como Quindío (24) y Meta (18) y en el Urabá antioqueño con el propósito de conocer cual es la prevalencia de la leptospirosis en esas regiones. Los resultados de esos estudios mostraron una seropositividad asociada al contacto con el microorganismo. Sin embargo, un plan nacional de vigilancia epidemiológica es necesario para poder establecer patrones de prevalencia reales y así mismo políticas que incluyan no solo el adecuado y específico tratamiento a la población positiva sino que involucren medidas de control que permitan disminuir el riesgo de transmisión (8,24,25).

Agradecimientos

Al fondo de investigaciones de la Universidad Militar Nueva Granada por financiar el proyecto PIC 650. A la señorita Pilar Pérez por su colaboración con la preparación del material del laboratorio.

Referencias

1. Bharti A, Nally J, Ricaldi J, Matthias M, Diaz M, Lovett M et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis. 2003; 3: 757–71.
2. Slack A. Leptospirosis. Australian Family Physician. 2010; 39 (7): 496-98.
3. Organización panamericana de la salud. Guía de control y manejo de leptospirosis. 2002. [Consultado: enero de 2011]. Disponible en: http://www.bvsops.org.uy/pdf/leptos.pdf
4. Dutta T, Christopher M. Leptospirosis – An Overview. Japi. 2005; 53: 545-51.
5. Instituto nacional de salud. Protocolo para la vigilancia y control de leptospirosis. 2009. [Consultado: enero de 2011]. Disponible en: http://www.minproteccionsocial.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/LEPTOSPIROSIS.pdf
6. Speelman P, Hartskeel R. Leptospirosis. En: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL Eds. Harrison Principios de medicina interna. 17 edición, Nueva York: Mc Graw Hill; 2005. 1048-51.
7. Agudelo-Flórez P, Londoño A, Quiroz V, Ángel J, Moreno N, Loaiza E et al. Prevalence of Leptospira spp. in Urban Rodents from a Groceries trade Center of Medellín, Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2009; 81(5): 906-10.
8. Diaz, L., Zapata, I., Gongora, A., Parra, J., Aponte, L., Gomez, L. Deteccion de Anticuerpos IgM A Leptospira en humanos en Riesgo ocupacional en Villavicencio, Meta. Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia Cordoba. 2008 13(1)1120-1127.
9. Gongora, A., Parra, J., Apone, L., Gomez, L. Seroprevalencia de Leptospira spp. en Grupos de Población de Villavicencio, Colombia. Rev. salud pública. 2008, 10(2): 269-278.
10. Semana epidemiológica 52 año 2010, Colombia, SIVIGILA. Instituto Nacional de Salud. [Consultado: enero de 2011]. Disponible en: http://www.ins.gov.co/index.php?idcategoria=83121#
11. Suputtamongkol Y, Pongtavornpinyo W, Lubel Y, Suttinont C, Hoontrakul S, Phimda K et al. Strategies for Diagnosis and Treatment of Suspected Leptospirosis: A Cost-Benefit Analysis. PLoS Negl Trop Dis. 2010; 4(2): 1-6.
12. Hernández-Rodríguez p, Diaz C, Dalmau E,Quintero G. A comparison between polymerase chain reaction (PCR) and traditional techniques.
130. Organización mundial de la salud. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. Malta: 2003. [Consultado: enero de 2011]. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf
14. PANBIO Kit Leptospira IgM ELISA. Brisbane, Queensland, Australia. 2002

15. Winslow W, Merry D, Pirc M, Devine P. Evaluation of a Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin M Antibody in diagnosis of Human Leptospiral Infection. J clin microbiol. 1997; 35(8): 1938-1942.
16. Levett P, Branch S. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assay methods for detectionof immunoglobulin M antibodies in acute leptospirosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2002; 66(6): 745–48.
17. Brown, M., Vicker, I.,Salas, R.,Smikle, M. Leptospirosis in suspected cases of dengue in Jamaica,2002 -2007. Tropical Doctor. 2007 Abril (40): 92-94
18. LaRocque, R., Breiman R., Ari, M., et al. Leptospirosis During Dengue Outbreak Bangladesh. Emerging Infectious Diseases. 2005. 11(5):766-769.
19. Swapna, RN, Tuteja, U., Nair, L., Surdarsana, J. Seroprevalence of Leptospirosis in high risk groups in Calicut, North Kerala, India. IJMM.2006; 24(4):349-352.
20. Shekatkar, S., Harish, B., Menezes, G., Parija, S. Clinical and Serological evaluation of Leptospirosis in Puducherry, India. J Infect Dev Ctries 2010; 4(3):139-143.
21. Cespedes, M. Leptospirosis: enfermedad Zoonotica Reemergente. Rev Perú Med Exp Salud Publica 200522(4):290-307.
22. Thai, K., Binh, T., Giao, P. et al. Seroepidemiology of Leptospirosis in southern Vietnamese children. Tropical Medicine and International Health. 2006 11 (5): 738-745.
23. Manuel Céspedes1a, Lourdes Balda1,b, Martha Glenny1,a Evaluación de dos ensayos de Elisa IgM en la Investigación de un brote de Leptospirosis. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2008; 25(3):333-335.
24. Gregorio Sanchez Vallejo, Jorge E. Gómez Marín, Liliana Quintero Alvarez ,Martha Cecilia Castaño Cotrina. Características clínicas y epidemiológicas de la leptospirosis en el departamento del Quindío, 2005-2006. Asociación Colombiana de Infectologia. Vol . 12-2, 2008.
25. Piedad Agudelo-Flórez, Berta Nelly Restrepo-Jaramillo, Margarita Arboleda-Naranjo, Situación de la leptospirosis en el Urabá Antioqueño colombiano: estudio Seroepidemiológico y factores de Riesgo en población general urbana. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 23(9):2094-2102, set, 2007.

DEFICIENCIA DE ALFA-1 ANTITRIPSINA EN RELACIÓN AL HÁBITO TABÁQUICO

Aura Barrero[1], Natalia Buitrago[1], José Fernando Mikán V.[2]*

Resumen

Dentro de las "balanzas naturales" humanas se encuentra el sistema proteasa-antiproteasa. Uno de los protagonistas de este proceso es la alfa-1 antitripsina (AAT), enzima que inhibe a la elastasa de neutrófilos por unión a su sitio activo. La enzima perteneciente a la familia de las serpinas (Serine Proteinase Inhibitors), es sintetizada en macrófagos y hepatocitos y posee tres glicosilaciones tipo N que permite su adecuado plegamiento para una apropiada función. La deficiencia de alfa-1 antitripsina (AATD) es una enfermedad genética de carácter autosómico recesivo, con manifestaciones clínicas que hacen parte de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). La enzima está codificada por el gen Serpina 1 localizado en el cromosoma 14 que se caracteriza por su gran polimorfismo. Como consecuencia de algunas mutaciones se puede producir una proteína anormal que no puede ser liberada a la sangre y por lo consiguiente, no puede inhibir las enzimas liberadas por las células inflamatorias las cuales pueden atacar las células del pulmón y del hígado. En el genotipo referido como ZZ (antitripsina Z ó AAT-Z) se produce una proteína mutada muy susceptible a la polimerización la cual es resistente a la degradación por lo que se acumula y se genera apoptosis. Aunque el principal mecanismo de degradación de la AAT-Z es dependiente del proteasoma, la autofagia es otra vía de degradación relevante. La EPOC con etiopatogenia establecida por el humo del cigarrillo se caracteriza por la limitación progresiva e irreversible de la salida del flujo de aire. Las especies reactivas de Oxígeno (ROS) derivadas del humo del cigarrillo producen estrés oxidativo, activando las células del sistema inmune y las células epiteliales de las vías aéreas, lo que en el contexto de la AATD, se produce un daño tisular aún mayor dado por el disbalance entre elastasa de neutrófilo y AAT (carencia de antiproteasas en el intersticio pulmonar). En nuestro país, se desconoce el número de personas afectadas por esta patología; sin embargo, la EPOC es la tercera causa de mortalidad y el hábito tabáquico es una costumbre casi generalizada, planteándonos un interrogante en cuanto a la verdadera presencia de esta entidad en nuestro medio.

Palabras clave: EPOC, alfa-1 antitripsina, consumo de tabaco, deficiencia anti proteasas

Abstract

The system protease-antiprotease is one of the human "natural balances", and one of the examples of such system is the enzyme Alpha 1-Antitrypsin (AAT), which inhibits neutrophil elastase by binding to its active site. The enzyme belongs to the family of serpins (Serine Proteinase Inhibitors), is synthesised in macrophages and hepatocytes, and has three N-type glycosylations which allows their proper folding needed to accomplish their role. The deficiency of alpha-1 antitrypsin (AAT) is a genetic autosomal recessive disease with clinical manifestations that are part of the chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The enzyme is encoded by the gene SERPIN1, located on chromosome 14 that is characterised by its high polymorphism. As a result of certain mutations, an abnormal protein can be produced that can not be released to the blood, and therefore it can not inhibit the enzymes released by inflammatory cells, which then are able to attack lung and liver cells. The genotype referred to as ZZ (Z antitrypsin or AAT-Z) produces a mutated protein that is very susceptible to polymerization resulting on substrates that are resistant to degradation, and consequently accumulate generating apoptosis. Although the primary mechanism of degradation of the AAT-Z is dependent on the proteasome, autophagy degradation pathway is another relevant way of degradation. COPD with pathogenesis established by smoking is characterized by progressive and irreversible limitation of airflow output. Reactive oxygen species (ROS) derived from

[1] Estudiante de V semestre Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Docente Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
* Correspondencia: Aura Barrero auribarrero@hotmail.com. Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.

cigarette smoking cause oxidative stress by activating immune cells and epithelial cells of the airways, so in the context of AATD, tissue damage is even greater, given the imbalance between neutrophil elastase and AAT (lack of antiproteases in the lung interstitium). In our country, an unknown number of people are affected by this pathology, however, COPD is the third leading cause of mortality and smoking is a custom almost universal, posing a question as to the true presence of this entity in our medium.

Key words: COPD, alpha-1 antitrypsin, smoking, antiprotease deficiency

Introducción

Por lo general existen sistemas regulatorios en situaciones de agresión tisular que ayudan a proteger la integridad del tejido. Estos sistemas pueden generar destrucción parcial del tejido, estableciendo un balance entre la destrucción del agente agresor y de las células implicadas en una especie de "balanza natural"; un ejemplo de este equilibrio dinámico en el hombre es el sistema proteasa-antiproteasa. La importancia de este tipo de balance se evidencia en el tejido pulmonar, cuya capa externa a pesar de está expuesta constantemente a agentes agresores externos, mantiene la funcionalidad y viabilidad de las células para permitir el intercambio gaseoso. A un lado de la balanza está la activación del sistema inmune en respuesta a agresiones en los alvéolos, promoviéndose el reclutamiento de neutrófilos y macrófagos y la liberación de sustancias como la elastasa (EN). Para que la acción continua y no controlada de este enzima no ocasione daño al tejido elástico pulmonar, en el otro lado de la balanza se requiere de la alfa-1 antitripsina (AAT), enzima que inhibe a la elastasa de neutrófilos por unión a su sitio activo, dando así equilibrio al sistema.

La deficiencia de alfa-1 antitripsina (AATD), descrita por primera vez en 1963 por Laurell y Ericsson (1), es una enfermedad genética de carácter autosómico recesivo, que se manifiesta en mayor proporción como parte de la EPOC "precoz" con un patrón de enfisema panacinar/panlobulillar y en menor grado, como cirrosis hepática (1). Afecta alrededor de 3,4 millones de personas a nivel mundial, con una incidencia de un afectado por cada 2000 a 5000 personas. La población afectada se encuentra principalmente en el nororiente europeo y la península Ibérica (2). Dada su amplia gama de manifestaciones, su grado de severidad, el ser una enfermedad poco común y de categoría genética, generalmente se subdiagnostica y se enmascara en el contexto de un cuadro clínico crónico como podría ser la EPOC, que a su vez es resultante del hábito tabáquico prolongado.

Según el estudio PREPOCOL en nuestro país el tabaquismo está presente en el 18,3% de la población y en el estudio PLATINO en el 24% de la población además parece ir en ascenso, y si se suma la adquisición de éste hábito a temprana edad, se genera un riesgo mayor en la población por la exposición a los efectos negativos del tabaco. Con esto en mente, si se tiene en cuenta que la tercera causa de mortalidad se debe a la EPOC, con un total de 10661 muertes al año (3)(4). ¿Será esto una coincidencia? ¿O el resultado de una enfermedad huérfana no diagnosticada?

Alfa-1 antitripsina

Estructura y función

La alfa-1 antitripsina (AAT) es una proteína inhibidor de serin proteasas que pertenece a la familia de las serpinas. Dentro de las proteasas se destacan la elastasa del neutrófilo, la tripsina y la quimiotripsina, entre otras. El sustrato de AAT es la elastasa del neutrófilo, enzima capaz de degradar las fibras elásticas (principalmente elastina) de la matriz extracelular, alterando su estructura y cuya acción prolongada es capaz de causar un daño al tejido. Por esta razón, cuando hay una deficiencia de AAT se presenta una mayor predisposición a presentar EPOC, cuyas manifestaciones clínicas se explicarán mas adelante (5).

La AAT funcional es un péptido de 52 kDa, conformado por 394 aminoácidos, con tres glicosilaciones tipo N en los residuos de asparagina (Asn), que alcanzan hasta el 15% del peso de la proteína, que presenta una estructura globular y en donde el 40% corresponde a estructuras helicoidales. Las glicosilaciones tipo N se encuentran en las posiciones 46, 83 y 247 de la cadena aminoacídica. Es importante saber que estas glicosilaciones se realizan en el retículo endoplasmático (RE) de los hepatocitos, en donde además se realiza el plegamiento de la proteína con la ayuda de las chaperonas. Si estos dos procesos se producen adecuadamente, la proteína puede salir del RE y posteriormente del hepatocito; en caso contrario, cuando se presenta algún daño puede acumularse, tal como ocurre en la AATD (6).

La importancia de las glicosilaciones se debe a que las chaperonas reconocen con especificidad las cadenas

de oligosacáridos, compuestas de dos moléculas de N-acetil glucosamina (GlcNAc), nueve moléculas de manosa (Man) y una molécula de glucosa (Glc). Los oligosacáridos se unen al residuo de asparagina por medio de una molécula de GlcNAc. Estos oligosacáridos son reconocidos por calnexina y calreticulina, encargadas de hacer el plegamiento necesario para la salida de la AAT. Cuando hay una mala conformación de los oligosacáridos, ocurre la acumulación en el hepatocito y no hay presencia de esta en sangre y en sus sitios de acción. Las glicosilaciones se encuentran en el lado opuesto del sitio inhibitorio activo de la AAT (6, 7).

El sitio inhibitorio activo se encuentra en las posiciones 358 y 359 que corresponden a una metionina (Met) y a una serina (Ser), respectivamente. Estos dos aminoácidos se encuentran en una parte de la proteína cuya secuencia de aminoácidos es- Ile356-Pro357- Met358-Ser359-Ile360-Pro361- formando un bucle que encaja con el sitio de acción de la elastasa del neutrófilo, el cual tiene una estructura en forma de bolsillo. La elastasa del neutrófilo es una glicoproteína de cadena sencilla de 220 aminoácidos con dos cadenas laterales de asparagina. Las dos moléculas interactúan con gran avidez, la disociación es inusual y el enlace es una interacción suicida para ambas (6) (Figura 1).

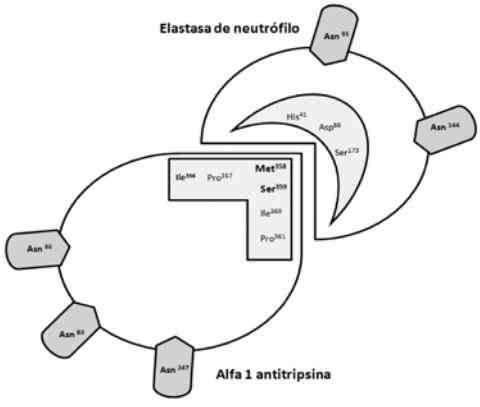

***Figura 1**. Estructura de la AAT y de la elastasa del neutrófilo. Se puede observar como los aminoácidos Ile356-Pro357-Met358-Ser359-Ile360-Pro361 en la AAT y Val168, Phe170, Ala187, Val190, Phe200 adyacente a la triada catalítica Ser173-His41-Asp88 en la elastasa están implicados en la interacción.*

Dado que los principales sitios de síntesis de la AAT son los hepatocitos y los macrófagos alveolares, la expresión en estas últimas células explica la relación entre baja actividad AAT y la predisposición al EPOC. La ATT es la principal molécula inhibidora de la elastasa del neutrófilo, cuya acción no controlada sobre las proteínas que conforman la estructura del parénquima pulmonar, terminan por reducir el retroceso elástico durante el movimiento de espiración. Cuando la ATT no está presente, o se encuentra en bajas concentraciones o su estructura no es la adecuada, hay tal degradación del parénquima, que conlleva a una obstrucción con atrapamiento aéreo característico del EPOC (5).

La AAT también es conocida como una proteína de fase aguda, porque juega un papel importante en la respuesta inflamatoria, como regulador de la extensión del daño producido por la elastasa del neutrófilo. El mecanismo de acción es inactivando el factor nuclear kB (NF- kB). Esto implica la reducción de la degradación del inhibidor del NF-kB (I- kB), conservando así al NF- kB en el citoplasma e impidiendo su traslocación al núcleo, lo que detiene la expresión génica de citoquinas proinflamatorias y se disminuye la respuesta inflamatoria desencadenada por cualquier agente nocivo (8).

Aspectos genéticos de la AAT

La alfa-1 antitripsina está codificada por el gen Serpina1 Clade A, localizado en el brazo largo del cromosoma 14 (14q 32.1). Los dos alelos presentan "competencia genética" por lo que sus variantes patológicas se heredan en un modelo autosómico recesivo. Este gen es altamente polimórfico, contando con 75 posibilidades alélicas y con hasta 125 polimorfismos de un nucleótido (SNP). El gen tiene cuatro intrones y siete exones y una longitud de 10,2kb, con una región codificante de 1434pb (9).

El gen de AAT en macrófagos es transcrito a partir de un promotor específico (esto es solo para macrófago), localizado a unas 2000pb corriente arriba del promotor específico del hepatocito. La transcripción de estos promotores es mutuamente excluyente, así que el promotor del macrófago se encuentra "silenciado" en el hepatocito y viceversa. También en los macrófagos se han encontrado dos transcritos diferentes, formados por *splicing* alternativo. Existen tres sitios de iniciación de la transcripción en el macrófago, los cuales se encuentran localizados corriente arriba respecto del único sitio de iniciación en el hepatocito (6).

Los exones que constituyen el gen se enumeran así: IA, IB, IC, II, III, IV, V. Los exones IA y IB cumplen función reguladora en el macrófago y el exón IC funciona como región cis en el hepatocito. El exón II, posee la secuencia de inicio (ATG), codifica para el péptido señal y la secuencia para Asn46-83. El exón III, codifica para Asn247. Finalmente, el exón V codifica Met3358 (parte crucial

del sitio activo), para el codón de parada (TAA) y para la cola Poly A (ATTAA). Los transcritos encontrados en el macrófago, provienen de dos exones "adicionales": IA (207pb) e IB (209pb). El tercer exón tiene similitud con con el que está presente en el hepatocito; sin embargo, posee 56pb adicionales (5, 6) (Figura 2).

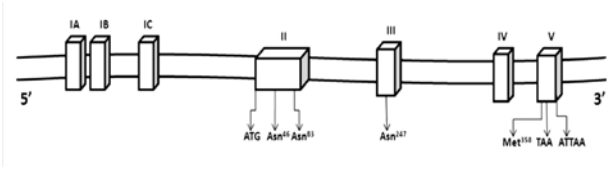

***Figura 2**. Estructura general del gen de la Alfa1-antitripsina. Existen siete exones dispuestos a lo largo de 12,2 kb del cromosoma 14 (q31-32.3). En el extremo 5' del gen hay tres exones no codificantes para la proteína, denominados IA, IB, IC; estos exones y sus regiones flanqueantes controlan la transcripción del gen. Los exones no codificantes están seguidos por 4 exones codificantes, denominados del II al IV. El codón de inicio (ATG) para la traducción de la AAT y el péptido señal se encuentran en el exón II . Los sitios de carboxilación (Asn 46,83,247) están codificados por los exones II y III. El codón de parada (TAA) está en el exón V al igual que el del sitio activo Met356.*

La regulación de la transcripción está dada por retroalimentación positiva e implica la cascada de señalización intracelular desencadenada por la IL-6, el factor de necrosis tumoral (TNF) y otras citoquinas, así como el producto de la modificación bioquímica que sufren las elastasas de los neutrófilos por parte de la AAT. Aunque los hepatocitos cuentan con un sitio de iniciación específico para la transcripción basal y modulada, bajo ciertas circunstancias, una interleucina de la fase aguda (IL-6) utiliza los sitios de iniciación de transcripción basal del macrófago también presentes en el heptatocito, "encendiendo" la expresión de la proteína a nivel hepático (5).

Variabilidad del gen de la AAT

El gen de la AAT, puede presentar variantes que se expresarán como polimorfismos ó como mutaciones, afectando en algún grado la función de la proteína. En el primer caso, el gen "normal" que se denomina (M), puede presentar las siguientes variantes: M1 (Phe por Ala213), M2 (Phe por Val213), M3 (Arg por His101 ó Glu por Asp376). En estos casos se expresa una proteína con las modificaciones anotadas, las cuales no tienen consecuencias fisiopatológicas y la concentración de AAT es normal en suero.

En relación a las mutaciones, se expresan los fenotipos denominados como deficientes ó nulos, según los grados de severidad. En el primer caso, se encuentran los fenotipos con los alelos (S), en los que se ha producido una sustitución de Glu por Val264. En la Península Ibérica este alelo esta presente en un 15% de la población, en quienes se encuentra una concentración plasmática de ATT de 13-19 µM. La enzima es considerada una proteína inestable, con predisposición a la destrucción intracelular en el sitio diana (9). Otro tipo de fenotipos deficientes son los denominados (Z), cuya variante presenta la sustitución de Glu por Lys342; se encuentra principalmente en caucásicos del noreste europeo quienes tienen una concentración plasmática de AAT de 2-5 µM. La mutación produce un cambio conformacional de manera tal que la proteína no puede traslocarse al Aparato de Golgi, afectando el empaquetamiento con la subsecuente agregación en hígado.

En los casos más severos, se hallan los fenotipos llamados nulos (N), caso en el que el gen no codifica una proteína cuantificable en suero. Generalmente se produce por mutación sin sentido originando codones de parada prematuros. El cálculo de las concentraciones plasmáticas de AAT de los diferentes fenotipos encontradas en los individuos son: MS 80% de la concentración total, MZ (80%), SZ (40%), SS (60%), ZZ (10-15%), las presentaciones clínicas son variables (11).

La alfa-1 antitripsina mutada

Como la mayoría de las proteínas, la AAT sufre una serie de modificaciones postrasnduccionales que le permiten formar la estructura necesaria para su óptima función. Así que, una vez el péptido ha sido sintetizado, ingresa al RE donde una serie de chaperonas vigilan un proceso ordenado de glicosilación, formación de puentes disulfuro y plegamiento. Una vez alcanzada la estructura terciaria, la antitripsina deja el RE y viaja al complejo de Golgi, posteriormente deja la célula a través de vesículas que atraviesan la membrana (exocitosis). La alfa-1 antitripsina naciente es sometida a un riguroso proceso de control de calidad y cuando la estructura terciaria no es la adecuada, ingresa a un proceso de degradación (12).

En el genotipo ZZ (anti-tripsina Z ó AAT-Z), se presenta una mutación que origina una proteína inestable con una hoja beta A más abierta que la hace susceptible a la interacción con otra molécula de AAT. El efecto de esta estructura incorrecta es una reducción severa en la tasa de plegamiento del péptido, ocasionando que los monómeros del péptido se unan mediante el mecanismo de "loop sheet insertion", conformando polímeros de AAT-Z que serán retenidos dentro del RE (2). La

acumulación de alfa-1 antitripsina producto del alelo Z (AAT-Z), como otras proteínas alteradas, conduce a procesos dependientes e independientes del proteosoma dentro de los que se encuentran: autofagia, activación del RE (por sobrecarga de retículo o por proteínas sin plegamiento adecuado), disminución en la síntesis de proteína y la muerte celular programada (2)

Estudios recientes han descrito una serie de alteraciones morfológicas a nivel de la estructura subcelular en respuesta a la acumulación de proteínas con alteraciones estructurales en el retículo endoplásmico. Desde hace muchos años se conoce que el funcionamiento de este organelo, involucra una maquinaria compleja denominada "aparato de control de calidad", mediante el cual se reconocen, retienen y degradan las proteínas mal plegadas. El mecanismo mediante el cual el RE degrada estas proteínas es la retrotranslocación (transporte de las proteínas anómalas a través de la membrana del RE al citoplasma junto con la poliubiquitinación llevada a cabo por la enzima conjugadora de ubiquitina (E2-F1); también el RE procesa vías de señalización en respuesta a estas proteínas que permiten su "atrapamiento" al inhibir la producción de las chaperonas correspondientes a estas proteínas (13).

Aunque el principal mecanismo de degradación de la AAT es dependiente del proteosoma, la autofagia representa otra vía de degradación relevante (13). Una vez que se produce el secuestro de organelos en el RE, la autofagia es el evento final, que conduce a una mayor susceptibilidad para la degradación celular por medio de lisosomas. Los autofagosomas parecen ser una respuesta específica cuando se retiene AAT-Z en el RE. En estudios con ratones transgénicos, las biopsias hepáticas revelan que los autofagosomas hepatocitarios muestran un incremento notorio al igual que de calnexina (13).

Las razones de por qué la deficiencia de AAT cursa con daño hepático y con mayor incidencia que en otras alteraciones proteicas derivadas de modificaciones genéticas, se explica por la gran cantidad de proteína que se produce cada día. A esto se suma la polimerización de la AAT-Z que le da resistencia para la degradación y como consecuencia se presenta acumulación en grandes cantidades de de la proteína, produciéndose daño celular antes que se alcance la depuración de la enzima defectuosa. La retención de la AAT-Z en el RE inicia un mecanismo de "protección'' (la autofagia), el cual se asocia a un daño a nivel de la membrana mitocondrial (15). Esta alteración se caracteriza por la formación de estructuras multilaminares dentro de la membrana mitocondrial, condensación de las crestas y de la matriz, y en algunos casos la disolución de las estructuras internas, dejando restos visibles a la microscopía electrónica en la periferia de la mitocondria. Al parecer esto conlleva a la activación del citocromo c y por tanto, a la vía intrínseca de muerte celular programada, evidenciada por inmunofluorescencia, observándose la presencia activa de la caspasa-3 en los hepatocitos de los modelos ratones (Figura 3) (13).

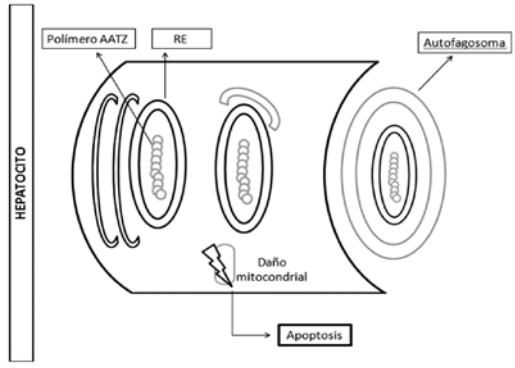

***Figura 3**. Autofagia en los hepatocitos con AAT-Z.*

Bases moleculares de la presentación clínica

La principal manifestación clínica que se presenta en la deficiencia de AAT es el EPOC, aunque éste está correlacionado con otras patologías. La principal causa para que se presente EPOC es el humo del cigarrillo, el cual contiene una mezcla de gases y partículas, entre ellos alrededor de 4700 químicos en fase volátil y por lo menos $1x10^{18}$ moléculas de radicales libres, donde se van a encontrar en forma predominante las especies reactivas del oxigeno (ROS) como peróxido de hidrógeno, aniones hidroxilo y radicales orgánicos (2,16).

El EPOC se caracteriza por el desarrollo progresivo de la limitación al flujo del aire que no es reversible. Esta patología se asocia a tres procesos patológicos como lo son la bronquitis crónica, el enfisema y la enfermedad de las vías aéreas pequeñas. La bronquitis crónica es una descripción clínica de un aumento crónico en la secreción bronquial, con una correlación patológica de hipertrofia e hiperplasia de la submucosa glandular y con dilatación de las vías aéreas de 2-4mm. El enfisema es un diagnóstico anatomopatológico definido como la destrucción permanente de los espacios aéreos dístales a los bronquiolos terminales, contribuyendo a la limitación del flujo por resultado de la perdida del retroceso elástico pulmonar (16).

A nivel celular y fisiológico molecular el EPOC está caracterizado por una inflamación de la vía aérea, con infiltración de células del sistema inmune como son macrófagos, linfocitos T $CD8^+$ y polimorfonucleares (PMN), en especial neutrófilos, la cual ocurre tanto en los bronquiolos como en el parénquima pulmonar (16,17). La inflamación empieza cuando hay un estímulo nocivo como es el humo del cigarrillo u otros agentes irritantes que activan las células del sistema inmune y las células epiteliales de las vías aéreas, las cuales secretan citocinas proinflamatorias y factores quimiotácticos (IL-8 y leucotrieno B4). Al llegar los neutrófilos y macrófagos, se promueve la liberación de proteasas que van a degradar el parénquima pulmonar. Entre este grupo de proteasas se encuentra la elastasa liberada por el neutrófilo, que degrada a la elastina rompiendo los enlaces entrecruzados que hay entre las cadenas polipeptídicas dejando libre la desmosina y la isodesmosina. Las proteasas van a causar destrucción de la pared alveolar, lo que se conoce como enfisema, aumentando la secreción de moco conocido como bronquitis; aparte de eso las células epiteliales liberan citocinas que activan a los linfocitos $CD8^+$ causando también enfisema. (Figura 4) (16,17).

Normalmente hay un balance entre la elastasa y la AAT (que la inhibe), esta a su vez es una potente estimuladora de la secreción de moco y es también una proteína quimiotáctica, que atrae a los neutrófilos (16,17). El estrés oxidativo juega un papel importante en el EPOC y es originado por ROS del humo del cigarrillo o de las células proinflamatorias, que ocasionan un daño severo a las células del epitelio pulmonar. Las ROS como el peróxido de hidrógeno, causan activación del NF-κB, el cual promueve la transcripción de los genes de las citocinas proinflamatorias como son TNF-alfa e IL-8, moléculas que favorecen el reclutamiento de neutrófilos. Estas células liberan el contenido de los gránulos azurófilos, haciendo que haya más elastasa y a su vez más radicales libres. Los radicales libres también hacen que se presente broncoconstricción y aumento de la secreción de moco y en consecuencia la resistencia aumenta y el flujo disminuye, en concordancia con la le ley de Ohm aplicada al pulmón. Finalmente, todo esto trae disminución en la capacidad del pulmón para ventilar, disminuyendo la cantidad de oxígeno inhalada y así la presión arterial de oxígeno, haciendo que este gas no llegue de manera eficiente a los tejidos, por lo cual estos empiezan a tener un metabolismo anaerobio.

Otro efecto de los radicales libres es la disminución de las antiproteasas, ya que las cadenas laterales de los aminoácidos son suceptibles de ser atacadas por estos radicales, en especial por el hidroxilo, llevando a la modificación de la estructura terciaria de la proteina, que puede acompañarse de una fragmentacion química y a la pérdida de la función biológica; al disminuirse hay un imbalance entre proteasa-antiproteasa (entre estas la más importante que es la AAT). Con la reducción de la actividad antiproteasa, la elastasa destruye más tejido causando más daño, ya que aumentan los radicales libres y por ende aumentan los neutrófilos llevando a un proceso de retroalimentación positiva, que puede llevar finalmente a la muerte (Figura 5) (16-19).

Según las estadísticas del DANE, para el año 2008 en Colombia se presentaron 10661 muertes por EPOC, razón que originó las siguientes interrogantes: ¿cuántas de estas muertes es por la deficiencia genética de AAT?, ¿cuál es el impacto de este factor? y¿está subdiagnosticado en nuestro sistema de salud?. Es posible que al tomar

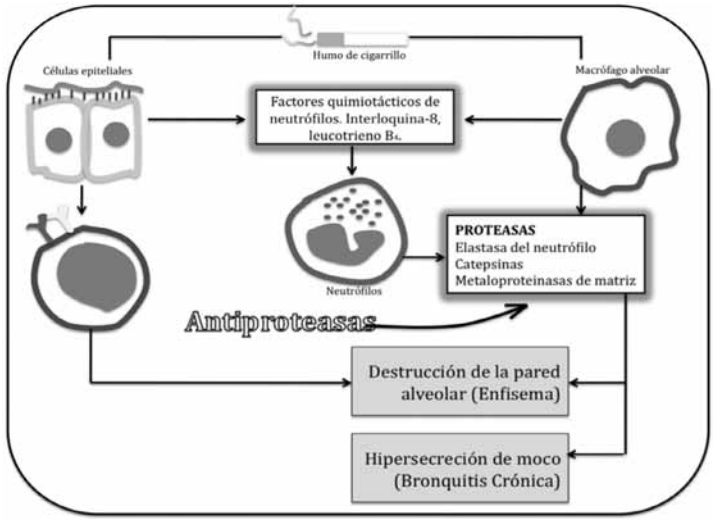

Figura 4. *Mecanismo de inflamación en el EPOC.*

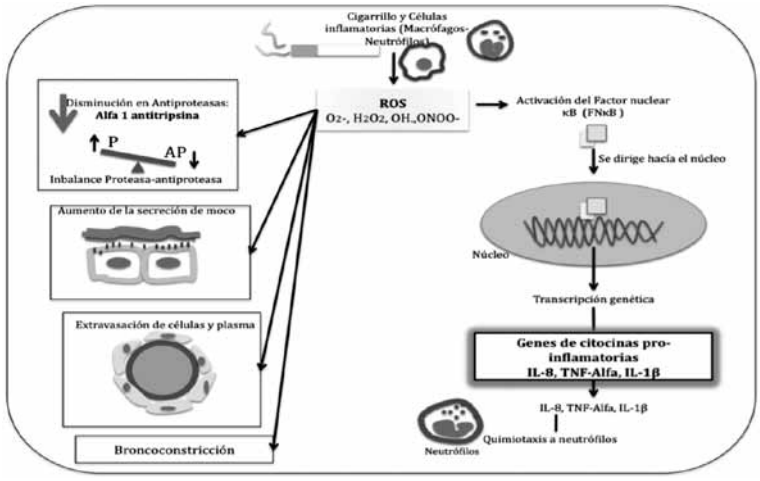

Figura 5. *Estrés oxidativo en el EPOC.*

como única causa el contacto con sustancias tóxicas y el hecho de ignorar las predisposiciones genéticas, como la deficiencia de AAT, entre otras, hace que esta entidad se enmascare y por lo tanto se haga un diagnóstico tardío, en estadios en los que el tratamiento es un cuidado paliativo.

Tomado en consideración las posibles alteraciones en la expresión de AAT y su efecto en EPOC y debido a que la población colombiana tiene descendencia europea en especial española, en la cual frecuentemente se presenta la AATD, es posible una alta presentación de los genes mutados en nuestra población; estos hechos justifican la realización de investigaciones relacionadas con la patología molecular de EPOC, combinadas con estudios de genética poblacional y epidemiología molecular. Los resultados de estos proyectos de investigación tienen relevancia en programas de prevención del consumo de tabaco, en la población general, especialmente, en aquella donde la presencia de genes resulta un factor de predisposición al desarrollo de EPOC y donde la deficiencia de la enzima sumada con el consumo de tabaco tendría las implicaciones patológicas de mayor gravedad que en el resto de la población.

Referencias

1. Kok KF, Wahab PJ, Houwen RH, Drenth JP, de Man RA, van Hoek B, et al. Heterozygous alpha-I antitrypsin deficiency as a co-factor in the development of chronic liver disease: a review. Neth J Med. 2007; 65(5):160-6.
2. Köhnlein T, Welte T. Alpha-1 antitrypsin deficiency: pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and treatment. Am J Med. 2008 Jan; 121(1):3-9.
3. Caballero A, Torres-Duque CA, Jaramillo C, Bolívar F, Sanabria F, Osorio P, et al. Prevalence of COPD in five Colombian cities situated at low, medium, and high altitude (PREPOCOL study). Chest. 2008 Feb;133(2):343-9.
4. Defunciones no fetales [Internet]. Bogotá: Departamento administrativo Nacional de Estadística. 2008 [citado 2010 Nov 24]. Disponible en URL: http://www.dane.gov.co/daneweb_V09/index.php?option=com_content&view=article&id=788&Itemid=119
5. Crystal RG, Brantly ML, Hubbard RC, Curiel DT, States DJ, Holmes MD. The alpha 1-antitrypsin gene and its mutations. Clinical consequences and strategies for therapy. Chest. 1989; 95(1):196-208.
6. Termine D, Wu Y, Liu Y, Sifers R. Alpha 1-Antitrypsin as model to assess glycan function in endoplasmic reticulum. Methods. 2005; 35:348–353.
7. Kalsheker N. Alpha 1-antitrypsin: structure, function and molecular biology of the gene. Biosci Rep. 1989; 9(2):129-38.
8. Hiemstra P. Novel roles of protease inhibitors in infection and inflammation. Biochem. Soc. Trans. 2002; 30:116-120.
9. Wood A, Stockley R. Alpha one antitrypsin deficiency: from gene to treatment. Respiration. 2007; 74(5):481-92.
10. Geraminejad P, DeBloom JR 2nd, Walling HW, et al. Alpha-1-antitrypsin associated panniculitis: the MS variant. J Am Acad Dermatol. 2004 Oct;51(4):645-55.
11. Stoller J. Alpha1-antitrypsin deficiency. Lancet. 2005; 365:2225-2236.
12. Kelly E, Greene CM, Carroll TP, McElvaney NG, O'Neill SJ. Alpha1 Antitrypsin deficiency. Respiratory Medicine. 2010 Jan; 104:763-772.
13. Teckman J, Perlmutter D. Retention of mutant a1-antitrypsin Z in endoplasmic reticulum is associated with an autophagic response.Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2000 June; 279:G961–G974.
14. Marciniak S, Lomas D. Alpha1-antitrypsin deficiency and autophagy. N Engl J Med. 2010 Nov 4; 363(19):1863-4.
15. Perlmutter D .Liver injury in alpha1-antitrypsin deficiency: an aggregated protein induces mitochondrial injury. J Clin Invest. 2002 Dec; 110(11):1579-83.
16. ChungK, Adcock I.M. Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction. Eur Respir J 2008; 31:1334–1356.
17. Barnes P. Chronic Obstructive Pulmonary Disease. N Engl J Med. 2000; 269-80.
18. Carnevali S, Petruzzelli S, Longoni B, Vanacore R, Barale R, Cipollini M, et al. Cigarette smoke extract induces oxidative stress and apoptosis in human lung fibroblasts. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2003 Jun; 284(6):L955-63.
19. Rahman I, MacNee W. Lung glutathione and oxidative stress: implications in cigarette smoke-induced airway disease. Am J Physiol. 1999 Dec; 277(6 Pt 1):L1067-88.

EL ESLABÓN PERDIDO ENTRE LA RESPUESTA INMUNE INNATA Y LA ADAPTATIVA, NKT'S

Omar-Javier Calixto[*1], *Juan-Felipe Vásquez*[2], *Diana-Patricia Pachón*[3]

Resumen

En el interior del sistema inmune existen una gran variedad de células desempeñando funciones bien organizadas; sin embargo, se han identificado poblaciones celulares cuya función no era clara en el momento de su descubrimiento, y solo tras décadas de trabajo se pudo conocer el papel que desempeñan; tal es el caso de las células NKT (Natural killer T-cell) las cuales se sabe, desempeñan un papel único de enlace entre la respuesta inmune innata y la adaptativa, dada su rápida capacidad de producción de citoquinas tanto Th1 como Th2, teniendo así acción directa o indirecta sobre otras poblaciones celulares. Por lo anterior se las ha vinculado en diferentes tipos de respuesta tales como la regulación de la inmunidad tumoral, la respuesta a los diferentes microorganismos y a las enfermedades autoinmunes, hecho que explica la variación de la respuesta del sistema inmune. Dentro de esta misma población existen subgrupos que tienen funciones con rangos amplios de respuesta y que en ocasiones pueden regularse unas a otras y tener efectos antagónicos en diferentes patologías. Debido a la identificación de estas funciones se han constituido en un nuevo blanco terapéutico.

Palabras clave: células NKT, células NKT humanas, células de la inmunidad innata

THE MISSING LINK BETWEEN THE INNATE AND ADAPTATIVE IMMUNE RESPONSE, NKT'S

Abstract

Within the immune system there are a variety of cells playing well-organized functions, however, cell populations have been identified whose function is unclear at the time of their discovery, and only after decades of work can analyze their role actually; such is the case of NKT cells (Natural Killer T-cell) which now play an unique role as a link between the innate and adaptative immune responses because their rapid production capacity of Th1 and Th2 cytokines taking action directly or indirectly on other cell population. Therefore are linked to different types of response: such as regulation of cancer immunity, microorganisms' response and autoimmune disease, explaining different form of immune response. Within this population there are subgroups that have functions that exhibit broad ranges of response and sometimes can be adjusted to each other and have antagonic effects on different pathologies. After identifying these features has been generating a new therapeutic target.

Key words: NKT cells, human NKT cell, innate immunity cells.

Introducción

Las células NKT son un grupo de células descubiertas hace poco tiempo en comparación con otras poblaciones celulares; su reporte data de 1987 (1) y hace referencia a una población única que media potentes respuestas inmunorreguladoras *in vivo*. Constituyen una pequeña porción de células T del sistema inmunitario, y por lo tanto, expresan en su superficie el receptor de células T antígeno específico (TCR); sin embargo,

[1] Estudiante Medicina VI Semestre, Facultad de Medicina Universidad Militar y Miembro de la Asociación Científica de Estudiantes de Medicina de la Universidad Militar Nueva Granada ACEMED UMNG.

[2] Estudiante Medicina VII Semestre, Facultad de Medicina Universidad Militar 3 Docente Inmunología, Facultad de Medicina .Universidad Militar

* Correspondencia: Omar Javier Calixto omarclassique25@hotmail.com. Dirección postal: Universidad Militar Nueva Granada, Transversal 3 N° 49-00, Bogotá, Colombia.

su nombre se deriva por la expresión de marcadores de células NK (del inglés: *Natural killer*) no presentes en los linfocitos T (LT), excepto cuando estos están activados, haciendo de estos marcadores, moléculas con múltiples fenotipos y funciones que dificultan la identificación celular (1-3).

Se ha descrito que estas células tienen un papel fundamental en la regulación de la respuesta inmunitaria, ya que actúan como punto de unión entre la respuesta innata y la adaptativa y en ausencia de estas, no se ha observado esta unión. En cuanto a su función, poseen en su interior mARN (ARN mensajero) de citoquinas listo para su traducción, lo que les da la capacidad casi inmediata de respuesta, produciendo citoquinas tanto de tipo Th1 como de tipo Th2. Sin embargo, esta función es paradójica ya que puede promover o abolir determinado patrón de respuesta permitiendo de esta manera determinar el tipo de respuesta que seguirá la inmunidad adaptativa. Además de tener el TCR que les permite reconocer antígenos propios y extraños, estas células poseen un mecanismo para el reconocimiento de antígenos lipídicos, que no lo tienen los LT convencionales (3,4-7).

Se ha encontrado que las NKT son importantes en la regulación de tolerancia a transplantes, en las enfermedades autoinmunes, en el asma y otras enfermedades alérgicas, en las respuestas inflamatorias y en las enfermedades infecciosas. En trauma también se han asociado con la regulación de la respuesta inmune y se ha identificado que su número está relacionado directamente con la magnitud del daño a los tejidos (3,8,9). También se han vinculado al proceso de envejecimiento junto a las células NK, pues mantiene poblaciones regulares aun ante la disminución del número de LT en la vejez (10).

En cáncer se ha observado un comportamiento paradójico. Inicialmente se relacionaron principalmente con una función protectora; sin embargo, recientemente se ha observado que también tienen relación con la inhibición de la vigilancia anti-tumoral. Este hallazgo llevó al reconocimiento de dos subtipos de células NKT, un grupo con un TCR invariable (NKT tipo I o iNKT) y otro con un TCR variable (NKT tipo II), en donde se regulan unas a otras en un eje de inmunorregulación. Además, por medio de la producción de interleuquinas (IL) regulan otras células del sistema innato, como a las células dendríticas, que una vez que son estimuladas pueden volverse células dendríticas tolerogénicas, células supresoras de linaje mieloide y células NK (3,11).

Originalmente, las células NKT descritas en ratones fueron definidas como una población de LT que expresaban un TCR invariante constituido por una cadena α (Vα/Jα281) en asociación con Vα2 o Vα7 o Vα8 y un antígeno NK 1.1 (CD161 o NKR-P1), que son glicoproteínas de la superfamilia de las lectinas tipo C, las cuales también son expresados por células NK y los LT cuando están activados; esto hace a estos marcadores poco confiables para su identificación (3,12,13). También expresan el marcador CD122 (IL-2Rβ) (14). Durante el estudio de su funcionamiento se generó gran confusión, pues sus funciones son diferentes a las de la célula NK, pero comparten por ejemplo el fenotipo de memoria. Adicionalmente, las células NKT activadas inducen una contra regulación de la expresión de NK1.1 (3,13,15). Luego se determinó que son células T verdaderas con TCRαβ, que pueden reconocer lipopéptidos ya sean propios como la fosfatidiletanolamina, gangliotriaosilceramida y fosfatidilinositol o de antígenos microbianos cuando son presentadas por las moléculas CD1d, que son glicoproteínas codificadas por genes que se encuentran fuera de la región MHC, las cuales poseen un dominio de unión hidrofóbico que permite la presentación de antígenos lipídicos (3,16-22).

En la molécula de CD1d, el dominio rico en tirosina tiene una función particular en la regulación de la selección y activación celular y regula el procesamiento antigénico, que es similar al modelo de MHC II (14,18,21). Además, en cuanto a las características del epítope a presentar, se indica que la presencia de dos cadenas ácidas facilitaba la unión al CD1d y la presencia de un segmento cuyo extremo es polar es esencial para el reconocimiento por las NKT (20). También ha sido de gran interés la identificación de CD1d tanto en las células B de ratones como en las de los seres humanos; en teoría se puede sugerir que una interacción directa puede ocurrir entre los NKT y la activación y control de la función de los linfocitos B, influenciando la cantidad y la modificación de los isotipos de las inmunoglobulinas y la proliferación de estas células (7).

Se ha encontrado que estas células reconocen el antígeno glicolípido α-galactosilceramida (α-GalCer) derivado lipídico de la esponja *Agelas mauritianus*, permitiendo el análisis de su función de manera controlada, pero este compuesto no ha sido encontrado en microorganismos, ni en los tejidos de mamíferos. De manera curiosa tras el uso de este glicolípido se descubrió que este solo podía ser reconocido por las células NKT I y no por las NKT II con algunas excepciones (12,18,23,24). Hasta hace poco tiempo se logró identificar el primer antígeno lipí-

dico endógeno presentado por CD1d con la capacidad de activar las células NKT, el glicoesfingolípido lisosomal isoglobotrihexosilceramida (iGb3), molécula de la cual se desconocía su función hasta que se observó su capacidad de inducir la activación de NKT tanto en ratones como en humanos. Además es un importante ligando fisiológico asociado con su maduración en el timo; en algunos estudios en donde utilizaron como modelo experimental ratones, se observó que la falta de la enzima productora de este glicolípido, la β-hexosaminidasa B, lleva a una alteración en la maduración de las células NKT ocasionando una disminución de esta población celular (11,21,24,25). Otra característica que puede dar lugar a diferencias es la expresión fenotípica de CD4 y de CD8, encontrándose entonces NKT $CD4^+$, NKT $CD8^+$ y NKT $CD4^-/CD8^-$; las $CD4^+$ tiene la capacidad de activar diferentes células del sistema inmunológico, mientras la subpoblación $CD8^+$, son las únicas capaces de inducir activación en LT $CD8^+$; por otro lado, las células $CD4^-/CD8^-$ poseen un nivel de estimulación relativamente bajo y control solo sobre la población de linfocitos T $CD4^+$ (11,12,26).

Como células de la respuesta innata, las NKT activadas actúan rápidamente estimulando a otros miembros de la respuesta, desde NK hasta linfocitos T $CD4^+$ o $CD8^+$ (3). A diferencia de las células de la respuesta adaptativa que deben primero pasar por la diferenciación y la proliferación para producir citoquinas, estas células tienen como característica principal la capacidad de producir gran cantidad de citoquinas Th1 y Th2 de manera rápida. Entre estas IL están: IFNγ (interferón gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17, IL-21, GM-CSF (factor estimulante de colonias granulocito monocito), TNF (factor de necrosis tumoral), MIP-1 (proteína inflamatoria del macrófago), y RANTES (moléculas de secreción y expresión de células T reguladas tras activación) (6,11,24). También se ha identificado un subgrupo de NK1.1- productoras de IL-17, contribuyendo al reclutamiento de neutrófilos (3).

Las NKT expresan de manera temprana marcadores que son expresados por las células de memoria, incluso en modelos totalmente libre de estimulación por microorganismos y se relaciona con la capacidad de reconocimiento de péptidos endógenos circulantes (24). Pueden producir IL-21 que actúa de manera autocrina. Por medio de su mARN preformado de IFNγ e IL-4, las NKT producen grandes cantidades de citoquinas sin tener la necesidad de realizar alguna transcripción génica. Asociado a la capacidad de responder rápidamente a la IL-12 producida por macrófagos o células dendríticas, puede ser la fuente inicial de la IL-4 para inducir la respuesta tipo Th2, permitiendo la función reguladora en la diferenciación de las células T entre un perfil Th1 y Th2 (3,18).

A pesar de encontrarse en un mismo organismo existen diferencias entre estas células que dependen de su localización y pueden dar lugar a otras formas de respuesta en el organismo. Las células NKT en sangre periférica están en un pequeño número y es altamente variable; en ratones están entre 0,01-1% y en humanos 0,2%. Así mismo, éstas predominan en el hígado de ratones constituyendo el 20 – 30% de los linfocitos intrahepáticos y están en número más bajo en el hígado de seres humanos, probablemente concentradas en los sinusoides, donde esta población depende de la presencia de IL-5 producida principalmente por la población de NK residentes y de la expresión de LFA-1 (antígeno asociado a la función leucocitaria 1) sin vincularse con la respuesta de las células de Kuppfer (2,8,11,13,24,25,27). De las células ubicadas en el hígado se ha descrito que tienen una respuesta más eficaz ante la vigilancia y control tumoral en especial la subpoblación $CD4^{+/-}$, mientras las células del timo, quizás debido a su inmadurez, poseen un mejor desempeño en la producción de citoquinas. Las células de bazo a pesar de no generar abrumadoras cantidades de citoquinas tienen un umbral más alto para alcanzar su inhibición, pero requieren de una estimulación constante de citoquinas como la IL-12 y la IL-18 (2,6). Las células NKT hepáticas, tímicas y esplénicas tienen una función inmunosupresora.

Con relación a las NKT tipo II, que se caracterizan por tener una mayor producción de IL-4 y baja de IFNγ, producen también substancialmente más IL-17, IL-10 e IL-21 y menos IL-2, IL-3, IL-6, IL-9, GM-CSF, TNFα, MIP-1 y RANTES, perfil de citoquinas que permiten la diferenciación de células T a un patrón Th17 yla expresión de RORγt e IL-23R (6). La producción de IL-2 por parte de las células NKT es importante para inducir la replicación de las células T reguladoras (Treg), cuando la estimulación se realiza junto a células dendríticas alogénicas, funcionando como una célula colaboradora innata para las células Treg (28).

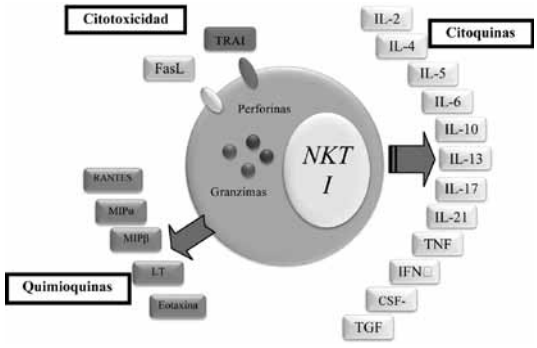

***Figura 1**. Esquema de producción de citoquinas, quimioquinas y moléculas citotoxicas. Modificado de Matsuda JL, Mallevaey T, Scott-Browne J, Gapin L.CD1d-restricted iNKT cells, the 'Swiss-Army knife' of the immune system. Tomado y modificado de Curr Opin Immunol. 2008; 20(3):358-68.*

Tipos de NKT

NKT I

Las células NKT tipo I (también conocidas como células NKT invariables o iNKT) que se encuentran preferencialmente en el hígado, expresan la cadena invariante TCRα Vα24Jα18, un TCR altamente conservado que posee una cadena α invariante cuya región hipervariable está conformada por una secuencia aminoacídica constante en el sitio de unión a los epítopes. La cadena α se aparea con un grupo restringido de cadenas β; en los humanos lo hace casi de manera exclusiva con la cadena Vβ11, razón por la cual las células iNKT expresan un TCR altamente homólogo, con una variación estructural significativa sólo en el asa CDR3 de la cadena β (3,5). Otros marcadores de diferenciación son CD4/CD8; si las células son $CD4^+$ se asocia a un patrón Th1 y Th2, mientras que en células dobles negativas ($CD4^-/CD8^-$) el patrón de citoquinas que predomina es Th1. En el timo estas células expresan moléculas codificadas por el gen Ly49; sin embargo, esto no se da de manera similar en otros órganos. Otro marcador específico es el receptor de IL-8 (IL-8R) (3,13,29).

Las iNKT se desarrollan en el timo, luego de la primera reorganización del TCR se identifican varios factores importantes, entre ellos el receptor huérfano asociado con el ácido retinoico (RORγt) crucial para la expresión de la molécula anti apoptótica Bcl-xL, el factor de trascripción HEB donde su ausencia lleva a la disminución del mARN de RORγt y Bcl-xL, el factor de trascripción de dedos de zinc de la leucemia promielocítica (PLZF), el elemento de respuesta temprana del crecimiento 2 (Erg2) y el factor de transcripción de la mielomatosis (c-Myc). Otros factores que influyen en la maduración de estas células son el factor de transcripción relacionado a Runt 1 (Runx-1), la familia del factor nuclear promotor de la cadena ligera kappa de células B activadas (NF-κB) y la proteína quinasa C tetha (PKC-θ) y al final, el factor de transcripción de la caja T (T-bet) y la IL-15. La selección negativa de estas células se presenta en etapas tempranas del desarrollo y es inducida directamente por células dendríticas (24,30). Su principal fenotipo es claramente de células T de memoria ($CD44^+CD62L_{low}CD69^+$), razón por la cual presentan una respuesta de activación casi inmediata (5).

Inmunidad protectora frente a microorganismos

Se considera que las iNKT cumplen una función primordialmente de regulación más que de defensa. Hay controversia sobre la capacidad de CD1d para presentar lípidos derivados de antígenos exógenos, pero trabajos recientes han demostrado que el manósido de fosfatidilinositol, un compuesto presente en la pared celular de la micobacterias, es presentado adecuadamente por esta molécula, estimulando a las células NKT I (5,20).

Para explicar el modelo de la autorreactividad de las células NKT en la respuesta a microorganismos se sugiere que bajo condiciones fisiológicas, las NKT reconocen antígenos propios presentados por CD1d, llevándolas a una activación sub-optima no funcional. Cuando son activadas por microorganismos, las CPA aumentan la producción de IL-12, que genera la activación óptima, y con esto la producción de grandes cantidades de IFN-γ que será el encargado de regular y mediar tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa. Se producen citoquinas Th1 y Th2 y sustancias citotóxicas como perforinas y granzimas, CD95L y TNF asociado al ligando inductor de apotosis (TRAIL) que tiene una función relevante en la inmunidad contra microorganismos intracelulares (5,19).

Infecciones bacterianas

El papel de las células NKT en las infecciones bacterianas aún no es totalmente claro; sin embargo, diversos estudios relacionan el proceso de reconocimiento y presentación de los antígenos lipídicos como determinante de dicha acción (18). Durante el curso de las infecciones bacterianas, las células NKT pueden ser activadas indirectamente por las células dendríticas presentadoras de antígenos o de manera directa, al reconocer el antígeno de tipo lipídico (31). En cuanto a las infecciones por micobacterias, en modelos con

Mycobacterium tuberculosis, las proteínas CD1a, b y c son capaces de presentar algunos de los lípidos de la pared celular, tales como el ácido micólico, el monomicolato de glucosa, la fosfoetanolamina y algunos isoprenoides, a las células T humanas. Además, las células NKT inducen la lisis de macrófagos infectados gracias a su capacidad de producir granulisina eliminando la micobacteria (2,12,18,32). En contraparte a lo anterior el reconocimiento y la activación mediante CD1d no es claro. En ensayos *in vitro*, se ha logrado que el lipoarabonimanano se una adecuadamente a moléculas CD1d purificadas; sin embargo, las iNKT no reconocen el complejo. Posteriormente se comprobó que algunas células iNKT podían reconocer el manósido de fosfatidilinositol bacterianos, crucial en la formación de granulomas; con la administración subcutánea (SC) de extractos de micobacterias se induce la formación de lesiones similares a granulomas (12,32,33). Se determinó que con la adición de αGalCer como activador este grupo celular incrementa el reclutamiento de linfocitos en el pulmón, reduce la carga bacteriana evidenciada por una disminución en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) y prolonga la supervivencia de ratones infectados, además de la disminución en la producción de IL-4 y el aumento de IFNγ (1,12,18). El reclutamiento de estas células es independiente de CD1d, pues la migración de las células iNKT obedece principalmente a señales quimiotácticas que provienen del sitio de infección local más que por reconocimiento antigénico. A pesar de ello, es probable que la presentación y el reconocimiento lipídico sean necesarios para la activación y la permanencia de las células en dicho sitio (12,20).

En el caso de especies de *Sphingomonas*, un bacilo gram negativo sin lipopolisacarido (LPS), que puede generar infección e incluso choque tóxico letal en pacientes inmunocomprometidos, se ha observado que las NKT I son capaces de controlar la infección por esta bacteria, pero también pueden colaborar en la inducción de choque tóxico por la activación de otras poblaciones celulares (3,34). Las NKT reconoce lípidos de membrana de *Erlichia spp*. (agente causal de algunas enfermedades transmitidas por garrapatas) y pueden ayudar en la protección contra este microorganismo (3,34). La falta de reconocimiento por CD1d genera susceptibilidad a la infección por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, el agente de la enfermedad de Lyme; sin embargo, se ha propuesto que la activación de estas células de manera temprana, tiene un impacto en la enfermedad el cual se ha visto reflejado en el desarrollo de artritis que en este caso, se presenta solo en los ratones deficientes en CD1d. De igual manera, se observa un impacto en la respuesta humoral en la misma enfermedad (12,35).

Se ha observado que en la fase inicial de la infección por *Listeria monocytogenes*, el número de células NKT disminuye en el tejido extra linfoideo alrededor del día quinto post infección, pero alrededor de los siete días su número aumenta, donde dependiendo de sus características se puede establecer un respuesta efectiva con la producción de citoquinas tipo Th1 como son IL-12 e IFNγ producidos por macrófagos y NKT (35,36). Sin embargo, se han identificado que dentro de la población de NKT, las células que expresan $NK1.1^{+}$ pueden generar una respuesta lesiva mientras $NK1.1^{-}$ generan protección contra *L. monocytogenes* por medio del IFNγ (37). También se ha reportado que la producción de IL-4 por células NKT en el bazo esta relacionada con la producción de anticuerpos que controlan la infección (1). En el caso de *Salmonella spp.* se observa que es la acción de la IL-12 la que fomenta la presentación de LPS dando lugar a la producción de grandes cantidades de IFNγ, molécula que aunque ayuda a suprimir la carga bacteriana, ha mostrado ser deletéreo para el huésped; esto fue evidenciado en estudios experimentales, con ratones infectados con *Salmonella enterica subsp. enterica* serotipo *choleraesuis*, en los que se observó un incremento excesivo en las destrucción de hepatocitos en la primera semana de infección. Este efecto es limitado en modelos experimentales que usan células $J\alpha281^{-/-}$ (3,12,18,37,38).

En el caso del *Staphylococcus aureus* se observa que las NKT se pueden activar de manera indirecta por medio de la IL-12 producida por las células dendríticas y los macrófagos activados (34). En modelos de neumonía experimental, se piensa que la eliminación de *Pseudomonas aeruginosa* por este tipo de células es CD1d dependiente; sin embargo, esto aun está en discusión pues la respuesta por parte de los neutrófilos no tiene relación con la activación de las NKT en el proceso inflamatorio (35,39). Se ha descrito un tercer mecanismo en la infección por *Chlamydia trachomatis*, en el que células NKT I parecen promover la infección mediante la producción de citoquinas Th2 (3).

Infecciones parasitarias

En estudios con *Toxoplasma gondii* se ha mostrado que las células NKT $CD4^{+}$ son capaces de inducir la activación de linfocitos T $CD8^{z}$ por medio de la IL-2; pero también se ha reportado una respuesta deletérea si estas células tienden a producir solo IL-4 lo lleva a

la disminución de la respuesta protectora (18,40). En *Leishmania donovani* se ha observado que el lipofosfoglicano del parásito puede inducir la producción de IFNγ que lleva al control de la enfermedad, por medio de la estimulación a través de CD1d. En modelos de activación de células NKT por *Leishmania major* se ha observado que este parásito puede evadir la respuesta al disminuir su capacidad para activarla y han antagonizado la activación de NKT por αGalCer; sin embargo, se ha observado que en las infecciones cutáneas la función más clara es la protección del daño del órgano específico en la enfermedad más que en control del parásito; en las infecciones viscerales se pueden controlar estimulando las células NK con INFγ y la producción de INFα/β, y por las respuesta celulares en el bazo. Además se demostró que la cantidad de la enzima iNOS (óxido nítrico sintetasa inducible), fundamental en el control de parásito, no tuvo variación tras la activación de las células NKT (7,22,41). En la infección por *Trypanosoma cruzi* despierta gran interés el papel de las células NKT en la defensa del huésped, ya que este parásito presenta glicoproteínas y glicolípidos algunos de los cuales son blancos de la respuesta inmune del huésped. Aunque estas moléculas se pueden unir adecuadamente al CD1d, este complejo es reconocido de forma variable por las NKT y se demostró que la respuesta de anticuerpos contra estas moléculas era dependiente de la presentación por MHC II y no de manera significativa por las NKT (3,12,42). Por último, la enfermedad puede ser más severa en ausencia de estas células y se pueden observar niveles más altos de parasitemias. En los modelos experimentales la adición de αGalCer al esquema terapéutico no genera efectos adicionales (3,12,18,22,43).

En modelos de malaria se ha observado inhibición de su crecimiento debido a la producción de IFN-γ a nivel hepático y a la activación de células B dependiente de la presentación por NKT, que lleva a la producción de anticuerpos específicos; la supresión de las células NKT conlleva al bloqueo de estas dos respuestas; sin embargo, en las complicaciones de malaria dependientes de TNF-α e IFN-γ a nivel del sistema nervioso central se observa que la activación de las células NKT tienen un efecto nocivo ya que actúan de manera sinérgica con la toxina de la malaria produciendo aumento en la inflamación. Estas respuestas dependen de la activación de las células NKT por medio de receptores del complejo NK (NKC) (1,18).

En *Schistosoma mansoni* el control de la infección es efectivo por el interferón producido por las NKT. Cuando se presenta la producción de huevos por este parásito se observa un aumento de las concentraciones de IL-4, IL-5 e IL-13, bajas concentraciones de las células NKT y granulomas con un menor número de eosinófilos (18).

Infecciones virales

En las infecciones virales, el control de la infección se asocia con la capacidad del organismo de secretar rápidamente gran cantidad de citoquinas (18). Se han asociado a las células iNKT con la depuración de agentes virales por medio de dos mecanismos; el primero asociado con una acción citotóxica directa sobre las células infectadas por virus, y el segundo es la estimulación dependiente de citoquinas de otras poblaciones celulares efectoras. Así, su activación se da de manera independiente de CD1d, generan IL-4 e IFNγ en una gran cantidad, y permiten la retroalimentación positiva de marcadores, especialmente CD69, induciendo proliferación celular y aumentando la capacidad citotóxica (18,31,44).

En la infección por citomegalovirus (CMV) el éxito del control se debe principalmente a las NK que producen IFNγ y a la acción de perforinas. La función de la IL-12 puede ser importante en la respuesta protectora contra esta infección. Se observa destrucción directa de las células infectadas con disminución de la carga viral. De igual manera se ha reportado en modelos experimentales que el CMV puede generar un fenómeno apoptótico en las células NKT luego de su activación como un mecanismo de evasión; se ha sugerido que las iNKT no tienen un papel importante en esta infección (12,31,45,46).

En cuanto a la infección por el virus de la hepatitis B (VHB), se parte de la premisa de que los dos tipos de células NKT (iNKT y NKT II) están presentes en cantidades importantes en el hígado y ante la infección el número de células NKT aumenta hasta casi diez veces en relación a su número inicial, y se encuentran en un estado de mayor actividad. Para este tipo de infección se cree que la inhibición de la replicación viral está dada principalmente por el efecto del IFNγ dependiente de óxido nítrico (ON) e IFNα/β (27,31,44). En ratones infectados con VHB, tras la administración de α GalCer, 24 horas después se produce un aumento en la liberación de citoquinas a nivel hepático que concuerda con la disminución de la replicación viral (12). Se reconoce de igual manera su importancia en la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) donde ante la infección puede incrementarse hasta 20 veces el número de células; sin

embargo, aún hay controversia pues algunos estudios reportan una disminución en la función de estas células durante la infección y se induce rápidamente apoptosis como un mecanismo regulador a través del IFNγ al impedir la inducción de efectos deletéreos en el tejido hepático (8,10,27,47). En cuanto a las alteraciones hepáticas, se evidenció además, que la progresión de fibrosis hepática a cirrosis hepática en quienes padecen infecciones por virus hepatotrópos, se asocia con el incremento de la expresión de CD69 y citoquinas como TNFα, IL-2, IL-4 e IL-6 (10,31).

En modelos de infección de Herpes virus tipos 1 y 2 (HVS-1, HSV-2), la deficiencia de CD1d o de la cadena Jα18 se relacionan con mayor susceptibilidad a la infección y menor capacidad de control viral, mayor viremia y un marcado aumento de la sintomatología por esta infección; el inicio de la respuesta adaptativa se puede ver afectado al presentarse una alteración en la función de iNKT (12,18,31). En modelos animales también se ha observado protección por las celulas iNKT dependiente de citoquinas contra el virus de la encefalomiocarditis y el virus citopático diabetogénico (47).

En la respuesta frente al VIH (virus de inmunodeficiencia humana), se ha observado que la población de células NKT $CD4^+$ también poseen altos niveles del co-receptor CCR5 que las hace altamente susceptibles a ser infectados por la variante R5, pero no por la R4. Es importante conocer cual es el mecanismo que permite la activación de los mononucleares en la evolución de la enfermedad; se plantea la hipótesis que las células dendríticas en mucosa al ser infectadas inducen la expresión de CD1d endógenos en otras células, que a su vez activan células NKT que pueden ser infectadas por el virus, llevando a la producción de altos niveles de citoquinas y aumentando la actividad de los linfocitos permitiendo un aumento en la susceptibilidad de infección de mas células. También se ha observado que a medida que progresa la infección por el VIH y que aumenta la viremia hay una disminución de estas células, aunque la producción de IFNγ puede aumentar la resistencia innata a la infección o mediar la inducción de la respuesta citotóxica por medio de las LT $CD8^+$ (8,29).

Sin embargo, no se conoce cual es el ligando que media esta activación, posiblemente sea un ligando hidrofóbico del virus o glicolípidos endógenos liberados por la lesión de tejidos, o quizás solo sea por medio de los receptores del complejo NK (NKC) (18).

Infecciones fúngicas

Se ha relacionado al MIP-1 producido por las células NKT con el control de *Cryptococcus neoformans* a nivel pulmonar; con la ausencia de estas células se presenta una respuesta tipo Th1 débil que no es efectiva (10,18).

Enfermedades autoinmunes

Se ha reportado que las NKT tienen un papel importante en la inmunoregulación de la autoinmunidad. En la Diabetes *mellitus* I (DMI) se ha observado en varios estudios, que los modelos animales con predisposición de desarrollarla, tienen un número disminuido de NKT en timo, bazo, médula ósea y en hígado, y un perfil de citoquinas Th2, especialmente, IL-4 e IL-13. Al transplantarle células NKT I se observa control de la enfermedad, las células presentes en el tejido pancreático conserva funciones residuales y al estimular con αGalCer se han obtenido respuestas terapéuticas tales como la inducción de muerte de células T activadas por medio de perforinas y Fas, y la inducción de las células T inmaduras a la diferenciación a Th2 inhibiendo la respuesta Th1 (3,11,17). Hay controversia sobre el papel que tienen las NKT en los pacientes con DM I. En Colombia, se hizo un estudio en pacientes con DMI y se observó que el número de células NKT I era normal pero presentaban alteración en su función; esta evaluación se hizo con células en sangre periférica y no en órganos linfoides y tejidos de estos pacientes los cuales pueden aportar más bases a la interacción celular en el proceso de la enfermedad (11,41).

En el caso de esclerosis múltiple se ha observado que durante el curso de la enfermedad estas células se encuentran en niveles bajos y se ha relacionado a iNKT con protección aunque no hay aun una conclusión definitiva (3,8,11,22,29,48). En miastenia gravis por lo contrario, los pacientes poseen elevados números de células NKT productores de INFγ e IL-4 (29). En el caso de la psoriasis se ha observado que no hay un predominio en el tipo de NKT presente en las placas psoriaticas, pero si se ha identificado un marcado aumento de células NKT que expresan CD161 y marcadores de inhibición de muerte celular programada (29). Otras enfermedades autoinmunes en las que se ha encontrado un papel protector de las células NKT I son lupus eritematoso sistémico (LES), síndrome de Sjögren, dermatomiostisis, dermatosis bullosa, hepatitis autoinmune, enfermedad de Crohn, artritis inducida por colágeno y artritis reumatoide (3,11). No se han encon-

trado diferencias en cuanto a cantidad y función de las células NKT en especial en la relación de producción de citoquinas Th1 y Th2 en la enfermedad de Hashimoto y en la enfermedad de Graves (49,54).

En el caso de asma, varios estudios han asociado la presencia de NKT con la generación de la hipersensibilidad de la vía aérea. Actualmente esta población ha tomado importancia como explicación de los eventos asmáticos severos que no responden a glucocorticoides donde no es fundamental una respuesta Th2, incluso en la ausencia de células $CD4^+$ aún se genera la reacción en la vía aérea. Posiblemente la principal función de las células NKT está relacionada con la estimulación de la respuesta Th2. Se ha encontrado que existen dos subpoblaciones en relación al tracto respiratorio; dentro de las células NKT tipo I diferenciadas por la expresión del receptor para la IL-25 (IL-17B) donde su ausencia se relaciona con una menor expresión de citoquinas tipo Th1 que Th2 principalmente en pulmón y bazo. Esta población cuenta con la capacidad de inducir episodios de asma por medio de la estimulación de IL-25 (50,51). Recientemente se ha asociado los casos severos de asma resistente a glucocorticoides particularmente con IL-17 y neutrófilos por lo cual se está investigando el glicolípido endógeno que pueda inducir esta respuesta en los pulmones (34).

Se ha mostrado en modelos animales que la eliminación del receptor Jα-18 de las células NKT es suficiente para bloquear el desarrollo de hipersensibilidad. Se ha observado que la población de células que poseen CD1d representa cerca del 60% de las células $CD4^+$ $CD3^+$ encontradas en pacientes con asma severa. Condición simulada posterior a la estimulación por microorganismos como *Sphingomonas spp*, infecciones virales como el virus parainfluenza e incluso la polución se relacionan con la activación de las células NKT por medio de CD1d.

En la hipersensibilidad inducida por alergenos están involucradas distintas poblaciones de células tales como NKT, $CD4^+$, IL-17RB y la producción de IL-4 e IL-13, y su activación depende del factor desencadenante de la reacción; por ejemplo, en la hipersensibilidad inducida por ozono, $CD4^-$ $CD8^-$ con producción de IL-17 y en la hipersensibilidad inducida por el virus parainfluenza, $CD4^-$ $CD8^-$ con producción de IL-13 (3,22,34,50,51). Son pocos los estudios clínicos que se han realizado en pacientes con asma; sin embargo se ha demostrado la presencia en fluido de lavado bronco alveolar y biopsia endobronquial en la mayoría de las muestras, un aumento significativo del número de células NKT comparados con los grupos controles, con niveles casi indetectables (50).

En la enfermedad de injerto contra huésped se ha estudiado la relación entre las células NKT y el transplante de medula ósea, la reacción injerto contra huésped y la reacción injerto contra leucemia. Se ha observado que NKT I protege en contra de la enfermedad producida en el receptor del transplante, mientras que se preserva la acción de eliminación por parte del injerto ante las células malignas siendo este efecto dependiente de la producción de interleuquinas, de una respuesta polarizada Th2. Además tras la estimulación con αGalCer se puede inducir activación de células T reguladoras por la producción de IL-2 y la expansión de estas células depende de la producción de IL-4. Se ha encontrado que para generar los efectos protectores en modelos animales es necesaria la presencia de las células T reguladoras en el tejido transplantado, y las NKT I del receptor pues al disminuir alguna de estas poblaciones se aumenta el riesgo de presentar reacciones injerto contra huésped (3,33,52). Aunque esta reacción depende de algunas características de las células NKT, sin importar la edad del donante estas células tienen la capacidad de expresar el fenotipo de memoria incluso sin estimulación pueden diferenciarse y replicarse (15).

Se ha analizado la capacidad de las células NKT para inducir tolerancia a ciertos órganos transplantados en modelos de ratones; por vía oral, teniendo se ha recopilado la inducción células T tolerogénicas $CD25^+$ $CD4^+$ CTLA4, aumentando la supervivencia del transplante de corazón. En un estudio paralelo se encontró que había un aumento considerable de IL-4 e IFNγ, pero lo más importante fue que al finalizar el estudio se observó que la concentración de IL-10 relacionada con tolerancia estaba elevada (53). En la ateroesclerosis, en el análisis realizado a las arterias extraídas luego de procedimientos quirúrgicos se ha identificado en las placas por iNKT, una porción importante de los linfocitos (29).

Inmunidad tumoral e inmunoterapia

Para la regulación tumoral es importante la habilidad de detectar y destruir células tumorales, así como la capacidad para controlar la inducción tumoral y la metástasis, mediante la producción de INFγ por las NKT y citoquinas tipo Th1, hechos que han sido evidenciados en estudios en los cuales se induce una respuesta antitumoral de las NKT estimuladas con α-GalCer. Se ha mostrado que la administración de αGalCer en ratones

con mutaciones de p53 previene la formación de tumores. También se ha encontrado que la protección dada por estas células es variable y dependiente del órgano, observándose una mayor respuesta en las células del hígado que en las del timo o del bazo. El interferón es la molécula inductora de la activación de células $CD8^+$, de la producción de perforinas, del control de metástasis temprana y de la inducción de la producción de IL- 12 por parte de la DC, siendo más importante incluso que su capacidad lítica *per se* de las mismas células; además, IL-18 inhibe la angiogénesis (3,23,33,55,56).

Estudios previos han demostrado la participación de la IL-12 como coadyuvante del interferón en la activación de las células NKT y NK en la respuesta antitumoral. Así, las células iNKT son las primeras en responder al estímulo de la IL-12, favoreciendo una mayor producción de esta molécula, e incluso, en comparación a las NK necesitan menores cantidades de IL-12 para iniciar su activación, dada la mayor densidad de receptores de IL-12 (19). Se indica además, la acción de la IL-21, en las acciones ya mencionadas, por su similitud estructural con otras citoquinas como IL-2, IL-4, y IL-15. La IL-21, tiene diversos papeles en los linajes linfoides, dentro de los cuales se resalta, la promoción de células $CD8^+$ efectoras y el aumento en la cantidad de células NK maduras. Muestra de ello, es el aumento de la citotoxicidad y el incremento en la producción de INF-γ tras la estimulación de las células NKT de ratones (55,57). Además, la auto-estimulación de la célula NKT, mantiene la producción de citoquinas y la inducción de NKT citotóxicas (33).

La capacidad de las células NKT de unir LFA-1 le permite adherirse de manera efectiva a las células tumorales y así seguir produciendo IFN-γ el cual es crítico para aumentar la capacidad lítica de las NK. Además poseen la capacidad de inducir muerte celular dependiente de Fas y FasL (33,58). Las NKT I inducen la activación de DC y macrófagos para que produzcan altos niveles de citoquinas (incluida IL-15); este mecanismo parece ser dependiente de interacción de CD40 y CD40L, permitiendo a la DC inducir una mayor activación de las células de la respuesta inmune. También la inducción de CD28 hace aún más eficaz el reconocimiento de antígenos por parte de las NKT (3,23,33).

En pacientes con mieloma múltiple progresivo se ha observado la producción de IFN-γ por NKT que lleva a lisis tumoral, pero no en aquellos con una enfermedad no progresiva. Se plantea la hipótesis que desde el momento de la expresión de CD1d por las células tumorales estas pueden ser eliminadas por NKT pero se puede inducir anergia sobre las mismas NKT al limitar la cantidad de IL-4, caso observado en pacientes con cáncer de próstata (3). Se ha reportado que la activación de las NKT se relaciona con inhibición de la metástasis a nivel hepático y pulmonar; por esta razón se están investigando los mecanismos para inducir activación de las iNKT. En modelos animales se ha observado que en situaciones de estrés fisiológico, una dieta baja en proteínas (5%) puede inducir una mejor respuesta de la inmunidad innata, donde la capacidad citotóxica y la producción de citoquinas se elevan, aumentando la expectativa de vida al reducir la cantidad de metástasis en el organismo (59).

En ensayos clínicos con pacientes con linfoma o plasmocitoma se ha utilizado la estimulación con α-GalCer para inducir niveles elevados de IFN-γ en suero y de IL-12, p40, y un aumento de las células NKT y de células T específicas para citomegalovirus hasta por seis meses posteriores a su administración; sin embargo, se debe aclarar que ningún estudio reportó remisión completa o parcial significativa (3). En pacientes con cáncer se ha estudiado cómo es la respuesta de las células NKT al tratamiento con radioterapia y se ha observado que tienen la capacidad de transcribir grandes cantidades de Bcl-2 y así, a diferencia de otras poblaciones celulares, sobreviven, pero también se genera un cambio en el patrón de citoquinas producido, presentándose niveles elevados de IL-4 (60).

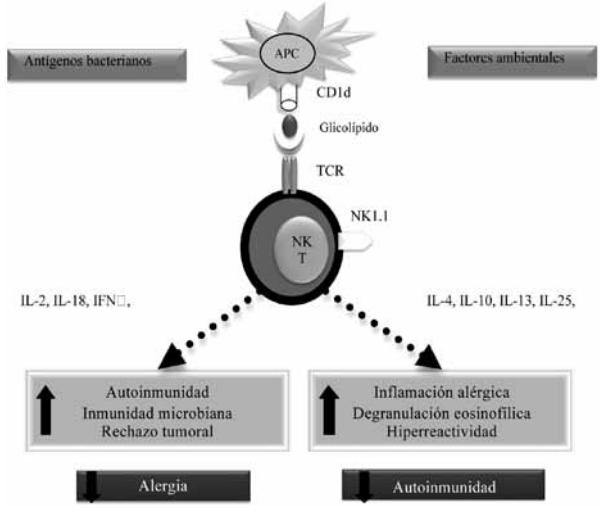

***Figura 2**. Modelo hipotético de la función de las células NKT activadas. Dependiendo de las señales que estas células reciben se pueden inducir diferentes respuestas. Modificado de Jang GC. Natural killer T cell and pathophysiology of asthma. Korean J Pediatr. 2010; 53(2):136-145.*

NKT II

El hallazgo de esta subpoblación celular parte de observaciones en las cuales se evidenciaron acciones contradictorias en las células NKT especialmente, en la acción antitumoral. Por las diferencias a nivel molecular, se designa un subgrupo de células NKT, las cuales, según reporte realizado en 1995, corresponden a un grupo celular en el que se denota un reconocimiento restringido a CD1d sin la expresión de la cadena invariante de TCR Vα14Jα18, y en contraparte, expresan un repertorio heterogéneo de TCR (3,18). El número de células NKT tipo II es mayor con respecto a las NKT I, lo que hace necesario hacer un adecuado delineamiento de las funciones propias de cada subtipo celular (61). De manera similar a las células NKT I, las células NKT II son mixtas y pueden expresar marcadores de tipo NK1.1+ y NK1.1-. Estas poblaciones tienen la capacidad de producir citoquinas de tipo Th1 y Th2 ante la estimulación con CD1d, por lo tanto, tienen la probabilidad de tener funciones inmunorreguladores similares a la células NKT I (3).

Se sabe que los antígenos reconocidos por las NKT II son diferentes a los reconocidos por las NKT I, y por lo tanto complementan la vigilancia inmunológica. Se sabe que gran parte de las células NKT tipo II no reconocen o no responden a la estimulación con αGalCer, por lo tanto para estimularlas se emplea el sulfatide (3`2 sulfatido galactosil ceramida), molécula que se encuentra presente en las vainas de mielina del sistema nervioso, y es reconocida por las células NKT II de humanos y ratones (3,62). Se han reportado que en hepatitis y colitis, las células NKT tipo II están involucradas en el proceso de destrucción e inflamación (63).

Enfermedades autoinmunes

En la esclerosis múltiple se presenta un incremento en la frecuencia células T autorreactivas contra glicolípidos propio en sangre periférica, y al tener la capacidad de reconocer glicolípidos, las NKT II desempeñan un papel importante en el control de la enfermedad. En el modelo animal, cuando se induce la enfermedad y luego se les trata con sulfátido, el número de las células del SNC reactivas aumenta y secretan IFNγ pero no IL-4; sin embargo, si el tratamiento con sulfátido es en el momento de la inducción de la enfermedad, se produce la activación de la NKT II con la subsecuente secreción de IL-4 e INFγ, respuesta específica a la glicoproteína de mielina de oligodendrocito (MOG) previniendo el inicio súbito de la enfermedad (3).

En ratones NOD que expresan un TCR clonado de células NKT II, se observa que no desarrollan DMI pero si en baja proporción insulinitis, lo que sugiere un grado de supresión o retrasado en la aparición de la enfermedad por las células NKT II. En el caso de la colitis ulcerativa se ha reportado que los NKT II de la lámina propia producen IL-13 que parece aumenta la citotoxicidad de las células $CD4^+$ contra las células epiteliales que expresan CD1d (3).

Para estudiar los diferentes aspectos de la enfermedad del hígado mediada por los LT se ha utilizado como modelo la hepatitis inducida por Concavalina A (ConA) en ratones. En este modelo se observó que las NKTI estaban relacionadas con el proceso inflamatorio hepático; pero si se inyecta ConA a ratones $J\alpha18^{-/-}$ and $CD1d^-$, que carecen de iNKT, no se observa el daño hepático, por lo que se concluyó que las células iNKT son las responsables del daño observado en la hepatitis inducida. De forma contraria, se ha demostrado que las células NKT II, evitan el proceso inflamatorio; cuando se activan las células NKT II con sulfátido, se genera una activación predominante de las células dendríticas plasmocíticas (pDC), estableciéndose un proceso de inmunoregulación de las células NKT I. Así, las pDC aumentan su producción de IL-12 y el subsecuente reclutamiento de las células NKT I, una vez estas células son reclutadas en el hígado, entran es un estado de anergia posiblemente relacionado con una ineficiente activación de las DC mas un déficit en la liberación de los glicolípidos propios específicos para la activación (3,61,62).

En la enfermedad injerto contra huésped, las células NKT han sido consideradas como inmunorreguladoras; se cree que las células NKT II del transplante protegen contra el rechazo. Sin embargo, en transplante de médula ósea en ratones se ha demostrado que las dos subpoblaciones de NKT son importantes para controlar la reacción.

Regulación tumoral

Para averiguar qué papel tenían las NKTII en la regulación tumoral, se realizaron estudios en ratones con varios modelos tumorales de diferente tipo de crecimiento: carcinoma metastásico de pulmón, carcinoma de colon, carcinoma de mama y cáncer subcutáneo. Se observó que los ratones $CD1d^{-/-}$, que carecen de NKTII, eran resistentes al crecimiento tumoral mientras que en los ratones $J\alpha18^{-/-}$, que sí tienen esta población celular, se presentó un mayor desarrollo tumoral. Basados en estos

resultados se concluyó que las células NKTII suprimían o inhibían la inmunovigilancia contra los tumores y que además, en esa inhibición estaban involucrados la IL-13, las células mieloides y el factor de crecimiento transformante β (TGF-β), y que no era necesaria la acción de los LT reguladores (LTreg) (3,63,64).

Los resultados obtenidos sugieren, que las NKT II presentes en ratones silvestres y ratones Jα18$^{-/-}$ son responsables de la inhibición de la vigilancia inmune tumoral y que en dicha inhibición están involucradas la IL-13, células mieloides y factor de crecimiento transformante β, y que no se requiere la acción de los LT reguladores (LTreg) (3,64). En la colitis inflamatoria se observa un mecanismo similar relacionado con la capacidad de NKT II para producir IL-13 (63).

Resultados similares consistente con el papel inmunosupresor de las NKT II fueron obtenidos tanto en el modelo de cáncer de células renales y ratones CD1d$^{-/-}$, en donde se observaron los efectos antitumorales de la IL-12 y IL-18 incrementados, así como en el modelo de melanoma B16, en donde se alcanzó una reducción significativa de la carga tumoral en ratones CD1$^{-/-}$ pero no en los tipos silvestre y Jα18$^{-/-}$ los cuales fueron más susceptibles al tumor (3).

En el modelo de cáncer metastático pulmonar CT26, con la activación de las células NKT I se logró abolir la gran mayoría del tumor, mientras que la activación de las células NKT II por sulfátido aumento la carga tumoral. Aunque su producción por parte de las líneas celulares tumorales no ha sido probada, se ha reportado que los cánceres humanos expresan sulfátido; por lo tanto, puede estar involucrado en la activación de las NKT II en personas o animales portadoras de cáncer. Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, esta sustancia solo es reconocida por un tipo de NKT II; el papel de las NKT II no reactivas a los sulfátido como lo son la NKT II Vα3.2^{+}Vβ9^{+} en la inmunidad tumoral aun no es claro (3).

NKT tipo III

Son un tipo de células que tienen un TCR con diferentes reordenamientos y su activación es independiente de CD1d. Es una célula que expresa el receptor NK1.1 pero no une tetrámeros de CD1d unido a αGalCer, no expresa TCR Vα14 invariante y al parecer expresa Vα y Vβ de manera aleatoria. Son primordialmente CD8^{+} o CD4^{-} CD8^{-} (doble negativo) y se localizan principalmente en la medula ósea y en el bazo. Aún se desconoce cuál es el ligando específico para esta sub-población, pero parece ser seleccionada por la molécula de MHC clase I (14,30).

NKT tipo IV

Este tipo celular no ha sido completamente identificado con expresión CD4^{+} o CD4^{-} CD8^{-}; sin embargo cuenta con un repertorio de TCR restringido, dependiente de la expresión de CD1d, tiene una expresión de NK1.1 heterogénea, y su ligando parece ser un glicolípido diferente, posiblemente esfingolípidos y se localiza en el bazo y en la médula ósea (14).

Conclusiones

Las células NKT son una pequeña población muy importante en la conexión de la respuesta inmune innata con la adquirida. De su activación derivan diferentes procesos que se inician gracias a su capacidad rápida de producción de citoquinas al momento de la estimulación temprana en la respuesta inmune innata, y un eficiente control que determinará las posibles vías de la respuesta adaptativa que se genera dependiendo de los niveles de citoquinas en el medio celular.

Dentro de su singularidad, no solo presenta cambios en su estructura dados por diferentes marcadores sino también cambios en las moléculas de presentación y activación; pues el dominio hidrofóbico de la molécula CD1d, como una estructura única con capacidad de reconocimiento de lípidos, abre las puertas a muchas alternativas en los procesos de identificación antigénica y autoinmunidad.

El conocimiento de sus funciones y la implicación que tienen en la respuesta inmune en cáncer, en procesos infecciosos, en reacciones alérgicas y en enfermedades autoinmunes, abre un nuevo camino de investigación de relevancia clínica y de posibles medidas terapéuticas para distintas enfermedades. Si bien su estudio ha avanzado considerablemente en los últimos años, aun quedan gran cantidad de incógnitas por resolver y otras más deberán surgir, pues el avance en nuevas funciones y nuevas subdivisiones surgirán como ha ocurrido con otros aspecto importantes en el ámbito de la inmunología.

Referencias

1. Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LD, Smyth MJ, Baxter AG. NKT cells: facts, functions and fallacies. Immunol Today. 2000; 21(11):573-83.

2. Crowe NY, Coquet JM, Berzins SP, Kyparissoudis K, Keating R, Pellicci DG, et al. Differential antitumor immunity mediated by NKT cell subsets in vivo. J Exp Med. 2005; 202(9):1279-88.
3. Terabe M, Berzofsky J. The role of NKT cells in tumor immunity. Adv Cancer Res. 2008; 101:277-348.
4. Seino K, Taniguchi M. NKT Cells: A Regulator in Both Innate and Acquired Immunity. Curr Med Chem Anti Inflamm Anti Allergy Agents. 2005; 4:59-64.
5. Román A, Rugeles M, Bact D, Montoya C, Papel de las células NKT invariantes en la respuesta inmune anti-viral. Colomb Med. 2006; 37:159-168.
6. Coquet JM, Chakravarti S, Kyparissoudis K, McNab FW, Pitt LA, McKenzie BS, et al. Diverse cytokine production by NKT cell subsets and identification of an IL-17-producing CD4-NK1.1- NKT cell population. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105(32):11287-92.
7. Galli G, Nuti S, Tavarini S, Galli-Stampino L, De Lalla C, Casorati G, et al. Innate immune responses support adaptive immunity: NKT cells induce B cell activation. Vaccine. 2003; 21(2):S48-54.
8. Unutmaz D. NKT cells and HIV infection. Microbes Infect. 2003; 5(11):1041-7.
9. Chen GB, Tang ZH, Bai XJ.Variation and significance of NKT cell and its subset in patients with severe multiple injuries. Chin J Traumatol. 2009; 12(6):323-7.
10. Chen Y, Liao H. NK/NKT Cells and Aging. International journal of gerontology. 2007; 2(1):65-76.
11. Hammond KJ, Kronenberg M. Natural killer T cells: natural or unnatural regulators of autoimmunity? Curr Opin Immunol. 2003; 15(6):683-9.
12. Sköld M, Behar S. Role of CD1d-Restricted NKT Cells in Microbial Immunity. Infect Immun. 2003; 71(10):5447-55.
13. Emoto M, Kaufmann SH. Liver NKT cells: an account of heterogeneity. Trends Immunol. 2003; 24(7):364-9.
14. MacDonald HR. Development and selection of NKT cells. Curr Opin Immunol. 2002; 14(2):250-4.
15. Beziat V, Nguyen S, Exley M, Achour A, Simon T, Chevallier P, et al. Shaping of iNKT cell repertoire after unrelated cord blood transplantation. Clin Immunol. 2010; 135(3):364-73.
16. Berzins SP, Smyth MJ, Godfrey DI. Working with NKT cells--pitfalls and practicalities. Curr Opin Immunol. 2005; 17(4):448-54.
17. Beaudoin L, Laloux V, Novak J, Lucas B, Lehuen A. NKT cells inhibit the onset of diabetes by impairing the development of pathogenic T cells specific for pancreatic beta cells. Immunity. 2002; 17(6):725-36.
18. Hansen DS, Schofield L. Regulation of immunity and pathogenesis in infectious diseases by CD1d-restricted NKT cells. Int J Parasitol. 2004; 34(1):15-25.
19. Takeda K, Hayakawa Y, Atsuta M, Hong S, Van Kaer L, Kobayashi K, Ito M, Yagita H, Okamura K. Relative Contribution of NK and NKT cells to the Anti-metastatic activities of IL-12. Int Immunol. 2000; 12(6):909-14.
20. Fischer K, Scotet E, Niemeyer M, Koebernick H, Zerrahn J, Maillet S, et al. Mycobacterial phosphatidylinositol mannoside is a natural antigen for CD1d-restricted T cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004; 101(29):10685–10690.
21. Zhou D, Mattner J, Cantu C 3rd, Schrantz N, Yin N, Gao Y, et al. Lysosomal glycosphingolipid recognition by NKT cells. Science. 2004; 306(5702):1786-9.
22. Brutkiewicz RR. CD1d ligands: the good, the bad, and the ugly. J Immunol. 2006; 177(2):769-75.
23. Terabe M, Berzofsky JA. NKT cells in immunoregulation of tumor immunity: a new immunoregulatory axis. Trends Immunol. 2007; 28(11):491-6.
24. Linsen L, Somers V, Stinissen P. Immunoregulation of autoimmunity by natural killer T cells. Hum Immunol. 2005; 66(12):1193-202.
25. Notas G, Kisseleva T, Brenner D. NK and NKT cells in liver injury and fibrosis. Clin Immunol. 2009; 130(1):16-26.
26. Lin H, Nieda M, Rozenkov V, Nicol AJ. Analysis of the effect of different NKT cell subpopulations on the activation of CD4 and CD8 T cells, NK cells, and B cells. Exp Hematol. 2006; 34(3):289-95.
27. Kakimi K, Guidotti LG, Koezuka Y, Chisari FV. Natural killer T cell activation inhibits hepatitis B virus replication in vivo. J Exp Med. 2000; 192(7):921-30.
28. La Cava A, Van Kaer L, Fu-Dong-Shi. CD4+CD25+ Tregs and NKT cells: regulators regulating regulators. Trends Immunol. 2006; 27(7):322-7.
29. Chan WL, Pejnovic N, Liew TV, Lee CA, Groves R, Hamilton H. NKT cell subsets in infection and inflammation. Immunol Lett. 2003; 85(2):159-63.
30. D'Cruz LM, Yang CY, Goldrath AW. Transcriptional regulation of NKT cell development and homeostasis. Curr Opin Immunol. 2010; 22(2):199-205.
31. Diana J, Lehuen A. NKT cells: Friend or foe during viral infections? Eur J Immunol. 2009; 39:3283–3291.
32. Apostolou I, Takahama Y, Belmant C, Kawano T, Huerre M, Marchal G, et al. Murine natural killer T(NKT) cells [correction of natural killer cells] contribute to the granulomatous reaction caused by mycobacterial cell walls. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999; 96(9):5141-6.
33. Brutkiewicz RR, Sriram V. Natural killer T (NKT) cells and their role in antitumor immunity. Crit Rev Oncol Hematol. 2002; 41(3):287-98.
34. Umetsu DT, Dekruyff RH. The regulatory role of natural killer T cells in the airways. Int J Biochem Cell Biol. 2010; 42(4):529-34.
35. Arrunategui-Correa V, Kim HS. The role of CD1d in the immune response against Listeria infection. Cell Immunol. 2004; 227(2):109-20.
36. Arrunategui-Correa V, Lenz L, Kim HS. CD1d-independent regulation of NKT cell migration and cytokine production upon Listeria monocytogenes infection. Cell Immunol. 2004; 232(1-2):38-48.
37. Emoto M. Liver invariant NKT cells and listeriosis. Microbes Infect. 2008; 10(9):1036-40.
38. Kirby A, Yrlid U, Wick M. The Innate Immune Response Differs in Primary and Secondary Salmonella Infection. J Immunol. 2002; 169:4450-4459.
39. Kinjo T, Nakamatsu M, Nakasone C, Yamamoto N, Kinjo Y, Miyagi K, et al. NKT cells play a limited role in the neutrophilic inflammatory responses and host defense to pulmonary infection with Pseudomonas aeruginosa. Microbes Infect. 2006; 8(12-13):2679-85.
40. Nakano Y, Hisaeda H, Sakai T, Ishikawa H, Zhang M, Maekawa Y, et al. Roles of NKT cells in resistance against infection with Toxoplasma gondii and in expression of heat shock protein 65 in the host macrophages. Microbes Infect. 2002; 4(1):1-11.
41. Mattner J, Donhauser N, Werner-Felmayer G, Bogdan C. NKT cells mediate organ-specific resistance against Leishmania major infection. Microbes Infect. 2006; 8(2):354-62.
42. Procópio DO, Almeida IC, Torrecilhas AC, Cardoso JE, Teyton L, Travassos LR, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored mucin-like glycoproteins from Trypanosoma cruzi bind to CD1d but do not elicit dominant innate or adaptive immune responses via the CD1d/NKT cell pathway. J Immunol. 2002; 169:3926–3933.
43. Antúnez MI, Cardoni RL. Trypanosoma cruzi: the expansion of NK, T, and NKT cells in the experimental infection. Exp Parasitol. 2004; 106(3-4):85-94.
44. Kakimi K, Guidotti L, Koezuka Y, Chisari F. Natural Killer T Cell Activation Inhibits Hepatitis B Virus Replication In Vivo. J Exp Med. 2000; 192(7):921–930.

45. Van Dommelen SL, Tabarias HA, Smyth MJ, Degli-Esposti MA. Activation of natural killer (NK) T cells during murine cytomegalovirus infection enhances the antiviral response mediated by NK cells. J Virol. 2003; 77(3):1877-84.
46. Biron CA, Brossay L. NK cells and NKT cells in innate defense against viral infections. Curr Opin Immunol. 2001; 13(4):458-64.
47. Lucas M, Gadola S, Meier U, Young NT, Harcourt G, Karadimitris A, et al. Frequency and phenotype of circulating Valpha24/Vbeta11 double-positive natural killer T cells during hepatitis C virus infection. J Virol. 2003; 77(3):2251-7.
48. Awasthi A, Kuchroo VK. Th17 cells: from precursors to players in inflammation and infection. Int Immunol. 2009; 21(5):489-98.
49. Roman-Gonzalez A, Moreno ME, Alfaro JM, Uribe F, Latorre-Sierra G, Rugeles MT, Frequency and function of circulating invariant NKT cells in autoimmune diabetes mellitus and thyroid diseases in Colombian patients. Hum Immunol. 2009; 70(4):262-8.
50. Umetsu DT, Dekruyff RH. Natural killer T cells are important in the pathogenesis of asthma: the many pathways to asthma. J Allergy Clin Immunol. 2010; 125(5):975-9.
51. Terashima A, Watarai H, Inoue S, Sekine E, Nakagawa R, Hase K, et al. A novel subset of mouse NKT cells bearing the IL-17 receptor B responds to IL-25 and contributes to airway hyperreactivity. J Exp Med. 2008; 205(12):2727-33.
52. Pillai AB, George TI, Dutt S, Strober S.Host natural killer T cells induce an interleukin-4-dependent expansion of donor CD4+CD25+Foxp3+ T regulatory cells that protects against graft-versus-host disease. Blood. 2009; 113(18):4458-67.
53. Li W, Carper K, Perkins JD. Enhancement of NKT cells and increase in regulatory T cells results in improved allograft survival. J Surg Res. 2006; 134(1):10-21.
54. van der Vliet HJ, von Blomberg BM, Nishi N, Reijm M, Voskuyl AE, van Bodegraven AA, et al. Circulating V(alpha24+) Vbeta11+ NKT cell numbers are decreased in a wide variety of diseases that are characterized by autoreactive tissue damage. Clin Immunol. 2001; 100(2):144-8.
55. Smyth M, Wallace M, Nutt S, Yaguita H, Godfrey D, Hayakawa Y. Sequential activation of NKT cells and NK cells provides effective innate immunotherapy of cancer. J Exp Med. 2005; 201(12):1973-85.
56. Berzofsky J, Terabe M. NKT Cells in Tumor Immunity: Opposing Subsets Define a New Immunoregulatory Axis. J Immunol. 2008; 180(6):3627-35.
57. Coquet J, Kyparissoudis K, Pellicci D, Besra G, Berzinis S, Smyth M, Godfrey D. IL-21 Is Produced by NKT Cells and Modulates NKT Cell Activation and Cytokine Production. J Immunol. 2007; 178(5):2827-34.
58. Street S, Cretney E, Smyth M. Perforin and interferon-gamma activities independently control tumor initiation, growth, and metastasis. Blood. 2001; 97(1):192-7.
59. Li C, Bai X, Wang S, Tomiyama-Miyaji C, Nagura T, Kawamura T, et al. Immunopotentiation of NKT cells by low-protein diet and the suppressive effect on tumor metastasis. Cell Immunol. 2004; 231(1-2):96-102.
60. Yao Z, Liu Y, Jones J, Strober S. Differences in Bcl-2 expression by T-cell subsets alter their balance after in vivo irradiation to favor CD4+Bcl-2hi NKT cells. Eur J Immunol. 2009; 39(3):763-75.
61. Renukaradhya G, Khan M, Vieira M, Du w, Gervay-Hague J, Brutkiewicz R. Type I NKT cells protect (and type II NKT cells suppress) the host's innateantitumor immune response to a B-cell lymphoma. Blood. 2008; 111:5637-5645.
62. Halder R, Aguilera C, Maricic I, Kumar V. Type II NKT cell–mediated anergy induction in type I NKT cells prevents inflammatory liver disease.J Clin Invest. 2007; 117:2302–2312.
63. Terabe M, Swann J, Ambrosino E, Sinha P, Takaku S, Hayakawa Y, et al. A nonclassical non-Vα14Jα18 CD1d-restricted (type II) NKT cell is sufficient for downregulation of tumor immunosurveillance. J Exp Med. 2005. 202:1627–1633.
64. Seino K, Taniguchi M. Functionally distinct NKT cell subsets and subtypes. J Exp Med. 2005; 202:1623–1626.

BIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DEL VIH, UN VIRUS ENIGMÁTICO

Natalia C. Perdomo B.[1], Iván A. Méndez[2]

Resumen

Debido al impacto mundial que tiene el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) por el número de casos reportados de sida y que han convertido a esta enfermedad en una problemática de salud pública, es importante hacer una revisión de la literatura sobre la epidemiología, la biología de este virus y las diferentes teorías que surgieron acerca del origen y la etiología del sida, temas que son presentados en este artículo.

Palabras clave: VIH, sida, replicación, epidemiología, integrasa, transcriptasa reversa

Abstract

Due to the global impact that the human immunodeficiency virus (HIV) has, especially for the number of reported cases that makes this desease a public health problem, this article presents a review of the literature on the epidemiology, biology of this virus and the different theories about the origin and the etiology of AIDS.

Key words: HIV, AIDS, replication, epidemiology, integrase, reverse transcriptase

Introducción

El centro de control y prevención de enfermedades de Atlanta, Estados Unidos (CDC) publicó el 5 de Junio de 1981 los casos de pacientes jóvenes homosexuales de Los Ángeles (California), quienes presentaban una neumonía rara (producida por *Pneumocystis carinii* actualmente *Pneumocystis jirovecii*) y que además tenían su sistema inmune comprometido. En julio del mismo año se publicó en el *New York Time* la aparición de 41 casos de Sarcoma de Kaposi (KS) en pacientes homosexuales por lo cual el primer nombre con que se conoció este patrón epidemiológico fue la "peste rosada". Posteriormente, en agosto de 1981 fueron reportados 70 casos más de neumonía y KS por el CDC, pero este grupo estaba conformado por heterosexuales y homosexuales (1).

En 1982 el CDC relacionó los casos de Los Ángeles y los de SK y neumonía con la práctica sexual y a esa nueva enfermedad se le denomina Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA o AIDS: *acquired immunodeficiency syndrome*) la cual estaba asociada a un recuento de linfocitos T $CD4^+$ anormalmente bajo. Con base en estos hallazgos se concluyó que esta enfermedad era trasmitida a través de los principales fluidos corporales como la sangre, el semen y las secreciones vaginales. En 1983, Michael Gottlieb sugirió que el posible agente causal del sida era un retrovirus y en el mismo año, el grupo de Montagnier del Instituto Pasteur publicó la relación del sida con un virus retroviral nuevo (2).

En 1984 se originaron diferentes teorías acerca de la etiología de esta nueva enfermedad, entre ellas caben recalcar la teoría infecciosa o vírica y la teoría disidente. La teoría infecciosa o vírica, en la cual se postulaba que era un virus el agente etiológico del sida, teoría corroborada en 1986 por Gallo y Montagnier quienes aislaron el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (4).

[1] Estudiante XI Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.
[2] Docente Facultad de Medicina, Grupo de Patogenicidad Microbiana, Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.
* Correspondencia: natyka99@gmail.com. Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.

La teoría divergente o disidente, es una teoría alterna en la cual se expone que el sida es una enfermedad multifactorial y en la cual se cuestiona el nexo directo entre el VIH y el sida (4). Dado sus sólidos fundamentos científicos la teoría aceptada actualmente del sida es la teoría infecciosa o vírica.

La teoría disidente fue formulada y es actualmente liderada por Peter Duesberg, un virólogo de reputación mundial quien junto a Kary Mullis, merecedor del premio Nobel en química por el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), han sido los más grandes críticos de la posición oficial (teoría infecciosa o vírica) sobre la etiología del sida (3). La teoría disidente se fundamenta en que para desarrollar sida no solo se necesita la infección por el VIH sino también ciertas situaciones que comprometen el sistema inmune tales como la pobreza, la desnutrición, condiciones insalubres, y enfermedades infecciosas (co-infecciones), las cuales se comportan como cofactores, estas ultimas no siempre son consecuencia de la inmunosupresión, ya que algunas infecciones como las producidas por el virus Hepatitis B, el Virus de Herpes Simple, y la Tuberculosis pueden presentarse en pacientes inmunocompetentes. Todas estas condiciones suelen estar presentes en la mayoría de pacientes que desarrollan sida, por lo cual postulan que el sida es una enfermedad multifactorial en la cual no solo se requiere la presencia del VIH. Partiendo de este argumento los disidentes si bien no cuestionan la existencia del VIH y su relación con el sida, si cuestionan el dogma oficial en el que VIH es igual a sida considerándolo más bien como un factor presente, necesario pero no suficiente para el desarrollo del sida (3-11).

Epidemiología

Debido al gran número de casos reportados de sida a nivel mundial, ésta se ha convertido en una problemática de salud pública (12). Después de más de 20 años del reconocimiento de la infección, el virus se ha propagado por todo el mundo y el sida se convirtió en una de las pandemias más grandes de la humanidad, hecho que se puede observar en las cifras de personas infectas, nuevos casos y número de muertes como se muestra en la Tabla 1 (13).

En la región de América Latina la epidemia tiene una dinámica diferente y depende de la subregión que se estudie, observándose un patrón predominante en heterosexuales y de la influencia de las condiciones socio-económicas tales como el desempleo, la pobreza y la guerra, condiciones que han promovido la magnitud creciente de la epidemia. Actualmente, el sida es la

***Tabla 1**. Estadísticas de sida reportadas por año a nivel mundial*

AÑO	Casos nuevos de infectados (millones)	Total personas infectadas (millones)	Número total de muertes (millones)
1998	5,8	33,4	13,9
2000	5,3	36,1	21,8
2001	5	40	3
2002	5	42	3,1
2003	5	40	3
2004	4,9	39,4	3,1
2005	4,9	40,3	3,1
2006	4,3	39,5	2,9
2007	2,5	33,2	2,1
2009	2,6	33,4	2
2010	2,6	33,3	1,8

cuarta causa de muerte en el mundo, la prevalencia de la enfermedad a nivel mundial en el 2008 fue de 0,6%, cifra que puede variar dependiendo del área geográfica que se estudie; por ejemplo, en África subsahariana la prevalencia oscila entre 15-50% mientras que en Latinoamérica es 0,5-1% (14).

En el campo de la salud pública, el VIH se convirtió en una preocupación creciente ya que la dinámica epidemiológica mostraba un aumento sostenido, tanto en la prevalencia como en la incidencia de la infección; afortunadamente las campañas de prevención masivas han tenido un impacto positivo en la reducción de la incidencia de esta enfermedad. Es así como la incidencia desde el año 1989 hasta el año 2006 fue en promedio 5 millones de nuevos casos por año y tuvo una reducción dramática en el año 2007 a 2,5 millones de casos, cifras que se han mantenido, lo cual muestra que probablemente sino se hubiese realizado este tipo de intervenciones, las cifras de incidencia y prevalencia del VIH/sida serian aun más altas (14-21).

En Colombia la tendencia de la epidemia es creciente, ha pasado de las ciudades a las áreas rurales comprometiendo principalmente a la población joven de escasos recursos, fenómeno favorecido por el pobre conocimiento acerca de la enfermedad, por los factores de riesgo como la promiscuidad, por la drogadicción y por las malas condiciones socio-económicas en las que vive la mayoría de la población colombiana (12). En las estadísticas de ONUSIDA (2005) – Colombia, se observa que la tasa de mortalidad del sida

ha aumentado dramáticamente desde el año 1995 reportándose los siguientes datos: de 1995 a 1998 fueron reportadas 1.700 muertes por año y para el año 1998 había un total acumulado de 5.950; en 1999 se registraron 1.800 muertes mientras que en el año 2000, 1.900.

Para el año 2001 se notificaron 2.000 muertes, para el 2002 y el 2003 se registraron 2.010 y para el año 2004 se reportaron 2.300 (las cifras anteriores son valores aproximados al valor real). En total, del año 1995 al 2004 se han reportado más de 18000 muertes causadas por sida, siendo en general la proporción de mortalidad mayor en hombres que en mujeres. Del año 1993 a 2007 se reportaron 57.500 personas infectadas, de las cuales 24.000 murieron. Es importante recalcar que de esta población el 60% corresponde a pacientes jóvenes entre los 15 y 34 años de edad y la mayoría corresponden al sexo masculino (77%). Los datos más completos sobre la notificación del VIH-sida van desde el año de 1983 hasta el 2007 (19, 21-23) (Tabla 2).

Según el Ministerio de Protección Social en Colombia, se calcula que unas 57.500 personas se encuentran infectadas, de las cuales, 23.000 necesitan tratamiento; sin embargo, las tasas de cobertura no son optimas ya que para el año 2006 esta era tan solo de un 75% (21). Las estadísticas colombianas muestran que la mortalidad por el VIH está en aumento año tras año, fenómeno que puede estar favorecido principalmente por la no concientización de la enfermedad en la población, el diagnóstico tardío, el pobre acceso que tienen los pacientes a los controles médicos y la escasa oportunidad de adquirir los medicamentos antirretrovirales (12).

Es importante recalcar que tanto a nivel mundial como a nivel nacional existe una prevalencia de coinfecciones dadas por microorganismos oportunistas y otras que no están estrictamente relacionadas con este tipo de microorganismos, hecho que lo demuestran las estadísticas de la ONUSIDA que informan que a nivel mundial un 6 a 10% de los pacientes con VIH tienen simultáneamente una infección por virus de la hepatitis B (VHB), un 30% poseen una coinfección con el virus de la hepatitis C (VHC) y 8% se encuentra coinfectados con tuberculosis (TBC); la prevalencia en Colombia de VIH-VHB es 0,7% y de VIH-TBC varia entre 3,5 y 11,9% (21, 23).

En los últimos años se ha observado que el VIH/sida ha tenido un marcado aumento en personas mayores de 50 años, lo que está correlacionado íntimamente con los cambios en los hábitos sexuales. Además se muestra que la pandemia no se restringe a un grupo poblacional específico, ni a una tendencia sexual particular; por el contrario, esta en riesgo toda persona sexualmente activa que no utilicé los métodos de barrera (condón) de manera adecuada. Se estima que un 42% de los hombres no sabe de qué manera adquirió el virus. En Colombia la epidemiología de la infección tiene unas características particulares, como lo es su mayor prevalencia en la población heterosexual, siendo predominantemente más frecuente en mujeres; sin embargo, la relación (hombre:mujer) en algunos departamentos como Antioquia tiende a ser mayor para los hombres; en Putumayo y Cundinamarca ha tendido a equiparase, y en algunos departamentos la relación se ha invertido totalmente, como lo es el caso de Arauca (21,24) (Tabla 3, 4 y 5).

Población de riesgo

En la década de los ochenta se consideraba como población de riesgo los hombres que tienen sexo con hombres sexualmente activos que no utilizaban mecanismos de barrera como el condón y que sostenían relaciones sexuales casuales con desconocidos y los usuarios de drogas inyectadas que compartían sus jeringas (25).

Posteriormente, cuando comenzaron a aparecer nuevos casos de VIH en mujeres heterosexuales, en pacientes receptores de componentes sanguíneos como los hemofílicos y en niños nacidos de madres infectadas, la población y los factores de riesgo comenzaron a hacerse aun más complejos. Actualmente, se considera como población de riesgo toda persona sexualmente activa, que no use los métodos de barrera de manera adecuada, drogadictos que utilicen drogas inyectables y que compartan sus utensilios de inyección principalmente las jeringas, personas con exposición ocupacional como los trabajadores de la salud, recién nacidos de madres VIH positivas y paciente receptores de componentes sanguíneos (25).

Inicialmente las campañas de prevención frente a esta grave infección, se centraron en la población de hombres que tienen sexo con hombres y con vida sexualmente activa; sin embargo, al analizar la dinámica de la pandemia de VIH en el continente Africano, Americano y Asiático se observó que la población mas afectada eran los heterosexuales con vida sexual activa, hecho que obligó a que se hicieron modificaciones en las campañas preventivas con el fin de disminuir la alta

Tabla 2. *Notificación de casos del VIH/SIDA por departamento Colombia 1983-2005 y de 1983-2007.*

Departamento	N° de casos Notificados hasta el año 2005	N° de casos Notificados hasta el año 2007	N° de casos Notificados desde el año 2005-2007
Vaupés	2	3	1
Guainía	4	7	3
Vichada	20	22	2
Chocó	41	47	6
Amazonas	88	92	4
Casanare	96	141	45
San Andrés	116	125	9
Arauca	133	164	31
Caquetá	147	193	46
Cauca	155	248	93
Putumayo	174	239	65
Guaviare	262	330	68
Guajira	277	297	20
Boyacá	298	401	103
Caldas	357	754	397
Nariño	426	612	186
Sucre	446	453	7
Cundinamarca	476	1590	1114
Magdalena	510	799	289
Tolima	549	735	186
Córdoba	625	767	142
Cesar	826	1060	234
Meta	901	1259	358
Huila	964	1181	217
Quindío	1034	1336	302
Bolivar	1302	1481	179
Norte de Santader	1473	1621	148
Santander	1795	2332	537
Risaralda	1796	1929	133
Atlántico	1865	2548	683
Antioquia	7425	7977	552
Valle	10290	11017	727
Bogotá	10942	14281	3339
Sin dato		1448	1448
Total	45815	57489	11674

Información tomada de http://minproteccionsocial.gov.co, Bogotá Colombia: Ministerio de la protección Social; 1 de Diciembre 2007 [Revisión; Octubre 2008]. Resumen de situación de la epidemia por VIH/sida en Colombia [7]. http://www.minproteccionsocial.gov.co/VBeContent/home.asp.

Tabla 3. *Porcentaje de pacientes infectados con VIH en Colombia según tendencia sexual*

Bisexual	17%
Homosexual	32%
Heterosexual	48%

Información tomada de Bernel García Ricardo, Luque Ricardo, Mcdouall Jorge, Moreno Angel Luis. Infección por VIH y sida en Colombia estado del arte 2000-2005. Bogotá, Colombia: Pro-offset editorial ltda; 2006.

Tabla 4*. Distribución Colombiana del VIH por departamentos y la relación hombre - mujer*

DEPARTAMENTO	RELACIÓN HOMBRE- MUJER
Putumayo	1:1
Cundinamarca	1:1
Guaviare	1:2
Arauca	1:5
Cauca	2:1
Casanare	2:1
Guajira	2:1
Boyacá	2:3
Santander	3:1
Risaralda	3:1
San Andrés	3:2
Bogotá	6:4
Antioquia	6:5
Colombia	1.7:1

Información tomada de Bernel García Ricardo, Luque Ricardo, Mcdouall Jorge, Moreno Angel Luis. Infección por VIH y sida en Colombia estado del arte 2000-2005. Bogotá, Colombia: Pro-offset editorial ltda; 2006.

Tabla 5*. Distribución del VIH/sida con respecto al género*

	MUJERES	HOMBRES
INFECTADOS	74%	62%
SIDA	15%	21%
FALLECIDOS	8%	15%

Información tomada de Bernel García Ricardo, Luque Ricardo, Mcdouall Jorge, Moreno Angel Luis. Infección por VIH y sida en Colombia estado del arte 2000-2005. Bogotá, Colombia: Pro-offset editorial ltda; 2006.

incidencia de la patología en este grupo poblacional. En Colombia el mayor porcentaje de población infectada corresponde a personas heterosexuales, situación que es extrapolable a la población mundial (25).

Teoría infecciosa del VIH-sida

¿Qué es el VIH y qué es sida?

El VIH es un retrovirus cuyo genoma consiste en ARN de una sola cadena de sentido positivo; poseen la enzima transcriptasa reversa o inversa, que convierte ARN en una copia de ADN de doble cadena que es capaz de integrarse en el ADN de la célula blanco. El ADN viral es transportado desde el citoplasma hasta al núcleo por la integrasa, una enzima codificada por el virus, y con la ayuda de otras proteínas que forman parte del complejo de preintegración; una vez el ADN viral se encuentra en el núcleo de la célula, la integrasa corta los segmentos del ADN nuclear y conecta los extremos compatibles de estos con el ADN viral a partir de diferentes enlaces químicos que son reparados por la maquinaria de la célula hospedera. Es así como el ADN viral se convierte en parte del ADN celular y puede generar copias de ARN en el momento de la replicación (26).

Se han descrito siete géneros en la Familia Retroviridae: alpharetrovirus (ejm: virus de la leucosis aviar), betaretrovirus (ejm: virus del tumor mamario del ratón), gammaretrovirus (ejm: virus de la leucemia murina, virus de la leucemia felina), deltaretrovirus (ejm: virus de leucemia bovina, virus linfotrópico T humano), epsilonretrovirus (ejm: virus del sarcoma cutáneo del Walleye), lentivirus (ejm: virus inmunodeficiencia humana 1 y 2, virus de inmunodeficiencia del simio, virus de la inmunodeficiencia felina) y spumavirus (ejm: virus espumoso del chimpancé) (26).

El sida puede ser producido por dos lentivirus (o virus "lentos") denominados virus de la inmunodeficiencia humana del tipo 1 y 2 (VIH-1 y VIH-2). El agente etiológico principal de la pandemia de sida a nivel mundial es el VIH-1, mientras que el VIH-2 se ha encontrado en algunas poblaciones africanas, y ha sido vinculado con el virus de inmunodeficiencia simiana (VIS), la cual produce un síndrome de inmunodefiencia similar en los primates (27).

Este virus es capaz de transducir genes promotores denominados oncogenes en la célula receptora lo que puede explicar su capacidad para producir algunas lesiones tumorales malignas y se asocia con la aparición

del sarcoma de kaposi en pacientes con la enfermedad avanzada (28). Este proceso ocurre durante la transducción cuando se inserta el genoma viral en el ADN de la célula hospedera por la asociación de los extremos de repetición terminales largas (LTR) del genoma vírico, como consecuencia se altera el genoma del huésped y se genera una proliferación celular sin restricción lo que se traduce en crecimiento tumoral. En conclusión la relación entre la generación tumoral y el VIH se debe a la pérdida del control de la proliferación, causada por el re-arreglo entre el genoma viral y el genoma celular (29).

Virología del retrovirus

El virión del VIH-1 mide unos 100 nm de diámetro y contiene dos copias del genoma de ARN de cadena positiva. El genoma ARN está cubierto por las proteínas de la nucleocápside (NC), y estos a su vez por la cápside (CA) que está compuesta por múltiples subunidades. La envoltura se adquiere a partir de la célula huésped durante la gemación, pero las glucoproteínas de superficie (SU, llamada también gp120) y la transmembranal (TM, llamada gp41) y que se encuentran en dicha estructura, son codificadas por el virus. La proteína de matriz (MA) se encuentra entre la cápside y la envoltura (figura 1). El core del virión contiene tres proteínas específicas del virus que son esenciales para la replicación viral: transcriptasa inversa (RT), proteasa (PR) e integrasa (IN) (27,28).

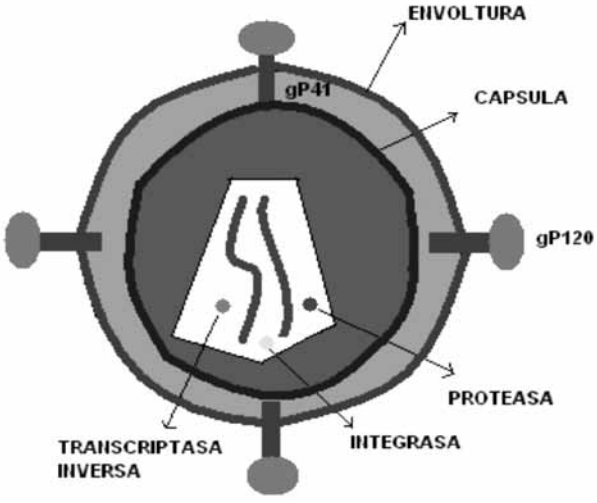

***Figura 1**. Esquema del VIH. (Tomado y modificado de Murray Patrick, Rosenthal Ken, Kobayashi George, Pfaller Michael. Retrovirus. En: Schmitt William, Miller Katie. Microbiología Médica. 6ed. Barcelona, Espana: Elseiver; 2009. P. 627-336)*

Este virus posee una estructura mucho más evolucionada a la de otros retrovirus , idea ampliamente sustentada, ya que a pesar de que solo posee un ARN único constituido por dos hebras esta acompañado por más de siete genes que codifican para este virus, a diferencia de los demás retrovirus que poseen menor cantidad de genes codificantes (27) (Tabla 6).

Ciclo de replicación viral

En la replicación del ARN viral se destacan siete pasos los cuales se describen a continuación y se puede observar el esquema de la replicación viral en la figura 2.

Entrada del virus a la célula blanco

Los viriones reconocen y se unen a los receptores CCR5 de la membrana celular de la célula blanco e ingresan mediante fusión directa con la membrana plasmática celular, y que es realizada por la proteína TM gp41 (paso 1- Fig. 2). En el VIH-1 la gp120 se une al receptor CD4 (un marcador celular) y a los correceptores CXCR4 o CCR5 de la célula diana, primordialmente en el linfocito T CD4⁺ (28,29). Se ha observado que otras células infectadas por el virus como los fibroblastos son reconocidas rápidamente por los linfocitos T CD4⁺ no infectados promoviéndose la formación de sincitios y facilitando así la diseminación del virus de célula a célula (28).

Replicación del ARN viral

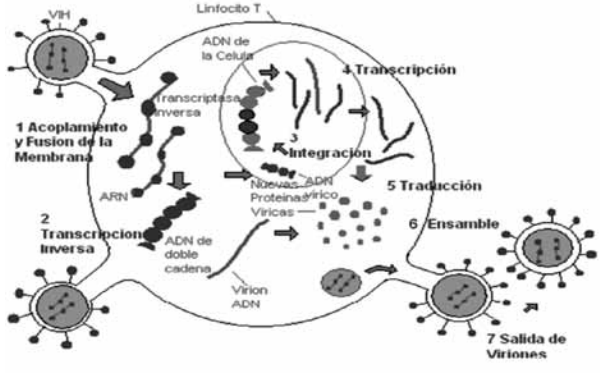

***Figura 2**. Esquema de replicación del VIH. (Tomado y modificado de Homepage [http://ctv.es]. Madrid, España: Editor; Francisco Javier Pardo Serrano; septiembre 1998 [Revisión; 22 de Febrero 2008]. Los virus del SIDA [29]. http://www.ctv.es/USERS/fpardo/virus.htm)*

***Tabla 6**. Proteínas del VIH*

PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN Y FUNCIÓN
gp160	Precursor
gp120	Proteína de la envoltura, interacción con receptor CD4
gp41	Interacción con correceptores celulares (cxcr4). Permite la fusión de la membrana viral con la celular
p55	Precursor
p24	Proteína de la nucleocápside, se expresa de manera precoz en la infección aguda, permite el diagnostico de la infección por VIH.
p17	Proteína de la matriz, proporciona protección al material genético de VIH
p9	Ribonucleoproteínas asociadas al ARN viral.
P6	Hace parte de una región del p55 y es responsable de la incorporación de la proteína accesoria Vpr (producto de la traducción del gen vpr) al virión en formación y de la interacción con la membrana de la célula que hace posible la gemación.
Trancriptasa inversa	Retrotranscripción del genoma viral
	Actividad RNAsa H
Integrasa	Integración del genoma viral retrotranscrito
Proteasa	Procesamiento de las proteínas virales que forman la estructura del virión.
Tat	Transactivación. Es un activador transcripcional que permite reclutar proteínas celulares para la polimerasa lo que permita que esta enzima haga la transcripción completa del genoma proviral.
Rev	Regulación del transporte y procesamiento de ARN. específicamente fija el ARN y permite la exportación de proteínas desde el nucléolo que media el paso de ARN a través de un poro nuclear, así Rev activa la expresión génica tardía lo que conlleva a una alta tasa de replicación viral.
Nef	Retrotranscripción. Infectividad , ya que intensifica la producción del virus ya que produce incorporación y degradación de de la proteína CD4 que permite una descarga viral más amplia, además de que posee la capacidad de inhibir la producción de moléculas por el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) Io que impide el reconocimiento de la LT citotóxicos de la célula infectada.
Vif	Infectividad viral. Es la que permite que el virus pueda infectar varios tipos de células del huésped.
Vpr	Transactivador. Es necesaria en las células que no se dividen como los macrófagos con el fin de permitir que el ADN viral recién sintetizado pueda ser exportado al núcleo para su posterior integración.
Vpu	Liberación de viriones. Esta encargada de la destrucción de la proteína CD4 en el retículo endoplasmico, este proceso favorece la incorporación de Env en los viriones y además su rápida liberación ya que disminuye la expresión CD4 en la superficie celular.
Tev	Activador tat y rev

Información tomada Homepage [http://ctv.es]. Madrid, España: Editor; Francisco Javier Pardo Serrano; septiembre 1998 [Revisión; 22 de Febrero 2008]. Los virus del SIDA [1]. http://www.ctv.es/USERS/fpardo/virus.htm.

La transcriptasa inversa, una DNA polimerasa dependiente de RNA derivada de la familia retroviridae, tiene como función producir una cadena de ADN vírica a partir del ARN a nivel del citosol (paso 2 - Fig.2). Esta doble cadena de ADN viral se inserta en el ADN de la célula hospedera gracias a los extremos de repetición terminales largas (LTR) del genoma vírico y por la integrasa viral; parece ser que el lugar del genoma donde el ADN viral se inserta esta mediado por el azar (paso 3 - Fig.2); de este paso depende la latencia del virus. Los genes virales son denominados provirus y es la RNA polimerasa II del huésped la que los transcribe (paso 4 – Fig.2), para luego ser traducidos en el citosol. En este paso intervienen las proteínas Rev y Tat (TABLA 6). La mayoría de proteínas virales excepto las proteínas reguladoras y accesorias, inicialmente se

traducen como poliproteínas, y luego son clivadas por las enzimas proteasas (PR) codificadas por los genes gag y pol, que adicionalmente codifican para las proteínas estructurales y para la trascriptasa reversa (paso 5 - Fig.2) (27,28,32,33).

En el citosol se hace el ensamblaje y se empaquetan las proteínas víricas para ser exportadas del citosol al medio exterior. Las proteínas importantes en este proceso son la p17 y la gp41 (paso 6 – Fig.2). El proceso de la salida de viriones se realiza cuando el virión esta maduro y posee toda la maquinaría viral, sale hacia el exterior donde solo posee una vida media de 8-12 horas, pero gracias a la replicación de más o menos diez a la doce clones víricos que son renovados constantemente la diseminación es bastante amplia (paso 7 – Fig.2) (28).

Cabe recalcar que la transcriptasa inversa genera miles de mutaciones en el proceso (la tasa de error es de 1 por cada 2.000 pares de bases, lo que equivale aproximadamente a cinco errores por genoma); esto se produce por la ausencia de la 3' exonuxleasa (enzima que posee la ADN polimerasa de las células del huésped pero está ausente en la transcriptasa inversa) encargada de corregir los errores en la transcripción del ADN. Algunos estos errores pueden generar cambios que están relacionados con la disminución de la virulencia del virus, y otros promueven el aumento de la resistencia antirretroviral, hecho que podría explicar el por qué la respuesta inmune no puede controlar la infección adecuadamente, por qué la mayoría de tratamientos no tienen el efecto que se esperaba y por qué se generen nuevas cepas del virus durante la enfermedad en un mismo individuo (27-29,33).

El virus puede variar genotípica o fenotípicamente dando origen a las quasiespecies virales; se ha observado que en una misma persona es posible encontrar diferentes quasiespecies virales, proceso generado por la sobreinfección, ya que una persona infectada por el VIH puede infectarse nuevamente con otras quasiespecies virales provenientes de otras personas. Para que se produzca la recombinación entre dos cepas virales diferentes es necesario que los ARN virales sean compatibles para que la transcriptasa reversa pueda generar secuencias mosaico, al copiar parte de las dos cadenas de ARN viral en el momento de la replicación; este es otro de los mecanismos que puede explicar por qué el tratamiento antirretroviral no es efectivo ya que al producirse estas recombinaciones genéticas se transfieren la resistencia antirretroviral; adicionalmente, la respuesta inmune no es capaz de controlar la infección debido a que a pesar de que se sintetizan anticuerpos estos no son capaces de neutralizar al virus (16).

Conclusiones

El VIH es un virus con un alto grado de mutación y tiene un tropismo por las células $CD4^+$, principales células efectoras y cooperadoras que tiene el organismo, para montar la respuesta inmune adaptativa ante cualquier antígeno o molécula extraña. Estas son las principales razones por las que el sistema inmune se ve inhabilitado para reconocer el virus, cooperar en la generación de anticuerpos y neutralizar la infección.

A pesar de que el VIH es uno de los más estudiados a nivel molecular y que el sida es una de las enfermedades más investigadas en lo últimos años, no se ha logrado obtener un tratamiento efectivo. Por tal razón, actualmente se están diseñando estudios dirigidos a resolver las interrogantes que aun se tiene sobre la correlación VIH-sida, con el objeto de tener un mejor entendimiento de la enfermedad y por lo consiguiente, al desarrollo de campañas de prevención y tratamientos más eficaces.

El VIH-sida se ha convertido en uno de los temas más preocupantes para la salud pública tanto a nivel nacional como mundial, ya que esta patología representa una de las principales causas de morbi-mortalidad en toda la población, especialmente en la población económicamente activa y que además, genera altos costos en el ámbito de la salud. Aunque las campañas para la prevención de infecciones por VIH han mostrado un impacto positivo y se ha reportado una disminución en el número de muertes a causa del sida, este tipo de intervenciones no han sido lo suficientemente eficaces ya que se sigue observando un aumento en el número de casos.

La epidemia del VIH-sida ha venido evolucionando a través de la historia; se espera que con el entendimiento de la biología del virus, el conocimiento que se tiene de la enfermedad y de la dinámica epidemiológica de la pandemia, se puedan diseñar campañas preventivas más efectiva en las que se tenga en cuenta el área geográfica, las tendencias sexuales y los factores de riesgo de las diferentes poblaciones en el mundo.

Referencias

1. Homepage [http://cdc.gov]. Atlanta, Estados Unidos: cdc.gov; 20 de junio 2011 [Revisión; 25 de Mayo 2009]. First Report of AIDS. http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5021a1.htm
2. Homepage [http://cdc.gov]. Atlanta, Estados Unidos: cdc.gov; 20 de junio 2011 [Revisión; 25 de Mayo 2009]. Epidemiology of HIV/AIDS --- United States, 1981--2005. http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5521a2.htm
3. Henrard D, Phillips J, Muenz L, Blattner W, Wiesner D, Eyster M. Elaine, et al. Natural history of HIV-1 Cell-Free viremia. JAMA, 1995; 274(7):554-558.
4. Kurth Ann E, Holmes King K, Hawkins R, Golden M. A National Survey of Clinic Sexual Histories for Sexually Transmitted Infection and HIV Screening. Sex Transm Dis. 2005; 32 (6): 370–376.
5. Herman Sabdi Alfonso. El gran fiasco: el SIDA no es causado por el VIH. Barranquilla-Colombia: Prestigio editorial Colombia; 2000.
6. Giraldo R. Los Agentes Estresantes Inmunológicos son las Verdaderas Causas del sida. Revista de Medicinas Complementarias. 2007; 65:159-163.
7. Duesberg P. Commentary: non-hiv hypotheses must be studied more carefully. The British Medical Journal. 1996;312 (7025):210-211.
8. Duesberg P. Perth group commentary on the rethinking aids response to the Gallo et al criticism of Celia Farber in harpers. The British Medical Journal. 2003;326:495-49.
9. Duesberg P, Koehnlein C, Rasnick D. The chemical bases of the various AIDS epidemics: Recreational drugs, anti-viral chemotherapy and malnutrition. Indian Academy of Sciences. Journal of Biosciences.2003; 28 (4):383–412.
10. Duesberg P, Rasnick D. The AISD dilemma: Drug diseases blamed on a passenger virus. Genetica.1998; 104: 85-132.
11. León F. VIH y los virus de la imaginación humana. Bogotá: Celsus; 2001.
12. Braunwald E. Infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana y otros retrovirus del ser humano. En: Fauci AS, Braunwald E, Kasper, Hauser, Longo, Jamenson, Loscalzo. Harrison principios de medicina interna. 17 ed. México: Mc Graw Hill Interamericana. 2009; p.1132-1164.
13. Programa conjunto de las naciones unidas sobre el VIH/Sida (ONUSIDA) y Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe de la situación de la epidemia de sida. ONUSIDA/09.36S / JC1700S. 2009.
14. Restrepo A, Robledo J, Leiderman E, Restrepo M, Botero D, Bedoya V. Enfermedades Infecciosas. 6 ed. Medellín (Colombia): Ediciones corporación para investigaciones biológicas; 2003.
15. Kilmarx P. Global epidemiology of HIV. Current Opinion in HIV and AIDS. 2009; 4 (4):240–246.
16. Geretti A. HIV-1 subtypes: Epidemiology and significance for HIV management. Reprinted from Current Opinion in Infectious Diseases. 2006; 19(1):1–7.
17. Sajadi M, Constantine N, Mann D, Charurat M, Dadzan E, Kadlecik P, et al. Epidemiologic characteristics and natural history of HIV-1 natural viral suppressors. Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. 2009; 50(4):403-408.
18. Klimas N, Koneru A, Fletcher M. Overview of HIV. Psychosomatic Medicine. 2008; 70(5):523-530.
19. Piot P. On this world aids day in 2008/20 years after the first one/several milestones have been reached. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). 2008. Informe UNAIDS/08.36E / JC1648E.
20. Mohammad S, Neil C, Dean M, Manhattan C, Elham D, Peter K, et al. Epidemiologic Characteristics and Natural History of HIV-1 Natural Viral Suppressors. J Acquir Immune Defic Syndr. 2009; 50 (4): 403-408.
21. Bernel R, Luque R, Mcdouall J, Moreno A. Infección por VIH y sida en Colombia estado del arte 2000-2005. Bogotá, Colombia: Pro-offset editorial ltda; 2006.
22. ONUSIDA- Ministerio de Protección Social. Iniciativa Global "Hacia el Acceso Universal en Prevención, Tratamiento y Asistencia del VIH/sida". 2005, Colombia.
23. Resumen de situación de la epidemia por VIH/sida en Colombia [Homepage on the internet; http://minproteccionsocial.gov.co]. [Actualizado 2007 Dic 1; citado 2008 Oct 2008]. Disponible en: http://www.minproteccionsocial.gov.co/VBeContent/home.asp.
24. Buchbinder S. HIV Epidemiology, Testing Strategies, and Prevention Interventions. Topics in HIV Medicine. 2010; 18(2):38-44.
25. Homepage [http://elmundo.es]. Madrid, España: elmundo.es salud; 29 de agosto 2005 [Revisión;12 de Febrero 2008]. La vacuna contra el sida: una historia interminable [1]. http://www.elmundo.es/elmundosalud/2005/08/26/hepatitissida/1125076984.html.
26. Schmitt William, Miller Katie. Retrovirus. En: Murray P, Rosenthal K, Kobayashi G, Pfaller Michael. Microbiología Médica. 6ed. Barcelona, España: Elseiver. 2009; p. 627-336.
27. Champoux J, Lawrence D. Retrovirus, virus de la inmunodeficiencia humana y síndrome de inmunodeficiencia adquirida. En: Marchalonis John, Falkow Stanley, Sherris John. Microbiología Médica. 4 ed. Atlampa, México D.F: Mc Graw Hill interamericana. 2005; p. 661-678.
28. Ghalib A. The biology of CCR5 and CXCR4. Current Opinion in HIV and AIDS 2009; 4(2):96–103.
29. Burger H, Weiser B. Biology of HIV-1 in Women and Men. Clinical Obstetrics & Gynecology. 2001; 44(2):137-143.
30. Carrasco L. El virus del sida: un desafío pendiente. España: Editorial Hélice; 2004.
31. Homepage [http://ctv.es]. Madrid, España: Editor; Francisco Javier Pardo Serrano; septiembre 1998 [Revisión; 22 de Febrero 2008]. Los virus del SIDA [1]. http://www.ctv.es/USERS/fpardo/virus.htm.
32. Klinger D, María L, Garcia L , Tobar C , Avila G. Correlación inmunológica CD4 - CD8 y carga viral en la infección por VIH. En: V Congreso Colombiano de Enfermedades Infecciosas. Bogotá, Colombia: Infectio; 2001. 18.
33. Stevenson M. Advances in Basic Science. Topics in HIV Medicine. 2009; 18(2): 28-34.

PAPEL DEL GEN *TCIRG1* OSTEOPETROSIS Y PROPUESTA DE UN ENFOQUE TERAPÉUTICO ALTERNATIVO

Camilo Gómez[1], Nestor Caicedo[1*], Manuel Benítez[1], Daniel Franco[1*], José Mikán[2]*

Resumen

Tanto los componentes celulares como los componentes matriciales óseos intervienen en el mantenimiento de la homeostasis del hueso, participando en procesos como la remodelación ósea, en donde la resorción toma vital importancia en diversas funciones morfo-fisiológicas. Dichos procesos están bajo una regulación compleja a nivel endocrino, paracrino y autocrino, coordinados por mecanismos genéticos que sustentan la correcta funcionalidad de las proteínas intrínsecas de las diferentes células del tejido óseo, como el osteoclasto, principal actor de la resorción ósea. Debido al rol del osteoclasto, no es raro pensar que algunas mutaciones o alteraciones genéticas que modifican algún mecanismo de actividad osteoclástica, favorescan la aparición de la osteopetrosis, una enfermedad caracterizada por disminución en la resorción ósea y aumento secundario de la densidad ósea. Las alteraciones genéticas que explican este fenotipo son muy diversas, pero las mutaciones específicas del gen TCIRG1 (T cell inmuno regulator gene-1) tienen la tasa de incidencia más alta en comparación con otras formas de alteraciones genéticas, presentándose aproximadamente en un 50% de los diagnósticos de la enfermedad. Una de estas alteraciones, está dada por un cambio en el proceso normal de corte y empalme (splicing) dando como resultado una proteína ausente en la membrana apical del osteoclasto.

Palabras clave: Resorción ósea, V-H + ATPasa, empalme alternativo, osteopetrosis, recombinación genética

Abstract

Both cellular and bone matrix components are involved in maintaining bone homeostasis, participating in processes such as bone remodeling, where resorption takes a vital importance in various morpho-physiological functions. These processes are under complex regulation at endocrine, paracrine and autocrine level, coordinated by genetic mechanisms that underlie the proper functionality of different bone tissue cells' intrinsic proteins, cells such as the osteoclast, the principal element in bone resorption. Given the role of the osteoclast, it is not unwonted to think that some mutations or genetic alterations that modify some mechanism of osteoclast activity, favour the development of osteopetrosis, a disease characterised by decreased bone resorption and secondary increase in bone density. Genetic alterations that account for this phenotype are diverse, but specific gene mutations in TCIRG1 (T cell immune regulator gene-1) have the highest incidence rate compared to other forms of genetic alterations, accounting to approximately 50% of diagnoses for this disease. One of these changes is given by a change in the normal process of splicing, resulting in a missing protein that should be present in the apical membrane of the osteoclast.

Key words: Bone resorption, Vacuolar H+-ATPase, alternative splicing, osteopetrosis, genetic recombination

Introducción

El hueso es un tejido altamente especializado que junto con el cartílago hacen parte del sistema esquelético. El hueso tiene al menos tres funciones: mecánica, como soporte del aparato muscular para la locomoción; protección, como escudo para los órganos vitales y la medula ósea; y metabólica, como una fuente y reserva

[1] Estudiante V Semestre Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Docente Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada
* Correspondencia: kmilo88_88@hotmail.com nedacabu@hotmail.com, daniel-3191@hotmail.com. Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.

de iones (principalmente Ca^{++} y P^{5+}), de factores de crecimiento y algunas citocinas (1).

El hueso se compone de dos fases: orgánica e inorgánica. La fase orgánica corresponde en un 90% a moléculas de colágeno tipo I que están construidas por hélices triples orientadas como fibras, proporcionando una fuerza de tensión máxima. También hacen parte de esta fase aproximadamente un 10% de proteínas no colágenas. Entre ellas se encuentran macromoléculas de proteoglicanos, que contribuyen a que el tejido óseo ofrezca resistencia a la compresión y glicoproteínas multiadhesivas que actúan en la adhesión de las células óseas y las fibras colágenas a la matriz inorgánica (sustancia fundamental mineralizada). Estas glicoproteínas incluyen a la osteonectina que actúa como adhesivo entre el colágeno y los cristales de hidroxiapatita, y sialoproteinas como la osteopontina, que media la adhesión de las células a la matriz ósea.

Así mismo encontramos proteínas dependientes de la vitamina K osteoespecíficas, que incluyen la proteína S, la proteína Gla Matricial (MGP) y la osteocalcina. Esta última es una proteína estructural cuyo papel principal es la captura el calcio desde la circulación y la atracción y estimulación de los osteoclastos durante el proceso de remodelado óseo. También están presentes en la fase orgánica factores de crecimiento y citocinas, como el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), el factor de necrosis tumoral α (TNF-α), el factor de crecimiento transformante β (TGF-β), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), las proteínas morfogénicas óseas y las interleucinas 1 y 6 (IL-1, IL-6). Por otra parte, la fase inorgánica del hueso, que provee la rigidez y la resistencia a la carga requerida para la fuerza, está compuesto por calcio y fosfato, presentes principalmente como hidroxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$], con otros elementos "contaminantes" tales como carbonato, fluoruro, sodio, etc, los cuales forman cristales solubles y por lo tanto, compatibles con la función de reserva del hueso (1,2).

El sistema óseo se ve afectado por múltiples y diversas patologías, dentro de las cuales se encuentra la osteopetrosis, enfermedad producida por disfunción osteoclástica, con un patrón de herencia autosómico dominante o autosómico recesivo y clínicamente caracterizada por un aumento en la densidad ósea, mayor susceptibilidad a fracturas, baja estatura, anemia, trastornos electrolíticos, daño hepático, daño renal y afecciones de los pares craneales. La fisiopatología de esta entidad se explica por múltiples alteraciones genéticas en uno o varios de los 73 posibles sitios de mutación, localizados a lo largo de diferentes genes humanos. Una de estas alteraciones ocurre en el gen tcirg1 (T Cell Inmunoregulator Gene 1) localizado en 11q13.2, y que codifica para la subunidad A3 de la bomba de protones ATP dependiente de tipo vacuolar (V - H^+ ATPasa) osteoclástica. Esta bomba es fundamental en el proceso de resorción ósea y se ve alterada aproximadamente en el 50% de los pacientes con diagnóstico confirmado de osteopetrosis autosómica recesiva (ARO). La mutación que modifica el sitio de corte y empalme (splicing) del mRNA de la subunidad A3, conlleva a la expresión fenotípica de la enfermedad. A parte del trasplante de médula ósea (tratamiento actual), la terapia génica podría constituirse en un posible tratamiento alternativo para la enfermedad, pues propone acción directa sobre la mutación responsable de la misma (3-5,18).

Remodelado óseo

La remodelación ósea es un proceso necesario para el crecimiento y mantenimiento de la calidad y la fuerza de los huesos, así como en la homeostasis del calcio. Hay dos tipos de remodelación, los cuales tienen funciones distintas: el primer tipo corresponde a la remodelación estocástica, en donde se busca mantener la homeostasis del calcio bajo control hormonal. El segundo tipo se refiere a un proceso dirigido al mantenimiento de la integridad del esqueleto, y es un proceso fisiológico que siempre va seguido de formación ósea. Por lo tanto, se entiende que el proceso de remodelación ocurre en ciclos de resorción y formación ósea, mediados por los osteoclastos (provenientes del linaje hematopoyético) y los osteoblastos respectivamente, recibiendo el nombre de "ciclo de acoplamiento" (1, 6-8).

Para un desarrollo normal de la resorción ósea es indispensable que el proceso de diferenciación osteoclástica ocurra de manera eficaz. La osteoclastogénesis está controlada por dos citocinas fundamentales: el factor estimulador de colonias de macrófagos (M-SCF) y el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa beta (RANKL). Ambas citocinas son necesarias para inducir la expresión de algunos genes que codifican para proteínas específicas de los osteoclastos como la catepsina k, el receptor para calcitonina y la fosfatasa acida resistente al tartrato (TRAPC). Otra proteína que regula el número y la actividad de los osteoclastos es la osteoprotegerina (OSPG), que es un receptor soluble para el RANKL (1,9).

Después de su diferenciación, los osteoclastos son capaces de adherirse a la matriz ósea por medio de podosomas, que contienen filamentos actínicos y la integrina αvβ3. Estas moléculas se asocian con la osteopontina y la

vitronectina expresadas en la matriz ósea, formando una zona de sellado (sealing zone) para la adherencia, también llamada la zona clara (clear zone), rica en filamentos de actina pero deficiente de orgánulos, lo que permite una adecuada diferenciación y adhesión al material óseo. Posterior a esto el osteoclasto debe sufrir una polarización en respuesta al RANKL, creando así dos dominios diferentes como resultado de cambios citoesqueléticos: uno basolateral y otro apical. Este último está representado por el borde fenestrado (ruffled border), que junto con la zona de sellado, forman la laguna de resorción, sitio en donde la actividad osteoclástica tiene lugar (10,11).

Para el proceso de resorción ósea se necesita un ambiente ácido, donde la alta concentración de hidrogeniones permite la actividad óptima de enzimas hidrolíticas y la solubilidad de las proteínas y los componentes inorgánicos de la matriz ósea. Para ello la anhidrasa carbónica, localizada en el citoplasma del osteoclasto, cataliza la hidratación del CO_2 formando ácido carbónico (H_2CO_3), el cual al disociarse sirve como fuente de protones (H^+) y de bicarbonato (HCO_3). Los protones así generados en el citoplasma son expulsados a la laguna, promoviendo la acidificación del medio. Estos iones son exportados a través de la bomba V-H^+ ATPasa, mientras que el HCO_3 es expulsado por medio de un contratransportador acoplado a cloro en la membrana basolateral, evitando la subida del pH del citoplasma. De igual manera, un transportador simple de cloro (ClC-7), transporta este ión hacia la laguna, contribuyendo a la formación de ácido y la degradación de la matriz inorgánica. Los valores bajos de pH obtenidos activan la secreción y función de la catepsina K, una proteasa que ejerce su acción a un pH de 4,5, promoviendo la ruptura de las fibras del colágeno de la matriz orgánica del hueso. Se ha demostrado también el papel de las metaloproteinasas en este proceso, pero no se conoce el mecanismo exacto de su actividad. El material resorbido es removido por transcitosis y luego el osteoclasto puede fijarse en otro punto del hueso para continuar su actividad o sufrir un proceso de apoptosis (1,9-11).

El papel del osteoblasto en la remodelación ósea

Los osteoblastos son reguladores positivos del proceso de osteoclastogénesis, debido a que liberan citocinas de acción positiva en los precursores de osteoclastos (RANKL, M-CSF). Estas células provienen de una línea diferente a la de los osteoclastos, derivando de una célula madre mesenquimal (MSC), que por influencia e interacción de varias citocinas y hormonas, como las proteínas morfogénicas del hueso (BMPs), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGFs), la vía Wnt y la hormona paratiroidea (PTH), se diferencian a pre-osteoblastos y finalmente a osteoblastos maduros, capaces de sintetizar la matriz ósea (1,10,11).

El acople de los osteoblastos con el proceso de resorción ósea, está representado por el reclutamiento de los precursores osteoclásticos en respuesta a un eje quimio atrayente constituído por quimiocinas liberadas por estas células. Luego los precursores osteoclásticos son capaces de unirse a las células de recubrimiento óseo, por interacciones celulares mediadas por ICAM-1 y VLA, seguido de la unión entre el ligando RANK y su receptor. Este acontecimiento da lugar a que el precursor empiece a diferenciarse, expresando receptores para la calcitonina y la vitronectina. Subsecuentemente las células de recubrimiento óseo (osteoblastos) permiten una exposición de la superficie ósea a la cual los precursores osteoclásticos migran y una vez adheridos, completan su maduración y fusión formando sincitios o células polinucleadas. Por otro lado, el proceso de formación ósea a lo largo de las espículas en el hueso trabecular, solo se lleva a cabo en sitios en donde ya hubo resorción por parte de los osteoclastos; lo que sugiere que los dos procesos se encuentran acoplados espacialmente (figura 1) (11,12).

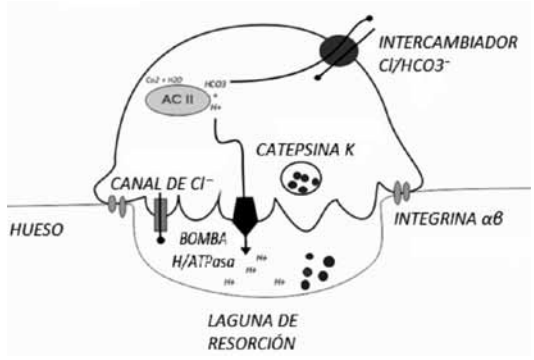

***Figura 1**. Remodelado óseo: La unión del osteoclasto al hueso esta mediada por podosomas ricos en filamentos de actina e integrina αvβ3. Para generar la acidificación de la laguna de resorción y empezar el proceso de desmineralización de la matriz ósea, la anhidrasa carbónica II genera un protón y un bicarbonato a partir de CO_2 y agua. El protón se transporta activamente a través de la membrana fenestrada por medio de una V-H^+ ATPasa. Un canal de cloro acoplado a la bomba de protones facilita el balance de carga de iones a través de la membrana. Finalmente el exceso de bicarbonato es removido de la célula, a través de la membrana basolateral por un intercambio pasivo con iones cloruro. La matriz orgánica es removida por acción de la catepsina K que juega un papel importante en la resorción (Modificado de Tolar J, 2004).*

Corte y empalme (*splicing*)

Para la síntesis de proteínas, los genes necesitan ser transcritos a partir de una hebra molde de ADN, proceso realizado por una ARN polimerasa dependiente de

ADN, dando como resultado un pre-mRNA que debe convertirse en mARN maduro. Esta molécula sale del núcleo y es traducido por los ribosomas en el citoplasma, para dar lugar a una proteína determinada. La superficie ósea a la cual los precursores osteoclásticos migran y una vez adheridos, completan su maduración y fusión formando sincitios o células polinucleadas. Por otro lado, el proceso de formación ósea a lo largo de las espículas en el hueso trabecular, solo se lleva a cabo en sitios en donde ya hubo resorción por parte de los osteoclastos; lo que sugiere que los dos procesos se encuentran acoplados espacialmente (figura 1) (11,12).

La maduración del mRNA necesita la 7-metilguanilación en el extremo 5´, que consiste en la adición de un nucleótido modificado de guanina (7-metilguanosina), para formar una estructura denominada caperuza o casquete (CAP) de la cadena de pre-mRNA (ubicada aun en el núcleo celular), mediante un enlace 5' fosfato-5' fosfato en lugar del habitual 3',5'fosfodiester. Este proceso es importante para la estabilidad del mRNA y crítico para el reconocimiento y acceso apropiado al ribosoma. Luego se lleva a cabo la adición al extremo 3', de un segmento de ARN cuyas bases son todas adenina (cola poli-A). Este proceso es mediado por una secuencia señal de poliadenilacion (AAUAAA), situada unos 20-30 nucleótidos antes del extremo 3' original y que es reconocida por la poli-A polimerasa. Esta cola protege el mARN de la degradación por endonucleasas, aumentando su vida media en el citosol para una síntesis proteica íntegra (13,14).

Por último se realiza el corte y empalme (*splicing*) que determina las secuencias que serán traducidas y por tanto el número y la distribución de los aminoácidos de una proteína, por medio de la exclusión de intrones y el empalme de exones del pre-mARN, lo cual tiene repercusiones en la función específica de las proteínas. El *splicing* es llevado a cabo por el spliceosoma, una gran estructura conformada por las proteínas *snRNPs* (*small nuclear ribonucleoproteins*) con actividad ribozima (corte y empalme) y ARNs pequeños que van a reconocer por complementariedad los sitios donde el complejo se une al mARN en los intrones. Estos se denominan sitios de corte 5´(GU) y 3´(AG), determinadados por la secuencia no codificante (UTR: *untranslated region*) que se encuentra entre el promotor y el inicio del gen, la cual establece el marco de lectura para el spliceosoma. Los exones deben unirse entre sí de manera covalente para dar lugar al mARN maduro. Por lo general, los intrones se presentan en la forma de miles de nucleótidos y a menudo contienen segmentos internos GU o AG denominados sitios alternativos de *splicing* o sitios crípticos (figura 2), los cuales pueden ser reconocidos diferencialmente, dependiendo de la información en el transcrito primario y en el spliceosoma, obteniéndose así una isoforma proteica determinada (13-15).

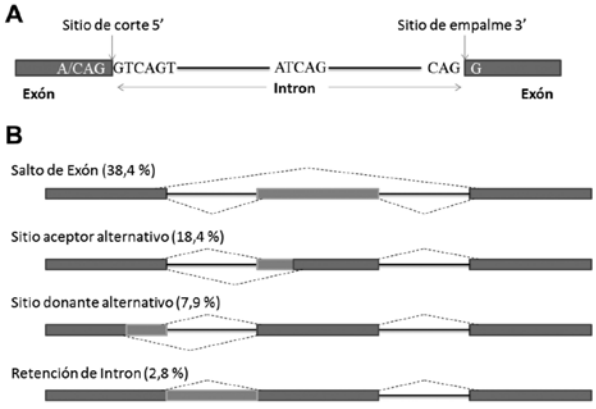

***Figura 2**. Tipos de splicing alternativo. A. Secuencia esquematica de Intrón y Exones donde se encuentran los sitios de splicing 5´ y 3´. B. Clases de splicing alternativo; Exclusión de Exon, selección de sitio aceptor alternativo, selección de sitio donante alternativo y retención de intrón (Modificado de Lazo, 1996).*

Otras señales que permiten a la maquinaria de *splicing* distinguir entre exones e intrones son las secuencias específicas llamadas promotoras del *splicing* exónico (ESE: *exonic splicing enhancer*), que se encuentran situadas dentro de los exones; así los cambios en la secuencia del ADN en el sitio de *splicing* o en un ESE pueden llevar a la inclusión de un intrón o la exclusión de un exón. Es importante que el proceso ocurra con exactitud, debido a que la adición o pérdida de un solo nucleótido en cualquiera de las uniones de *splicing*, puede causar que el mARN maduro se traduzca de modo erróneo. Se estima que más del 15% de las enfermedades humanas hereditarias se debe a mutaciones que alteran el *splicing* del pre-mARN (13-15).

Existen isoformas proteicas provenientes de un mismo gen con localizaciones y funciones citoespecíficas. Las diferencias estructurales de estas isoformas están determinadas por el proceso de corte y empalme alternativo que sufre el transcrito del gen, en donde el spliceosoma reconoce diferentes sitios de corte y empalme dando lugar a la especificidad funcional de cada proteína. Al menos la tercera parte de todos los genes humanos presenta un corte y empalme alternativo, y se ha estimado que cada uno de los genes del genoma humano muestra un promedio de dos a tres transcritos alternativos, lo que

amplia de manera importante la información contenida en el genoma humano (16,17).

Terapia génica

Actualmente la información genética de una célula es modificable por medio de la introducción de genes no mutados para que sustituyan a los genes defectuosos o ausentes en la célula blanco. La terapia génica se puede definir como el conjunto de técnicas que permiten introducir secuencias de ADN o de ARN al interior de la célula blanco con el objeto de modular la expresión de determinadas proteínas que se encuentran alteradas, revirtiendo así el trastorno biológico producido; por tal razón se emplea en el tratamiento de diferentes enfermedades genéticas, infecciosas, congénitas o malignas (18-20).

La introducción del gen se puede realizar *in vivo*, inyectando el vector de manera directa al paciente; o *exvivo*, extrayendo las células del paciente, separando las células blanco, cultivándolas y sometiéndolas a proceso de transfección in vitro. Una vez que se han seleccionado las células que han sido efectivamente transfectadas, se expanden en cultivo y se introducen de nuevo en el paciente. Sus principales ventajas son el permitir la elección del tipo de célula a tratar, mantener un estrecho control sobre todo el proceso, y la mayor eficacia de la transducción genética. Los problemas más importantes de esta modalidad son la mayor complejidad y costo de los protocolos, así como la imposibilidad de transfectar aquellos tejidos que no son susceptibles de crecer en cultivo; además, existe siempre el riesgo de contaminación, problema inherente a la manipulación de las células (18,19,21).

A pesar de la relativa sencillez de la técnica *in vivo*, su eficacia es menor respecto a la técnica *in vitro*, debido a que en esta última el grado de control sobre el cultivo celular es mayor, ya que permite la identificación de las células que han sido transfectadas, su adecuada manipulación y su posterior amplificación. Para la terapia génica se han utilizado diferentes técnicas de transfección (introducción de ácidos nucleicos dentro de las células eucarióticas) y vectores virales (transducción). Los métodos físicos y químicos de transfección desarrollados están en la tabla 1 (18,19, 21,22).

***Tabla 1**. Métodos físicos y químicos de transfección celular (transferencia génica).*

Microinyección,
Precipitación con fosfato cálcico
Electroporación
Bombardeo con microproyectiles
Inyección directa de ADN "desnudo"
Fusión de protoplastos
Fotoporación laser-asistido
Método con DEAE dextrano
Conjugados ADN-proteínas, Conjugados ADN-adenovirus
Método de Lipofección (Liposomas)

(Modificado de Pedro A. Lazo, 1996).

Los vectores virales se obtienen por eliminación de uno o más genes indispensables para la replicación del virus y su sustitución por el gen terapéutico. De esta forma, el nuevo virus mantiene la capacidad de infectar las células pero no es capaz de multiplicarse en ellas; es decir, un virus puede ser transformado estructuralmente mediante diversas técnicas moleculares, generando un vector recombinante relativamente seguro, siempre y cuando se sustituya los genes responsables de su replicación y virulencia por los genes terapéuticos, manteniendo su capacidad infectiva intacta (19, 20).

Osteopetrosis autosómica recesiva infantil maligna

La osteopetrosis autosómica recesiva maligna infantil es un desorden osteoclástico poco común pero muy severo, que tiene una incidencia de 1:200000 a 1:300000. Esta condición se diagnostica comúnmente después del nacimiento o dentro de los primeros cinco años de vida. Para que se presente este fenotipo debe haber daños en las proteínas de vital importancia en la resorción ósea, como lo son el ClC-7, la proteína OSTM-1, el factor RANKL, el receptor RANK y la bomba V-H^+ ATPasa (1, 17).

Osteopetrosis asociada a proteína transmembrana-1 (OSTM-1).

El gen que codifica para OSTM-1 está ubicado en la posición 6q21 (MIM *607649) y codifica una proteína que conforma la subunidad β del canal de cloro ClC-7. Esta subunidad tiene un dominio transmembranal y otro dominio extracelular glicosilado, ubicada en endosomas primarios dentro del osteoclasto; la interacción entre el

canal de cloro y OSTM-1 es de vital importancia debido a que le da estabilidad al canal, lo que hace pensar que una mutación en la expresión de la proteína OSTM-1 alteraría la función osteoclástica. Dentro de las posibles mutaciones podemos encontrar una transición de guanina por adenina en la posición 105.801 ocasionando un defecto en el sitio de sílice, o una inserción de una guanina en la posición 105688 modificando la traducción por un error en el marco de lectura (1, 17, 23).

Canal de cloro 7 (ClC-7)

EL gen ubicado en 16p.13 (MIM *602727) codifica la proteína transmembrana ClC-7 (cloro channel-7), la cual es un contransportador de H^+/Cl^- voltaje-dependiente, que se localiza en los endosomas primarios junto con la OSTM-1, mencionada anteriormente. Estas dos proteínas salen a la membrana rugosa del osteoclasto y allí se encargan junto con la bomba V-H^+ ATPasa, de degradar la matriz inorgánica del hueso. Entre las mutaciones posibles en el gen ClC-7 que producen una alteración funcional del canal del cloro están una mutación por transición y como consecuencia la timina en la posición 23373 que se cambia por citocina, ocasionando así la sustitución en el aminoácido 641 (leucina por prolina), que conlleva a la alteración de la estructura proteica que la hace una proteína disfuncional. Por otro lado se puede generar un error en el marco de lectura, causado por una deleción entre el par de bases número 1485 al 1565 (1,17,23).

Deficiencia de RANKL

El RANKL, también llamado ligando de osteoprotegerina (OPGL) o factor 11 de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNFFS11), es codificado por el gen del mismo nombre, el cual está localizado en 13q14 (MIM ID *602642). Como resultado del *splicing* alternativo, este gen puede codificar para tres isoformas, de las cuales dos son glicoproteínas transmembranales; la tercera isoforma no tiene dominios transmembranal, es una proteína soluble y es el ligando (RANKL). La expresión de RANKL esta mediada por la estimulación de varias citoquinas tales como IL-1, IL-11, TNF-α y diferentes hormonas encargadas de la homeostasis del calcio como la paratohormona (PTH), la 1,25 dihidroxivitamina D3 (1.25 D3) y prostanglandina E2. El RANKL es secretado por el osteoblasto y es un importante regulador de la función osteoclástica, y cuando se une a su receptor RANK (receptor activador del factor nuclear kappa beta), generan una cascada de señalización mediada por NFκβ razón. Las mutaciones del gen RANKL pueden causar Osteopetrosis (24).

Deficiencia de RANK

El receptor RANK en el osteoclasto, al unirse a RANKL genera una cascada de señalización mediada por las proteínas denominadas TRAF (TNF *receptor associated factors*) en especial las TRAF 2, TRAF 5 y TRAF 6, las cuales están involucradas en la resorción ósea. De éstas, la proteína TRAF 6 está particularmente implicada en la diferenciación osteoclástica. El proceso de señalización continúa por medio de NFκβ, JNK y Scr. Las mutaciones en este gen condicionan la aparición de un tipo de Osteopetrosis específica (enfermedad de Paget) (24).

Subunidad A3 de la bomba V-ATPasa.

La subunidad A3 de la bomba V-H^+ ATPasa está codificada por el gen TCIRG1 ubicado en la posición 11q13.2 (MIM *604592). El transcrito primario de este gen por acción del *splicing* alternativo da como resultado dos isoformas (ver fig.3). La expresión de cada transcrito está determinada por la célula en que se encuentre y es regulada por las UTR anteriormente mencionadas. La primera isoforma está ubicada en la membrana del linfocito T, se denomina TIRC-1 y allí se encarga de servir como receptor del HLA y es activador del linfocito. La segunda isoforma es la subunidad A3 del osteoclasto OC-116, que hace parte de una proteína poligénica (bomba V-H^+ ATPasa), con un extremo carboxilo terminal conformado por siete dominios transmembranales. La subunidad A3 de la bomba es de vital importancia en la función de esta y por consiguiente en la del osteoclasto, ya que ancla el complejo proteico a su membrana, dándole estabilidad a la bomba, la cual junto con el canal de cloro, se encargan de la acidificación de la laguna de resorción ósea (1, 25).

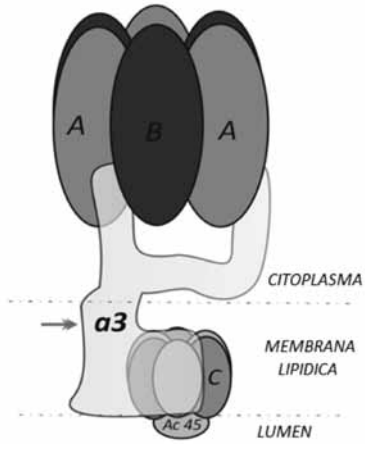

***Figura 3**. Esquema de la mayor parte del complejo multiproteico de la V-H^+ATPasa, donde se evidencia la ubicación de la subunidad A3 y su imprescindible función de anclaje y de unión entre los dominios de membrana de la proteína (Modificado de Karnet et al. 2008).*

Defecto en el *splicing* por mutación en el TCIRG-1

La mutación de TCIRG-1 afecta únicamente la expresión de la proteína en el osteoclasto, ya que como se mencionó anteriormente, los sitios de corte y empalme del *splicing* son distintos en el linfocito. El mecanismo molecular de la alteración de la subunidad A3 de V–ATPasa reside en el cambio de una guanina (G) por una citocina (C); esta mutación por transversión (cambio purina por pirimidina) ocurre en el sitio de empalme dentro del intrón, cambiando la secuencia GU (normal) por CU, generándose una falla en el reconocimiento del sitio por parte del spliceosoma, el cual se mueve a lo largo de la hebra de mRNA hasta hallar otra secuencia de corte normal (GU) dentro del intrón, denominado sitio alternativo de *splicing* (*criptic splice site*) (figura 4) que normalmente no sería tomado en cuenta; allí el spliceosoma generaría la adición de varios pares de bases al transcrito maduro, que pertenecen a un intrón determinado. En este caso la secuencia adicionada puede presentar un codón de parada (codón *stop*): UGG, UGA, UAA o UAG, conduciendo a una parada prematura en la traducción de la proteína (26,27).

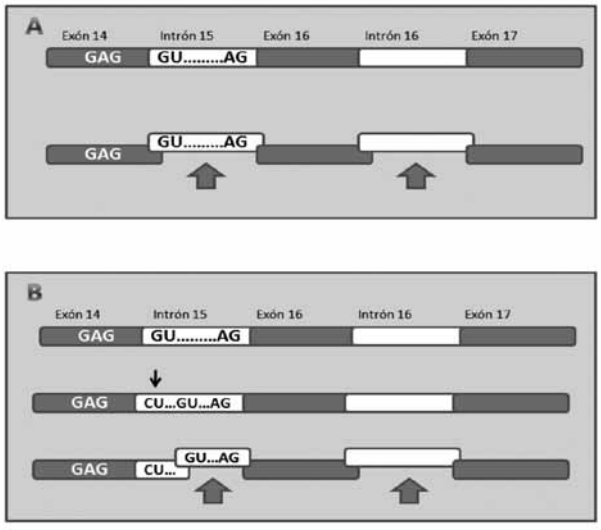

***Figura 4**. A. Corte y empalme normal. B. Mutación en el sitio de empalme: la secuencia GU es remplazada por CU, esto genera un corte incorrecto de un sitio de splicing alternativo (criptic splice site) lo que deja una parte del intrón en el transcrito maduro de mRNA (Modificado de Jorde Bamshad, Genética Médica).*

Cuando se altera la subunidad A3 del complejo multiproteico de la V-H^+ ATPasa, se desactiva el anclaje del complejo y por ende no se localiza en el borde fenestrado del osteoclasto, se genera un cambio en el pH, perdiendo la capacidad de acidificación en la laguna de resorción y lo que ocasiona la disminución o ausencia de la resorción ósea, conduciendo a la aparición de los síntomas clínicos de la osteopetrosis (1,26,27).

Características clínicas

La osteopetrosis autosómica recesiva (ARO) es una condición que se manifiesta en los primeros meses de vida, ocasionando un incremento en la densidad ósea. Los niños con ARO están en riesgo de desarrollar hipocalcemia acompañada de temblores tetánicos e hipoparatiroidismo secundario. El incremento de la densidad de la médula ósea puede paradójicamente debilitar el hueso, predisponiendo así al paciente a sufrir fracturas y osteomielitis. De igual forma, el crecimiento longitudinal del hueso se encuentra afectado, presentándose baja estatura de varios grados y protrusión del hueso frontal. Los cambios en el cráneo pueden resultar en estenosis de las coanas e hidrocefalia. El hueso hiperdenso puede reducir la luz de los forámenes nerviosos y comprimir los nervios generando ceguera, sordera y parálisis facial. La pérdida de audición afecta cerca del 78% de los individuos con ARO. La complicación más severa de ARO es la supresión de la medula ósea, pues la expansión ósea anormal interfiere con la hematopoyesis medular, produciéndose pancitopenia y extensión de la hematopoyesis a sitios extramedulares como el hígado y el bazo generando hepatoesplenomegalia (3).

Diagnóstico y tratamiento convencional

El diagnóstico es clínico y depende de la apariencia radiológica del esqueleto. Las características radiológicas clásicas comprenden:

- Esclerosis difusa que afecta el cráneo, la columna, la pelvis y los huesos apendiculares.
- Defectos en el remodelamiento óseo a nivel metafisiario a lo largo de los huesos con apariencia de embudo y bandas lucidas características.
- Apariencia característica de hueso entre hueso, particularmente en las vertebras y falanges.

En ausencia de los hallazgos radiológicos típicos, las concentraciones elevadas de la isoenzima creatinin quinasa BB y de la fosfatasa ácida resistente a tartrato TRAF, son hallazgos que facilitan el diagnóstico de la enfermedad (3, 10).

El trasplante alogénico de médula ósea de injertos con antígeno leucocitario humano (HLA) idéntico ha dado resultado en algunos niños. Después del trasplante, en la

médula se observan células progenitoras y osteoclastos de función normal. La curación es más factible cuando los niños se someten al trasplante antes de los cuatro años de edad. El trasplante medular de donadores de HLA equiparable no idénticos tiene una frecuencia de fracaso mucho más alta. Estudios limitados en pequeños números de pacientes han sugerido beneficios variables después del tratamiento con IFN-γ1β, 25-dihidroxivitamina D (que estimula directamente a los osteoclastos), metilprednisolona y una dieta baja en calcio y rica en fosfato. La intervención quirúrgica está indicada para liberar la compresión de los nervios óptico o auditivo. Es necesaria la atención ortopédica para el tratamiento quirúrgico de las fracturas y sus complicaciones, que incluyen pseudoartrosis y deformidad consecutiva a la fractura (3,10).

Propuesta de un nuevo enfoque terapéutico

En esta revisión se propone un enfoque terapéutico alternativo en ARO, que permitiría la corrección molecular de diferentes mutaciones, incluida la del TCIRG1 anteriormente expuesta. El proceso consistiría en:

1. La extracción de las células madre hematopoyéticas (HSCs) del paciente, por medio de aspiración de medula ósea. El empleo de estas células presenta varias ventajas como lo son: su fácil extracción, su posible manipulación y facilidad de cultivo *in vitro*, su alta capacidad replicativa, su capacidad de diferenciación en un fenotipo especializado y al ser un trasplante de tipo alogénico se evitaría un posible rechazo inmunológico. Es importante tener en cuenta que en los pacientes que padecen ARO, podría haber dificultad en la aplicación del procedimiento ya que la densidad ósea aumentada disminuye la disponibilidad de componentes medulares incluyendo las HSCs por falta de espacio para la proliferación de los mismos.

2. Modificación *ex-vivo* de las HSCs. Luego de obtener el cultivo de HSCs, estas se pueden someter a modificación por medio terapia génica, esta se basa en la adición, atenuación o modificación de la secuencia genética alterada. Actualmente los estudios con retrovirus como retrovirus de raton Monoley o lentivirus, ya que estos han demostrado gran eficacia en desordenes monogénicos y a diferencia de los demás vectores virales, pueden permanecer en el genoma de la célula sin ser rechazados. Dentro del vector estaría la secuencia correcta del gen TCIRG-1 (28).

3. Reimplantación de HSCs modificadas. Luego del proceso de modificación génica las HCSs se seleccionan para ser implantadas nuevamente al paciente. Consideramos que la reimplantación sea realizada en diferentes lugares del sistema óseo, sitios que deben cumplir la característica de tener una densidad ósea lo más baja posible y que no invada significativamente la medula y presumiendo que en estas áreas las HCSs tendrían más espacio en donde replicarse, mayor cantidad de factores y nutrientes; dichos sitios podrían ser determinados por medio de una densitómetro, la cual nos mostraría dichos sitios.
4. Control y vigilancia del paciente. Después del procedimiento de reimplantación se recomienda un seguimiento periódico por medio de exámenes paraclínicos (laboratorio, histológicos y rayos-X) con el fin de detectar cualquier efectos adversos de la terapia génica, tales como la inducción neoplasias, ya que existe la posibilidad de que ocurra una inserción del material genético de los retrovirus en sitios que promuevan la activación de oncogenes. La evaluación de la eficacia del tratamiento se hace con el seguimiento del paciente y con la observación de una evolución hacia el fenotipo normal.

Si los resultados observados son satisfactorios, se podría pensar en este tratamiento como primera opción terapéutica para la Osteopetrosis autosómica recesiva maligna infantil (IMO).

Referencias

1. Segovia-Silvestre T, Neutzsky-Wulff V, Sorensen G, Christiansen C, Bollerslev J, Karsdal M, Henriksen K. Advances in osteoclast biology resulting from the study of osteopetrotic mutation. Hum Genet. 2009; 124:561–577.
2. Tejido óseo; Michael H. Ross., Kaye G., Pawlina W. Histología: texto y atlas a color con biología celular y molecular. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2005.
3. Zornitza S, Ravi S. Osteopetrosis. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2009; 4:1-12.
4. Elena A, Svetlana M, Rena A, Anna V, Ekaterina N, Alexander G, et al. Genetic analysis of autosomal recessive Osteopetrosis in Chuvashiya: the unique splice site mutation in TCIRG1 gene spread by the founder effect. European Journal of Human Genetics. 2009; 17:664-672.
5. National Center for Biotechnology Information. Map viewer; Osteopetrosis [Internet]. c2009 [Actualización 2011 abril; citado 2010 noviembre 13]. Available from: http://ww.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606&query=Ostopetrosis.
6. Eurgene J. Barrett, Paula Barrett; The parathyroid glands and vitamin D; Boron Walter, Boulpaep Emile. Medical Physiology: a cellular and molecular approach. Segunda edición. Canada: Saunders Elsevier; 2009.

7. Martin T, Sims A. Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to Resorption. Trends in Molecular Medicine. 2005; 11:76-81.BURR D. Targeted and Nontargeted Remodeling. Bone. 2002; 30:2–4.
8. Mikán J, Oliveros W. Osteoclastogénesis y enfermedades óseas. Revista Med. 2007; 15:261-270.
9. Tolar J, Teitelbaum S, Orchard P. Mechanisms of disease Osteopetrosis. N Engl J Med. 2004; 351:2839-49.
10. Rucci N. Molecular biology of bone remodelling. Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism. 2008; 5:49-56.
11. Everts V, Vries T, Helfrich M. Osteoclast heterogeneity: Lessons from osteopetrosis and inflammatory conditions. Biochimica et Biophysica Acta. 2009;1792:757–765.
12. Expresión del material genético: de la transcripción a la traducción; Karp Gerald. Biología celular y molecular: conceptos y experimentos. Quinta edición. Mexico: editorial McGraw-Hill Interamericana; 2009.
13. Nussboum RL. Genética en medicina Thompson & Thompson. 2008, séptima edición, editorial ElSevier.
14. Eddo K, Goren A, and Gil A. Alternative splicing: current perspectives. Wiley Periodicals. 2008; 30:38–47.
15. Chen M, Manley J. Mechanisms of alternative splicing regulation: insights from molecular and genomics approaches. Nat Rev Mol Cell Biol. 2009; 10(11): 741–754.
16. Mazzolari E, Forino C, Razza A, Porta F, Villa A, Notarangelo LD. A single-center experience in 20 patients with infantile malignant Osteopetrosis. American Journal of Hematology. 2009.
17. Katherine A. High, Terapia Génica en Medicina Clínica; Anthony S. Fauci, MD, Eugene Braunwald, MD, Dennis L.Kasper, MD, Sthepen L.Hauser, MD, Dan L.Longo, MD, J.Larry Jameson, MD, PhD, et al. Harrison. Principios de Medicina Interna. decimoseptima edición. México: McGraw Hill Interamericana; 2009.
18. Pedro A. Lazo. Terapia génica humana: tendencias y problemas. Med Clín. España. 1996; 106:469-476.
19. National Center for Biotechnology Information. MESH Database; Gene Therapy. c2009 [Actualización 2011 abril; citado 2010 noviembre 13]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?term=gene%20therapy.
20. Mei LT. Peter FM. Choong D. Crispin RD. Osteosarcoma. Conventional treatment vs. gene therapy. Cancer Biology & Therapy 8:2, 106-117; 15 January 2009.
21. Harry C. Dietz MD. New Therapeutic Approaches to Mendelian Disorders. N Engl J Med 2010;363:852-63.
22. Philipp F, Lena W, Thomas J. ClC-7 requires Ostm1 as a b-subunit to support bone resorption and lysosomal function. Nature. 2006; 240:220-223.
23. Wright H, McCarthy S, J. Middleton J, Marshall MJ. RANK, RANKL and osteoprotegerin in bone biology and disease. Curr Rev Musculoskelet Med .2009; 2:56–64.
24. Chayarop S, Uwe K. Ion channels and transporters in osteoclasts. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2008; 473:161–165.
25. Neighboring-nucleotide effercts on the rate of germline single base-pair substitutions in human genes; Cooper D. Human gene evolution, Editorial human molecular genetics. Canada, 1999.
26. Biologia celular básica; estructura y función de los genes y de los cormosomas; Jorde LB. Genética Médica. Tercera edición, editorial elsevier, España, 2004.
27. Driessen, G.J., Gerritsen, E.J., Fischer, A., et al. Long-term outcome of haematopoietic stem cell transplantation in autosomal recessive osteopetrosis: an EBMT report. Bone Marrow Transplantation, 2003, 32, 657–663.
28. Kay, M.A. State-of-the-art gene-based therapies: the road ahead. Nat Rev Genet, 2011, 12(5):316-28.

ETIOLOGÍA, ASPECTOS CLÍNICOS Y TRATAMIENTO DE LA DERMATITIS ATÓPICA. REVISIÓN

Nataly González[1] y Piedad Almario[2]*

Resumen

La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel con alta frecuencia de presentación, de distribución mundial que afecta principalmente a la población infantil. Dada la importancia de esta entidad, en este artículo se revisarán los diversos aspectos etiológicos, las manifestaciones clínicas de acuerdo con el grupo poblacional afectado, las características de los síntomas y signos, los diagnósticos diferenciales más utilizados, las medidas preventivas y el tratamiento.

Palabras claves: dermatitis, inmunidad, atopía, prurito

Abstract

Atopic dermatitis (AD) is a chronic skin disease with highfrequency of occurrence, worldwide distribution mainly affects children. Given the importance of this entity, in this article we reviewed various etiology, clinical manifestations according to thepopulation group concerned, the characteristics of the symptomsand signs, the most common differential diagnosis, preventive measures and treatment.

Key words: dermatitis, immunity, atopy, pruritus

Introducción

La DA es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel, caracterizada por prurito intenso. En países desarrollados, esta enfermedad afecta aproximadamente del 10-20% de la población infantil y puede persistir hasta la edad adulta en un promedio del 1 al 3%; más del 50% de estos pacientes tienen un antecedente personal atópico o una historia familiar de asma bronquial, rinitis alérgica y/o conjuntivitis alérgica. Debido a la alteración que se produce en la función de barrera de la piel esta se vuelve seca; se produce una sensibilización mediada por inmunoglobulina E contra alérgenos provenientes de alimentos y del medio ambiente y el 80-100% presentan mayor susceptibilidad a adquirir infecciones cutáneas ocasionadas por bacterias, virus u hongos posiblemente por defectos de la respuesta inmune innata que ayudan a la inflamación. Aproximadamente el 30% de los pacientes con dermatitis atópica reportan infecciones bacterianas mientras que los que sufren de psoriasis solo el 6% las presentan. También se ha demostrado que las infecciones virales causadas por virus de vacunas o por virus del herpes simple ocurren principalmente en pacientes con dermatitis atópica. Se sugiere que esta enfermedad es multifactorial porque se ha observado que algunos pacientes que tienen niveles normales de IgE sufren de esta patología (1,2).

Inmunopatología de la dermatitis atópica

En la piel sana de los pacientes con DA se observa hiperplasia leve de la epidermis y un escaso infiltrado perivascular de células T sugestivo de mínima inflamación. A diferencia de este patrón, las lesiones con eccema agudo se caracterizan por espongiosis o edema intercelular de la epidermis. Asimismo, se ha observado que las células dendríticas (DC) presentadoras de antígenos, tanto en la piel sana como en la afectada, presentan en la superficie moléculas de Inmunoglobulina E (3).

Para explicar la respuesta inmune de los pacientes con DA se debe tener en cuenta si se encuentran en fase aguda o fase crónica de la enfermedad. En la dermis de los pacientes con lesiones agudas se observa un marca-

[1] Estudiante de XII semestre Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] MD. Dermatóloga, Servicio de Dermatología, Hospital Militar Central, Bogotá, Colombia
* Correspondencia: Nataly González natalygonzalez_1@hotmail.com. Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.

do infiltrado de células T de memoria (con marcadores CD3, CD4, HLA-DR, CD25, CD45RO), macrófagos, mastocitos en diferentes estadios de degranulación y ocasionalmente basófilos y neutrófilos (3-5).

Las características de las lesiones crónicas son la hiperplasia de la epidermis, hiperqueratosis y mínima espongiosis. Los mastocitos están aumentados en número y generalmente se encuentran en estado de degranulación; también se ha visto aumentado el número de eosinófilos lo que genera un aumento de la inflamación por la secreción de citoquinas y mediadores proinflamatorios con activación de intermediarios de oxigeno reactivo y liberación de proteínas de granulación tóxica (3,4).

Genética

Se ha observado que en los europeos con dermatitis atópica, el 60% presentan mutaciones simples o dobles del gen de la filagrina (FGL) localizado en el cromosoma 1q21. La FLG es el principal componente de los gránulos de queratohialina de tipo F, responsables de la diferenciación del estrato granuloso, por lo tanto cuando esta se disminuye se produce una escasez de gránulos de queratohialina en la ictiosis vulgar y en la dermatitis atópica. Se ha demostrado que la ictiosis vulgar se asocia con dermatitis atópica concomitante, la rinitis alérgica, y/o asma en aproximadamente dos tercios de los pacientes. Un regulador de la descamación dependiente del pH es el LEKTI (*lymphoepithelial Kazal-type 5 serine protease inhibitor*) el cual es codificado por el gen SPINK5 (*serine protease inhibitor Kazal-type 5*), que tiene importancia debido a que se encuentra en el estrato granuloso y corneo de la epidermis y se ha relacionado con el síndrome de Netherton, una enfermedad autosómica recesiva en la cual hay mutaciones en el gen SPINK5 y se caracteriza por dermatitis atópica severa, mucosas atópicas y reacciones anafilácticas a antígenos de alimentos (6-10).

Deficiencia de filagrina y la barrera cutánea

Se cree que la deficiencia de FLG causa una alteración de la permeabilidad de la barrera permitiendo la pérdida transcutánea de agua; sin embargo, las bases celulares son desconocidas. Se ha descrito que la pérdida de esta proteína podría afectar la forma de los queratinocitos y esto a su vez alteraría la organización de las capas de la piel ocasionando una disminución de la hidratación del estrato córneo de la piel en pacientes con dermatitis atópica (6,11-13).

Papel de los queratinocitos

Los queratinocitos de los pacientes con dermatitis atópica secretan sustancias que favorecen la producción de citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) e interferon gamma (INF-γ). Las células dendríticas activan el TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*) y estas a su vez activan las células T las cuales liberan IL-4 e IL-13 que inducen a una respuesta Th2. Los queratinocitos también juegan un papel importante en la respuesta inmune mediada por los TLR (*Toll-like receptors*) y la producción de citoquinas proinflamatorias y de péptidos antimicrobianos en respuesta al daño en los tejidos o invasión microbiana; diferentes estudios demuestran que los queratinocitos de los pacientes con DA producen niveles bajos de péptidos antimicrobianos; también se observa que estos pacientes tienen un daño en la barrera epitelial, defectos en el TLR2 y una cantidad disminuida de PMN, DC y células NK en la piel, lo que predispone a la colonización por *S. aureus*, por virus y por hongos (4,14).

Defecto de la inmunidad innata

Una variedad de defectos genéticos y adquiridos, han sido identificadas en el sistema inmune innato de los pacientes con DA dentro de los cuales se incluyen defectos de la barrera, la reducción de la liberación de péptidos antimicrobianos, los polimorfismos genéticos y la disminución en el reclutamiento de células del sistema inmune innato (PMN, DC y las células NK). La función de barrera de la piel se ve afectada por la disminución de los lípidos (esfingosina y ceramida), por la queratinización anormal y por traumatismos mecánicos desencadenados por el prurito.

Esta alteración de la barrera cutánea crea un portal de entrada de agentes patógenos, toxinas y alérgenos. Asimismo, los queratinocitos en los pacientes con dermatitis atópica tienen una respuesta aberrante hacia microorganismos, que asociado a la disminución de las células inmunes innatas (PMN, DC, y NK células) en la piel, pueden ser lo que causa la susceptibilidad que tienen los pacientes con DA a sufrir infecciones por patógenos, como *S. aureus* y el VHS. Defectos en el sistema de señalización o en la expresión de los receptores de la respuesta innata pueden ser secundarios a los efectos de las citocinas de la respuesta Th2. La sobreexpresión de IL-4 e IL-13 puede ocasionar una reducción en la producción de péptidos antimicrobianos y de las proteínas de la barrera de la piel. La producción

de péptidos antimicrobianos (LL-37, HBD2, HBD3, Dermcidin y CCL20/MIP3a) es reducida en pacientes con DA en comparación con la población sana o incluso en pacientes con psoriasis. Por otra parte, las células NK circulantes se reducen significativamente en los pacientes con DA y son funcionalmente defectuosas. (1,4,15)

Prurito

En los pacientes con DA el prurito puede ser causado con débiles estímulos mecánicos como el contacto de la lana. Así mismo, se ha demostrado que la aplicación intradérmica de histamina en estos pacientes induce un prurito intenso en comparación con los sujetos sanos.

Dentro de la fisiopatología del prurito se encuentran los mediadores inflamatorios en la piel como la adenosina trifosfato (ATzP), bradiquinina, serotonina y prostaglandinas, las cuales activan los nervios aferentes primarios sensibilizados anteriormente y reaccionan anormalmente con estímulos que en personas sanas no producirían ninguna respuesta. Un ejemplo de esto son los receptores transitorios vaniloide-1 (TRPV1), ubicados en las terminaciones nerviosas libres, los cuales se activan normalmente a una temperatura de 42 ° C, pero en presencia de ATP o de la bradiquinina pueden activarse a 35 ° C. Además, se han reportado aumentos de factores de crecimiento nervioso a nivel sérico en pacientes con dermatitis atópica severa. Aunque la mayoría de C-nervios son polimodales, es decir, que responden a estímulos mecánicos y de calor, la respuesta a la histamina se considera una respuesta no- mecanosensitiva (16).

Aunque se conoce que la histamina es el principal mediador del prurito en los seres humanos, se ha demostrado que los antihistamínicos no son eficaces en los pacientes con dermatitis atópica. Es importante realizar investigaciones que nos permitan averiguar cuales son los mecanismos específicos del prurito, con el fin de encontrar a futuro nuevas opciones farmacológicas que logren contrarrestar la sensibilización neuronal característica de esta enfermedad. (16).

Superantígenos de *Staphylococcus aureus*

Los pacientes con dermatitis atópica tienen alta susceptibilidad a infecciones por bacterias, virus y hongos, siendo la más común la de *S. aureus*, la cual se puede presentar tanto en piel con lesiones como en piel sana; se ha encontrado relación entre el número de bacterias

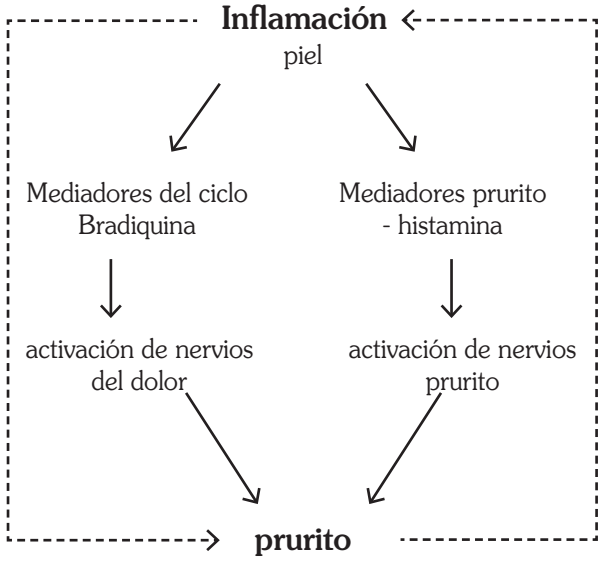

Figura 1. *Mecanismos del prurito en DA.*

presentes en la piel y la severidad de la enfermedad. Dentro de los factores que favorecen la colonización de esta bacteria se encuentra la alteración de la barrera de la piel y la disminución de la inmunidad innata (9,15,17).

S. aureus produce toxinas inmunomoduladoras como las enterotoxinas estafilocócicas A y B que son superantígenos con la capacidad de iniciar, mantener y exacerbar la inflamación. Por otra parte, se demostró que las células T reguladoras como linfocitos CD4 y CD25 se encuentran aumentadas en pacientes con DA, pero pierden su actividad inmunosupresora por la estimulación de los antígenos bacterianos. Estas células T reguladoras podrían funcionar incorrectamente en la piel colonizada por superantígenos, lo cual aumentaría la activación de células T y por lo tanto la cascada inflamatoria en pacientes con DA (9,15,17).

Por otra parte, *S. aureus* induce la síntesis de anticuerpos IgE específicos contra los superantígenos en aproximadamente el 57% de los pacientes con DA, en contraste con la población sana en quienes estos anticuerpos son extremadamente raros. Además, la severidad de esta enfermedad se correlaciona más con niveles de IgE toxina-específica que con niveles séricos totales de IgE (9,15,17).

Estrés

Aunque se conoce que los pacientes con DA tienen una inmunomodulación inducida por el estrés, los mecanis-

mos específicos no han sido identificados. Dentro de las hipótesis para este fenómeno se consideran los factores neuronales inmunológicos tales como neuropéptidos los cuales se pueden encontrar en la sangre y en las fibras nerviosas epidérmicas en estrecha asociación con las células de Langerhans. Por otra parte, los niveles elevados de factor de crecimiento de los nervios y la sustancia P se encuentra en el plasma de los pacientes con DA y se correlacionan con la actividad de la enfermedad. El factor de crecimiento derivado del cerebro ha demostrado que reduce la apoptosis de eosinófilos y mejora la quimiotaxis de los eosinófilos in vitro (6).

Alimentos alergénicos

En varios estudios placebo controlados se demostró que los alergenos alimentarios pueden inducir reacciones de hipersensibilidad tipo I como urticaria, angioedema, cólicos, asma, anafilaxia y también pueden ocasionar reacciones eccematosas en un subgrupo de lactantes y niños con DA. Asimismo, está bien establecido que algunos alimentos pueden exacerbar esta enfermedad ya sea por reacciones de hipersensibilidad alérgicas o no (6,18).

Inhalantes alergenos

Generalmente después de los tres años la alergia a los alimentos es superada, pero la sensibilización a alérgenos inhalantes sigue siendo frecuente. Hace varios años se demostró que el prurito y las lesiones cutáneas se pueden desarrollar posterior a la inhalación bronquial con aeroalérgenos en pacientes con DA y los eccemas pueden ser activados por la exposición cutánea a aeroalérgenos como el polen, ácaros, polvo, hierbas y pelos de animales.

El aislamiento de las lesiones de esta enfermedad y la prueba de parches de células T muestran que pueden responder selectivamente a *Dermatophagoides pteronyssinus* y otros aeroalérgenos, lo cual afirma la hipótesis que los inhalantes alergenos pueden provocar respuestas inmunes y exacerbadas en pacientes con DA (6, 9,19).

Factores irritantes

En los pacientes con dermatitis atópica algunos factores irritantes pueden exacerbar las lesiones de la piel preexistentes, entre estos se encuentran la ropa de lana, agentes químicos de limpieza para la piel tales como jabones, cremas, desmaquilladores, etc. (6).

Manifestaciones clínicas

El prurito intenso y la reactividad cutánea son síntomas cardinales en la DA; el prurito puede ser intermitente durante el día pero empeora en las noches. Las lesiones agudas se caracterizan por prurito intenso, pápulas eritematosas asociadas a excoriación que pueden incluso llegar a formar vesículas sobre base eritematosa y exudado seroso. Por otra parte las lesiones crónicas presentan placas engrosadas con liquenificación y pápulas fibróticas; generalmente en estos pacientes se pueden observar las lesiones en diferentes estadios de inflamación asociado a esto presentan piel seca y opaca (2,9, 20,21).

La distribución de las lesiones primarias varía de acuerdo a la edad y a la actividad de la enfermedad. Durante la infancia la DA es más aguda y las lesiones comprometen cara, cuero cabelludo y superficies extensoras de las extremidades; en pacientes crónicos y niños escolares. Los pacientes desarrollan liquenificación y localización del eccema a nivel de los pliegues flexores de las extremidades. Generalmente a medida que pasan los años, las lesiones tienden a disminuir o incluso desaparecer; sin embargo, se ha observado que estas lesiones pueden reactivarse cuando los pacientes se exponen a agentes exógenos irritantes, por ejemplo el eccema crónico de las manos puede ser la manifestación primaria de pacientes adultos con dermatitis atópica. Las características de esta enfermedad son las siguientes: (2,9, 20,21).

Esenciales: Prurito, dermatitis eccematosa (aguda, subaguda o crónica), morfología típica de las lesiones de acuerdo a la edad del paciente y enfermedad crónica o historia recidivante

Importantes: Edad temprana de aparición, historia personal o familiar de atopía, reactividad mediada por IgE y xerosis.

Asociadas: Respuesta vascular atípica, queratosis pilaris, ictiocitosis, cambios oculares y periorbitarios, acentuación perifolicular, liquenificación y prurigo.

Pueden estar asociadas: Ictiosis vulgar, queratosis pilaris, eccema nummular y pitiriasis aba

Medidas preventivas generales

Una característica de los pacientes con DA es la piel seca; por tal razón, en la terapia de mantenimiento se recomienda los emolientes que son pilares fundamentales. El baño diario debe ser corto, con agua tibia, uso

Tabla 1. *Diagnósticos diferenciales (2,9, 20,21)*

- Dermatitis de contacto (alérgica e irritante)	- Enfermedades de la queratinización (síndrome Netherion).
- Dermatitis seborreica	- Linfoma cutáneo.
- Escabiosis	- Síndromes de inmunodeficiencia (Wiskott-Aldrich, hiper-IgE)
- Psoriasis	- Dermatotoso perioral
- Impétigo	- Deficiencia de Zinc (agrodermatitis esteropática)
- Reacciones medicamentosas	- Ictiocitosis
- Dermatitis perioral.	

de jabón de pH neutro principalmente en las zonas de sudoración. Se recomienda aplicar gran cantidad de una crema emoliente o humectante, una o dos veces al día con el fin de prevenir la resequedad y la irritación de la piel. También el material de la ropa es importante, se recomienda el algodón (2,22).

Tratamiento

El tratamiento adecuado de la DA es integral y contiene varios parámetros dentro de los cuales se deben tener en cuenta los cambios ambientales, la identificación y la eliminación de los factores desencadenantes tales como agentes irritantes, alérgenos, agentes infecciosos y el estrés; así mismo es importante la hidratación de la piel y la terapia farmacológica ya sea tópica o sistémica. Por lo tanto, es de vital importancia explicar al paciente que el tratamiento depende de cada persona y además, debe comprender la severidad de la enfermedad (2,22).

Antihistamínicos

La efectividad de los antihistaminicos es controversial ya que cuando se compara el grupo con DA con el grupo placebo no se observan diferencias; sin embargo, el uso de los antihistamínicos con propiedades sedantes puede beneficiar a los pacientes con comorbilidades atópicas como rinitis alérgica, dermatografismo, urticaria y alteraciones del sueño (23).

Corticosteroides tópicos

Generalmente se usan para piel débil o de poca resistencia como en cara y genitales los de baja potencia (clase IV) como dexametasona 0,1-0,2 % crema, acetato de hidrocortisona 1-2,5% crema, acetato de metilprednisolona 0,25% crema; también estos corticosteroides pueden ser utilizados para el tratamiento en niños. Para otras áreas del cuerpo y en adultos pueden ser usados los de moderada o alta potencia. Cuando los pacientes tienen lesiones liquenificadas pueden requerir preparaciones mas potentes por largos periodos de tiempo. Se realizó un estudio comparativo por un periodo de 16 semanas con 231 niños con DA, un grupo se medicó con popionato de fluticasona al 0,05% dos veces por semana y emolientes, mientras que el grupo control solo recibió emolientes, se evidenció que este último grupo de pacientes eran más susceptibles a sufrir recaídas en comparación con los que usaron corticoide y emoliente en terapia conjunta (23).

Los efectos secundarios locales descritos fueron adelgazamiento de la piel, estrías, petequias, atrofia, teleangiectasias faciales, el glaucoma por el uso periocular. Asimismo, dentro de los efectos sistémicos se encuentran la supresión adrenal secundaria, la reducción del crecimiento y cambios en la densidad ósea en los adultos. En un estudio que incluye pacientes con DA tratados con corticoides de baja potencia no se encontró alteración de la velocidad de crecimiento comparado con los pacientes tratados con corticoides tópicos de mediana potencia. Basados en los resultados descritos se puede concluir que para lograr una reducción de la toxicidad los corticosteroides tópicos solo deben ser usados por cortos periodos de tiempo en los eccemas agudos (23).

Inhibidores tópicos de la calcineurina (pimecrolimus y tacrolimus)

Son agentes inmunosupresores que se desarrollaron originalmente para prevenir el rechazo del trasplante alogénico. En cuanto a su mecanismo de acción, inhiben la calcineurina en la piel la cual bloquea la activación temprana de células T y la liberación de citocinas. Un meta-análisis demostró que el tacrolimus 0,1% es tan efectivo como los corticoides de alta potencia y tiene mayor eficacia que los corticoides tópicos de baja potencia en el tratamiento de la dermatitis atópica. Además, se observó que el pimecrolimus 0,03% es menos eficaz que el valerato de betametasona al 0,1%, sin embargo no se ha realizado estudios comparativos de la eficacia con otros corticosteroides tópicos. Los efectos adversos observados de los inhibidores de la calcineurina se encuentran la sensación de quemazón y la irritación de la piel. Por otra parte, se debe recomendar el uso de bloqueador solar diariamente. Todavía no es claro si estos medicamentos pueden inducir malignidad, por lo tanto se plantean como segunda línea de manejo según la FDA (Food and Drug Administration) (9,21-23).

Antibióticos

La mayoría de los pacientes con dermatitis atópica tienen infección por *Staphylococcus aureus*. La relación entre esta enfermedad y este microorganismo sigue siendo poco clara. Existen diferentes posiciones acerca del uso de antibióticos contra *S. aureus* y la resistencia a este fármaco, ya sea con el uso para tratar las lesiones agudas de la piel ó la desconolonización cuando la piel no ha sido afectada. Por otra parte el uso de lavados antisépticos debe evitarse debido a que los productos químicos producen irritación mecánica y esto empeora el cuadro clínico del paciente (9,21-23).

Terapia sistémica

La terapia sistémica solo está indicada en casos graves y resistentes a los tratamientos tópicos instaurados. Los corticosteroides sistémicos son efectivos en el control de lesiones eccematosas agudas en adultos con dermatitis atópica, pero su uso debe ser estrictamente de corto plazo. Las lesiones por rebote y la disminución de la eficacia hacen que este tratamiento sea limitado (24). Por otra parte, fármacos como la ciclosporina, el interferón gamma-1b pueden ser eficaces en el caso de DA severa que no responde a otros manejos. Los datos sobre el uso de micofenolato mofetilo, azatioprina e inmunoglobulina intravenosa son realmente controversiales y no hay evidencia que apoye el uso de los inhibidores de los leucotrienos, el metotrexato, inyecciones de desensibilización, teofilina o pimecrolimus via oral (24).

Otros tratamientos

La luz ultravioleta (UV), fototerapia con UVB de banda estrecha, UVA, o psoraleno más UVA puede ser favorable para el tratamiento de la dermatitis atópica severa dependiendo de la edad y la condición clínica de cada paciente (24).

Recomendaciones de tratamiento

Las recomendaciones de tratamiento que la literatura reporta para los pacientes de DA son (9,21-24):

1. Utilizar emolientes en la terapia de mantenimiento de los pacientes con DA
2. En los pacientes que presentan lesiones agudas, se recomienda como medicamento de primera línea los corticoides tópicos.
3. Puede ser indicado el uso de antihistamínicos con efectos sedantes en pacientes con alteración del sueño y condiciones alérgicas concomitantes.
4. En los casos que se presenten con lesiones sobreinfectadas se recomienda el uso de antibióticos.
5. Como tratamiento de segunda línea se pueden utilizar los inhibidores de la calcineurina en los casos con lesiones agudas y para mantenimiento.

Conclusiones

La DA es una enfermedad inflamatoria crónica muy frecuente de distribución mundial que afecta principalmente a la población infantil; por lo tanto se hace necesario conocer la etiología multifactorial de esta patología dentro de las que se encuentran los factores genéticos, inmunológicos tales como la alteración de la barrera cutánea y disminución de la inmunidad innata lo que favorece la colonización e infección por *S. aureus* y factores ambientales como estrés, irritantes, inhalantes y alimentos alergénicos. Al comprender los diferentes mecanismos fisiopatológicos así como las diversas manifestaciones clínicas dependiendo de la edad y de cada paciente se puede realizar un diagnóstico temprano y por lo tanto un tratamiento integral.

A pesar de los diferentes estudios realizados para tratar de conocer la etiología de la dermatitis atópica y las diversas opciones de manejo, existe un campo amplio de investigación enfocado a la búsqueda de mecanismos para prevenir complicaciones y mejorar la calidad de vida de estos pacientes y de sus familias.

Referencias

1. De Benedetto, Anna et al. Atopic Drmatitis: A Disease Caused by Innate Immune Defects?. Journal of Investigative Dermatology. 2009; 129:14-30
2. Krakowski A, Eichenfield LF, Dohil M. Management of Atopic Dermatitis in the Pediatric Population. Pediatrics. 2008.
3. Terui T. Analysis of the Mechanism for the Development of Allergic Skin Inflammation and the Application for Its Treatment: Overview of the Pathophysiology of Atopic Dermatitis. Department of Dermatology. Nihon University School of Medicine. Japan, May 16, 2009.
4. Bieber T. Mechanisms of Disease: Atopic Dermatitis. Massachusetts. New England Journal of Medicine. Abril, 2008.
5. Addor F, Aoki V. Skin barrier in atopic dermatitis. Department of Dermatology, University of Sao Paulo Medical School. Brazil. 2010.
6. Wüthrich B et al. Atopic eczema: genetics or environment?. Unit for Experimental Immunotherapy, Department of Dermatology, University Hospital Zurich. Switzerland. Ann Agric Environ Med 2007; 195-201.
7. Kiyohara C et al. Genetic Susceptibility to Atopic Dermatitis. Japanese Society of Allergology. Allergology International. 2008.

8. Bieber T. Atopic Dermatitis. Department of Dermatology and Allergy, Friedrich-Wilhelms-University. Germany. Accepted for publication April 30, 2010.
9. Freedberg et al. Fitzpatrick dermatology in general medicine. Editorial McGraw-Hill, sixth edition. New York, 2003.
10. Cork MJ et al. Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis. Journal of Investigative Dermatology. The Pediatric Dermatology Clinic Sheffield Children's Hospital. UK. 2009.
11. Elias P, Schmuthb M. Abnormal skin barrier in the etiopathogenesis of atopic dermatitis. Curr Opin Allergy Clin Immunol. Octubre, 2009.
12. Oord R et al. Filaggrin gene defects and risk of developing allergic sensitisation and allergic disorders: systematic review and meta-analysis. BMJ. 2009.
13. Elias P et al. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: Outsideinside- outside pathogenic mechanisms. Dermatology Service Veterans Affairs Medical Center.University of California. J Allergy Clin Immunol. June, 2008.
14. Komine M. Analysis of the Mechanism for the Development of Allergic Skin Inflammation and the Application for Its Treatment: Keratinocytes in Atopic Dermatitis — Their Pathogenic Involvement. Department of Dermatology Jichi Medical University. Japan. April 3, 2009.
15. Hata T et al. Antimicrobial Peptides, Skin Infections and Atopic Dermatitis. Division of Dermatology University of California San Diego. Semin Cutan Med Surg, 2009.
16. Ikoma A. Analysis of the Mechanism for the Development of Allergic Skin Inflammation and the Application for Its Treatment: Mechanisms and Management of Itch in Atopic Dermatitis. Department of Dermatology Kyoto University. February 26, 2009.
17. Baker B. The role of microorganisms in atopic dermatitis. British Society for Immunology Clinical and Experimental Immunology. 2006.
18. Tanaka K et al. Environmental Factors and Allergic Disorders. Allergology International. 2007.
19. Rodrigues G et al. Diversity of allergen exposure: implications for the efficacy of environmental control. Brazilian journal of otorhinolaryngology, April, 2009.
20. Williams HC. Atopic Dermatitis. Massachusetts Medical Society. New England Journal of Medicine. June, 2005.
21. Turner J, Schwartz R. Atopic dermatitis. A clinical challenge. Acta Dermatoven APA. 2006.
22. Thygarajan A, Burks W. American Academy of Pediatrics recommendations on the Effects of Early Nutritional Interventions on the Development of Atopic Disease. Division of Allergy and Immunology Duke University Medical Center. Curr Opin Pediatr, 2008.
23. Buys L. Treatment Options for Atopic Dermatitis. American Academy of Family Physicians. Siouxland Medical Education Foundation, Sioux City, Iowa. February 15, 2007.
24. Brown S et al. Atopic and non-atopic eczema. Department of Dermatology University of Newcastle, 2006.

DEFICIENCIA DE GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA: UN DEFECTO FATAL PARA EL ERITROCITO QUE CONDUCE A SU HEMÓLISIS PREMATURA

Diana C. Poveda[1], Sandra L. Rodríguez M. M.Sc.[2]*

Resumen

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es una de las principales causas de anemia hemolítica causada por la incapacidad del eritrocito de generar poder reductor que lo proteja del estrés oxidativo al que se encuentra expuesto continuamente. Esto hace que dicha célula sea vulnerable e incapaz de responder adecuadamente a factores del medio que le generan este tipo de estrés, como es el caso de los medicamentos oxidantes y de los procesos infecciosos. El proceso hemolítico ocurre principalmente a nivel intravascular y en menor grado a nivel extravascular y da origen a los hallazgos hematológicos observados durante las crisis hemolíticas en estos pacientes. Dentro de estos hallazgos los más representativos son la anisocitosis, la poiquilocitosis con predominio de células en mordedura, la policromatofilia y recuentos reticulocitarios mayores a 20%. Al ser esta entidad la enzimopatía mas prevalente en el mundo, cuya manifestación clínica como anemia hemolítica puede llegar a ser letal, es importante conocer cuáles son los factores desencadenantes de este proceso hemolítico, especialmente cuales medicamentos, para evitar que esta entidad pueda llegar a presentar altas cifras de mortalidad.

Palabras clave: anemia, hemólisis, G6PD, ATP, estrés oxidativo, hemoglobina, NADPH

GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE DEFICIENCY: A FATAL DEFECT TO THE ERYTHROCYTE THAT LEADS TO EARLY HEMOLYSIS

Abstract

G6PD deficiency is a major cause of hemolytic anemia. It is caused by the inability of erythrocytes to generate reducing power that protects them from oxidative stress to which they are continuously exposed. Therefore the cell is vulnerable and unable to respond adequately to environmental factors that generate this type of stress, such as oxidant drugs and infectious processes. Hemolytic process is mainly intravascular and to a lesser degree occurs at extravascular level, giving rise to the hematological findings observed during the hemolytic crisis in patients suffering this condition. Among the most representative findings are anisocytosis, poikilocytosis with bite cells, polychromatophilia and reticulocyte count> 20%. As it constitutes the enzymopathy most prevalent in the world, which clinical and hemolytic anemia could be lethal, it is important to know what triggers this haemolytic process, especially which sort of drugs, in order to avoid that this entity could present high mortality.

Key words: anemia, hemolysis, G6PD, ATP, oxidative stess, hemoglobin, NADPH

Introducción

La hemólisis a causa de la deficiencia de G6PD está documentada desde la época de Pitágoras y era relacionada con el consumo de habas. Posteriormente, hacia mediados del siglo XX se evidenció el efecto hemolítico de la primaquina tras su administración en personas de raza negra (1). Esta hemólisis constituye el mecanismo por el cual aproximadamente 400 millones de personas alrededor del mundo manifiestan la deficiencia de G6PD. En Colombia la prevalencia se estima entre un 1-22% siendo mayor en la región de la costa pacífica,

[1] Estudiante de IX semestre Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Docente Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada
* Correspondencia: Diana Cecilia Poveda dianeporo718@hotmail.com. Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.

en donde los datos se encuentran relacionados con las zonas de endemicidad para malaria. Se ha evidenciado que la prevalencia de la deficiencia enzimática es mayor en zonas con alta incidencia de malaria, lo que sugiere un efecto protector de dicha deficiencia contra la malaria tal vez como resultado de una "coevolución" y posterior mecanismo de adaptación y de defensa por parte del ser humano ante el parásito (2,3).

Esta entidad se puede presentar de diferentes formas clínicas, bien sea como una anemia hemolítica aguda (donde se incluye el favismo), como una anemia hemolítica no esferocítica crónica o simplemente como ictericia neonatal, donde en esta última la principal complicación es el kernicterus (4,5). Aunque en la mayoría de las personas se presenta en forma asintomática, es importante destacar que en algunas se puede presentar la sintomatología a causa de la exposición a ciertos factores como ingesta de algunos medicamentos, infecciones e incluso la ingesta de habas los cuales aceleran o desencadenan el proceso de hemólisis. Es por ello que es importante conocer cuales agentes pueden desencadenar la hemólisis y así contribuir a la disminución de la mortalidad por esta enfermedad.

La deficiencia de G6PD es uno de los desórdenes congénitos del metabolismo más comunes, ligado al cromosoma X y muy prevalente en África, el mediterráneo, en el oriente y en el sur asiático, en el oriente medio y en Oceanía (6). Por otra parte, se ha visto que existen mutaciones puntuales más no deleciones en el gen de la enzima, lo que da lugar a diferentes variantes de la G6PD. Es por ello que podemos encontrar la enzima designada de diferentes maneras como A-, A, B, Med, Canton y Mahidol, donde la letra B corresponde a la enzima G6PD de actividad normal. Dichas variantes difieren bien sea en la actividad enzimática, en la cantidad expresada de la enzima y en la distribución geográfica (1,4,7-9).

La enzima G6PD se expresa en todos los seres vivos, se encuentra en el citoplasma de todas las células, principalmente en el de los eritrocitos, lugar donde juega un papel clave en la supervivencia y funcionamiento de los mismos. Se sabe que su función en el citoplasma es participar en la vía de las pentosas fosfato, la cual es la vía primaria para la generación de dinucleótido fosfato nicotinamida adenina reducida (NADPH) utilizada en la protección antioxidante; por lo tanto, la deficiencia de esta enzima causa consecuencias fatales para las células eritrocitarias. Además, estas células al carecer de núcleo y de mitocondrias se ven en la necesidad de usar esta vía para mantener estables no sólo los niveles de ATP, sino también, para obtener el poder reductor a través del NAPH, que los protege del estrés oxidativo al que están sometidos continuamente, por su labor como células trasportadoras de oxígeno (10).

Es por ello que su supervivencia en la circulación sanguínea depende de los mecanismos de defensa eritrocitarios frente a este tipo de estrés y por ende de la actividad de esta enzima (10). Por otro lado, se ha visto que la enzima G6PD juega un papel de vital importancia en la supervivencia del feto durante la transición de la hemoglobina fetal a la adulta, debido a la función protectora de la G6PD contra el daño oxidativo, ya que en dicho proceso se generan especies reactivas de oxígeno a partir de la hemoglobina adulta (10,11).

Función de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en el eritrocito

La enzima G6PDH hace parte de la vía de las pentosas fosfato, una vía citosólica en todas las células encargada de la formación de pentosas (azúcares de cinco carbonos), para la síntesis de los nucleótidos que forman parte del ARN y ADN. Esta función deja de cobrar importancia en los eritrocitos debido a su carencia de núcleo, por lo que dejan de ser necesarias las pentosas para la síntesis de ácidos nucleicos, pero se aprovechan a manera de reciclaje, desviándolas hacia la vía de la glucólisis donde van a ser convertidas en acido láctico para la obtención de ATP a partir del metabolismo anaerobio de la glucosa. Esta constituye la única vía de obtención de energía del eritrocito ya que esta célula al carecer de mitocondrias y organelos celulares que le permitan obtener ATP de otras fuentes de energía tales como ácidos grasos (12).

El eritrocito tiene la vía de las pentosas fosfato como única opción para obtener $NADPH^+$, coenzima clave en el suministro de equivalentes reductores que protejan a la célula del daño oxidativo. Debido a esto, la G6PD tiene un papel importante en la protección antioxidante al intervenir directamente en la producción de $NADPH^+$ y esta protección se logra a través de la reducción del glutatión oxidado (GSSG) que pasa a ser glutatión reducido (GSH) gracias a la donación de hidrogeniones del $NADPH^+$. Este vuelve a su estado oxidado $NADP^+$ que posteriormente será renovado a $NADPH^+$, gracias a la G6PD (13).

Proceso hemolítico

Al haber deficiencia de G6PD se deduce que los productos resultantes de su acción y su papel en la protección

antioxidante se encuentran disminuidos y en casos extremos abolidos. Esto se ve expresado en la disminución de la producción de $NADPH^+$ y por ende de la cantidad de GSH, lo que ocasiona una mayor vulnerabilidad por parte de la célula eritrocitaria a los daños oxidativos.

La disminución de GSH implica la acumulación de agentes oxidantes como el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^-). Estos se producen de manera continua y normal en los eritrocitos como productos accesorios de la oxidación de la hemoglobina. Su acumulación por la falta de remoción por parte del glutatión reducido (GSH), causa oxidación de los grupos sulfhidrilos (SH), componentes críticos en la estructura de las proteínas y en la peroxidación de lípidos en la membrana del eritrocito. Lo anterior conduce a la formación de uniones intramoleculares e intermoleculares entre los grupos sulfhidrilos llevando así a la agregación y precipitación de las proteínas del citoesqueleto y de la membrana del glóbulo rojo, formándose los depósitos de hemoglobina conocidos como cuerpos de Heinz (13,14). El resultado final es la disminución de la capacidad de deformabilidad del eritrocito y la alteración de su superficie celular, por lo que son reconocidos por los macrófagos como células anormales, lo que da origen a la hemólisis extravascular por el sistema retículo endotelial del hígado y bazo (14,15).

Otros procesos que contribuyen a la hemolisis intravascular son la peroxidación de los lípidos de la membrana celular y la proteólisis intracelular. Estos dos eventos son desencadenados por agentes exógenos y por situaciones que demandan en el eritrocito aumento en la producción de $NADPH^+$, como es el caso de algunos medicamentos, de procesos infecciosos y de ciertos alimentos y que se discutirán más adelante. Ante estas situaciones el eritrocito es incapaz de responder adecuadamente (4,8,10,16).

A medida que el eritrocito madura la actividad enzimática de la G6PD disminuye, por ejemplo, en los reticulocitos es cinco veces mayor que en los eritrocitos maduros, los cuales son incapaces de sintetizar enzimas nuevas, en especial la G6PD; por tal razón hay una disminución en la reparación del daño oxidativo y a su vez su vida media es más corta, usualmente de 60 días (10,17). Por otra parte, la disminución de los procesos reductores frente a los oxidativos ocasionan destrucción de los eritrocitos y un aumento de la hemoglobina con hierro oxidado (Fe^{+3}) o metahemoglobina que es incapaz de ligar oxígeno y por lo consiguiente, hay una disminución en el transporte de oxígeno a los tejidos. Se puede observar en la curva de disociación de la hemoglobina un desplazamiento a la izquierda (18). Aunque metahemoglobina no es la causa del proceso hemolítico, juega un papel importante en la fisiopatología de la enfermedad y en las manifestaciones clínicas, las cuales pueden variar de leves hasta severas, y en algunos casos pueden llegar a ser letales para el paciente.

Manifestaciones clínicas

La mayoría de las personas que carecen de la enzima G6PDH pueden ser asintomáticas toda la vida sin que se detecte la deficiencia o bien, pueden manifestar la enfermedad al ser sometidas a estrés oxidativo, desencadenado por factores del medio ambiente. El gen que codifica esta enzima está localizado en el cromosoma X, y por ende los hombres son los que expresan la enfermedad; sin embargo, esto depende del carácter homocigoto o heterocigoto que posean del gen, donde los heterocigotos al tener una copia normal del gen, pueden tener una población de eritrocitos normales que respondan ante el estrés oxidativo disminuyendo así la posibilidad de expresión clínica, contrario a lo que sucede en sujetos homocigotos (1,5,19,20). Dentro del espectro de las manifestaciones clínicas se encuentran tres síndromes principales: la anemia hemolítica aguda (AHA), la anemia hemolítica crónica no esferocítica (AHCNE) y la ictericia neonatal (4,7,17).

Anemia hemolítica aguda (AHA)

Este cuadro clínico consiste en hemólisis masiva intravascular que se caracteriza principalmente por malestar general, astenia, adinamia, dolor lumbar y/o abdominal; en los casos más graves, ictericia y cambios en el color de la orina que varía desde un tono oscuro hasta negro a causa de la hemoglobinuria, indicativa de este tipo de hemólisis. La presentación clínica puede variar tanto en el tiempo de inicio de aparición de los signos y síntomas, como en la presencia o ausencia de los mismos que dependen del factor exógeno desencadenante y de la respuesta de la médula ósea ante la demanda de eritrocitos causada por la hemólisis. Esta hemólisis puede pasar desapercibida clínicamente como consecuencia del aumento de la producción de eritrocitos por parte de la medula ósea, siendo de este modo un efectivo mecanismo compensatorio capaz de suplir la demanda (1,4,16).

Los tres espectros clínicos de AHA se muestran en la tabla 1:

Tabla 1. *Aspectos clínicos de AHA.*

AGENTE DESENCADENANTE DE AHA	MECANISMO (10,21)	ETIOLOGÍA (14,22)	CARACTERÍSTICAS DEL CUADRO CLÍNICO (1,10,14,16)
MEDICAMENTOS	Inducción de procesos oxidativos.	Acetanilida Doxorrubicina Furazolidona Glibenclamida Azul de metileno Dapsona Naftaleno Nitrofurantoína Primaquina Sulfametoxazol Sulfacetamida Fenilhidrazina Nitrato de isobutil*+ Nitrato de potasio+ Metformina±	1-3 días posterior a la toma del medicamento inicio de los síntomas. 7- 8 día empeora la anemia. Duración de 4-6 días Principal riesgo en adultos es el desarrollo de una falla renal aguda.
INFECCIONES	Producción de peróxido de hidrógeno por los PMN durante la fagocitosis.	*Streptococcus B* hemolítico, *Salmonella, Rickettsias,* virus de la influenza y hepatitis virales, *Plasmodium falciparum*Ω.	Ictericia (Si coexiste hepatitis) Severidad de la anemia influenciada por: edad, niveles previos de hemoglobina y la función hepática.
FAVISMO	Divicina, isouramilo (metabolitos de las habas). Causan oxidación irreversible de GSH y de otros grupos de proteínas unidas por grupos -SH.	Ingesta de habas (Vicia fava o fríjol ancho). Exposición al polen de la planta.	Cuadro súbito de hemólisis intravascular dentro de las primeras 24 a 48 horas tras la ingesta. Los síntomas más comunes son las náuseas, vómitos, malestar y vértigo.

* Nitrato volátil muy famoso en las calles bajo el nombre de "poppers", cuya inhalación produce aumento en la respuesta sexual y laxitud del esfínter anal (23).

\+ Nitratos como el nitrato de potasio producen metahemoglobinemia. En esta situación se debe recurrir a la transfusión sanguínea ya que no puede ser tratada con azul de metileno por estar contraindicado en estos pacientes (18).

± En un reporte de caso la metformina produjo dentro de los primeros 12 días de tratamiento hemólisis; sin embargo, no se ha establecido si esta hemolisis esta relacionada o no con la deficiencia de la enzima G6PD (24)

Ω Puede presentarse anemia que se manifiesta como hemoglobinuria, por lo que se denomina fiebre del agua negra (blackwater fever) (21).

Ictericia neonatal

Por lo general aparece entre el primer y cuarto día de vida. El tiempo de desarrollo de la ictericia es menor que el de la fisiológica pero un poco mayor que la ocasionada por la aloinmunización por grupo sanguíneo. Si la deficiencia de la enzima no es identificada y manejada oportunamente se puede producir una deficiencia enzimática severa y una hemólisis masiva que conduce a la generación de Kernicterus y daño neurológico permanente. Al ser reportada la deficiencia de G6PD como principal causa de hiperbilirrubinemia severa neonatal y de kernicterus, se convierte en un factor de riesgo heredado para muerte neonatal o discapacidad. Además, se ha visto asociada esta deficiencia enzimática a la enfermedad de Gilbert, lo que aumenta el riesgo de hiperbilirrubinemia (1,4,21).

Se han identificado varios factores desencadenantes de la deficiencia enzimática de la G6PD; entre ellos están el uso de ciertas sustancias tales como el naftaleno utilizado en la ropa y cama de los niños, las infecciones del tracto respiratorio superior, la edad gestacional y ciertos factores genéticos (22,25,26).

Anemia hemolitica crónica no esferocitica (AHCNE)

Una minoría de los pacientes con deficiencia de G6PD presenta una anemia crónica clínicamente detectable, de

severidad variable y de predominio en el sexo masculino, donde la mayoría tienen el antecedente de haber presentado ictericia neonatal que requirió trasfusión sanguínea. Los pacientes con AHCNE presentan cálculos biliares y esplenomegalia, donde esta última es moderada cuando son niños y va aumentando progresivamente hasta el punto de ocasionar disconfort mecánico e incluso hiperesplenismo. Este hiperesplenismo es el mecanismo responsable de la hemólisis extravascular que se da en esta entidad, razón por la que estos pacientes no suelen tener hemoglobinuria (que indica hemólisis intravascular); aspecto que la diferencia de la AHA cuya hemólisis si es intravascular (5).

Hay evidencia que la hemólisis extravascular se da por el estrés oxidativo que hace que los grupos sulfhidrilo de las proteínas de la membrana eritrocitaria, en especial la espectrina, se oxiden produciendo cambios en la conformación lo que ocasiona el reconocimiento y la eliminación de los eritrocitos por parte del bazo, que es el mismo mecanismo de hemólisis observado la esferocitosis hereditaria. El nombre de esta entidad obedece a la ausencia del cambio morfológico eritrocitario de esferocitosis (1,5,10,19).

Diagnóstico

Al igual que todas las entidades clínicas el diagnóstico de la deficiencia de G6PD se sospecha por sus manifestaciones; sin embargo, se han planteado una serie de indicaciones para descartarla tanto en niños como en adultos. Dentro de estas indicaciones para los niños están: antecedentes familiares de anemia, ictericia, esplenomegalia o colelitiasis; y en el caso de los adultos: antecedente de reacción hemolítica aguda a infecciones o a fármacos oxidativos conocidos, favismo, cualquier anemia hemolítica crónica no esferocítica o que sean de origen africano o mediterráneo (7,21).

Por otra parte, las crisis hemolíticas agudas cumplen un papel importante en la detección de esta entidad al permitir observar características y hallazgos hematológicos propios de esta deficiencia. Dentro de estos hallazgos encontramos una anemia normocítica-normocrómica que puede variar de moderada a muy grave, mostrando marcada anisocitosis con poiquilocitosis. En esta última los eritrocitos aparecen distorsionados con aspecto de células en mordedura o "*Bite cells*" por la presencia del borde celular mellado, lo que da origen a los llamados poiquilocitos bizarros (1,23).

Asociado a esto se observa policromatofilia con índice de producción de reticulocitos (IPR) > 3 que sugieren hemólisis y el recuento de reticulocitos que pueden alcanzar fácilmente hasta un 30%, eritrocitos con distribución irregular de hemoglobina (*hemighosts*), hemoglobinemia, hemoglobinuria y bajos niveles plasmáticos de haptoglobina. Este último hallazgo se debe al aumento en la eliminación de esta proteína por parte del hígado tras haber cumplido su función de unión con la hemoglobina que queda libre por la hemólisis. Por la destrucción masiva de eritrocitos los niveles de haptoglobina no son suficientes para suplir la demanda y los niveles sanguíneos son bajos (<30mg/dl), debido a que el tiempo de eliminación de la proteína es más corto que el tiempo de la síntesis (1,4,8,21). Los cuerpos de Heinz mencionados anteriormente se observan de color púrpura en el frotis de sangre periférica coloreado con cristal violeta y se localizan principalmente en los bordes del eritrocito. En el caso del favismo durante el episodio hemolítico agudo, los pacientes presentan un recuento de reticulocitos menor de 1×10^{12}/L, los glóbulos rojos presentan cuerpos de Heinz y se presenta hemoglobinemia y hemoglobinuria.

En la AHA desencadenada por medicamentos se evidencia reticulocitosis que puede llegar hasta un 30% entre el octavo al décimo día, seguido por un ascenso del hematocrito y de la hemoglobina. En la AHCNE se observa anemia normocrómica con morfología eritrocitaria normal y una médula ósea normoblástica donde esta morfología medular se cumple siempre y cuando no coexista deficiencia de folatos. En cuanto a la línea blanca, se observa una moderada leucocitosis sin cambios significativos en el diferencial y en la línea plaquetaria su recuento es variable, sin embargo esta línea no muestra ninguna alteración morfológica (1,4,14,17). Por otra parte, se han encontrado elevados niveles de lactato deshidrogenasa, LDH y de bilirrubina no conjugada; el aumento de la primera se debe a la masiva destrucción eritrocitaria ya que en estas células hay una gran presencia de LDH lo que indica lesión de la célula eritrocitaria (1,4)

Pruebas confirmatorias

Una vez se sospecha por la clínica y por los hallazgos hematológicos de deficiencia de G6PD, se debe confirmar el diagnóstico detectando la existencia o no de la enzima por medio de pruebas cualitativas y midiendo la cantidad de la enzima por pruebas cualitativas. Dentro de los métodos bioquímicos cualitativos más utilizados están la determinación de la actividad de G6PD sobre papel filtro mediante técnicas fluorescentes y el método de indofenoldiclorofenol (DPIP). El primer método permite

detectar la formación de NADPH a partir de NADP donde la limitante es la cantidad de la enzima que tenga el paciente; el NADPH se detecta visualmente como manchas fluorescentes en el papel filtro cuando se coloca bajo luz ultravioleta (UV). La prueba es positiva si no se observa fluorescencia bajo la luz UV. A diferencia de este, en el método del DPIP, se detecta la enzima G6PD a través de decoloración del marcador en un tiempo específico. Sin embargo, esta prueba no es muy usada por la baja sensibilidad y especificidad y en remplazo de esta se está usando una modificación semicualitativa (5).

La valoración cuantitativa de la enzima se hace por espectrofotometría donde se mide la reducción de NADP a NADPH en presencia de G6PD, y la actividad enzimática se lee a 340 nm. En eritrocitos normales el rango de la actividad enzimática a 30°C es de 7-10 IU/g hemoglobina (Hb) (1,4,7). Es importante tener en cuenta que estas pruebas no se pueden realizar en pacientes con crisis hemolítica aguda o reciente, debido a que el paciente como compensación presenta un aumento en el número de reticulocitos lo que puede ocasionar un falso positivo ya que se detecta una elevación de los niveles de G6PD, quedando de este modo subdiagnosticada la deficiencia (1,4,21).

La utilización de métodos moleculares tales como la reacción en cadena de la polinerasa (PCR) específica de alelo, los microarreglos, la técnica de polimorfismo conformacional de cadena sencilla (SSCP: *single strand conformational polymorphism*) y el análisis de la variación del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RLFP: *restriction fragment length polymorphism*), permiten hacer un análisis de las enfermedades genéticas y en este caso específico, conocer las causas moleculares que llevan a la deficiencia de G6PD. De estos métodos de diagnóstico molecular, la PCR es la más utilizada en estudios familiares y en diagnóstico prenatal; con el se pueden detectar mutaciones específicas de la enzima, da una información más exacta como por ejemplo el tipo de variante, lo que la hace muy útil en el tamizaje poblacional (5,7).

Conclusiones

La deficiencia de G6PD es una enzimopatía muy prevalente en el mundo caracterizada por anemia hemolítica. La anemia se debe a la incapacidad del eritrocito de generar poder reductor que lo proteje del estrés oxidativo al que esta sometido durante toda su vida. El proceso hemolítico, en algunos casos puede llegar a ser de gran intensidad hasta el punto de conducir a la muerte. Los principales agentes desencadenantes son los medicamentos o sustancias oxidantes, con menor frecuencia los procesos infecciosos y en muy pocos casos, por el consumo de habas.

Esta entidad se produce por un mecanismo de hemolisis intravascular, que se manifiesta principalmente con hemoglobinuria y anemia y se caracteriza por alteraciones cualitativas y cuantitativas, se evidencia la poiquilocitosis con células en mordedura, la policromatofilia y el aumento en el recuento reticulocitario mayor al 20% que varía dependiendo del grado de hemólisis y del tipo de factor desencadenante.

Referencias

1. Rodak BF. Defectos intracorpusculares que provocan aumento de la destrucción del eritrocito. Hematología: fundamentos y aplicaciones clínicas. 2ª edición. Editorial Panamericana. Argentina. 2005.
2. Fonseca-Carmona J, Alvarez G, Rios A, Vasquez MF. Deficiencia de glucosa 6-fostato deshidrogenasa en hombres sanos y en pacientes maláricos; Turbo (Antioquia, Colombia). Rev Bras Epidemiol. 2008; 11(2):252-65.
3. Moyano M, Méndez F. Defectos eritrocíticos y densidad de la parasitemia en pacientes con malaria por Plasmodium falciparum en Buenaventura, Colombia. Rev Panam Salud Publica. 2005; 18(1):25–32.
4. Luzzatto L. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency : from genotype to phenotype. Haematologica. 2006; 1303-1306.
5. Fonseca D, Mateus H, Silva C, Contreras N, Restrepo C. Deficiencia de glucosa 6-fosfato Deshidrogenasa: Aspectos generales de la eritroenzimopatía más frecuente en el mundo. Acta Médica Colombiana. 2005; 30(2):59-64.
6. Usanga EA, Ameen R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency in Kuwait, Syria, Egypt, Iran, Jordan and Lebanon. Human Heredity. 2000; 50:158–161.
7. Frank JE. Diagnosis and Management of G6PD Deficiency. American Academy of Family Physicians. 2005; 72(7):1277-1282.
8. Beutler E. Glucose-6phosphate dehydrogenase deficiency and other red cell enzyme abnormalities. Williams Hematology. 6ª edición. Mc Graw Hill. Medical publishing. 2001. p527-539.
9. Wanga J, Luo E, Hirai M, Arai M, Abdul-Manan EAS, Isa ZM, et al. Nine Different Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PD) Variants in a Malaysian Population with Malay, Chinese, Indian and Orang Asli (Aboriginal Malaysian) Backgrounds. Acta Med Okayama. 2008; 62(5):327-332.
10. Bonilla JF, Sánchez MC, Chuaire L. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD). Respuesta de los hematíes y otras células humanas a la disminución en su actividad. Colomb Med. 2007; 38(1):68-75.
11. Paglialunga F, Fico A, Iaccarino I, Notaro R, Luzzato L, Martini G, et al. G6PD is indispensable for erythropoiesis after the embryonic-adult hemoglobin switch. Blood. 2004; 10(10):3148-3152.
12. Baynes JW, Dominiczak MH. Metabolismo anaerobio de la glucosa en el eritrocito. Bioquímica médica. 2ª edición. Editorial Elsevier. 2005.

13. Bender D, Mayes P. La vía de las pentosas fosfato y otras vías del metabolismo de las hexosas. Murray, R, Granner D, Rodwell V. Bioquímica ilustrada de Harper. 17 edición. México DF. Manual Moderno. 2007. p187-196.
14. Acosta-Sánchez T, Núñez P, Suárez-Luengo M. Anemia hemolítica por deficiencia de G6PD y estrés oxidativo. Rev Cubana Invest Biomed. 2003; 22(3):186-191.
15. Gurpreet D, Cornett PA, Tierney LMJr. Hemolytic Anemia. American Family Physician. 2004; 69(11): 2599-2606.
16. Beutler E. Trastornos eritrocitarios: anemias debidas a destrucción aumentada de los eritrocitos con deficiencias enzimáticas. William J. Williams et al. Hematología. 2ª edición, Tomo I. Barcelona,España. Mc Graw Hill.1983. p:497-505.
17. Hoffman R, Furie B, McGlave P, Silberstein LE. Hematology: Basic principles and practice. 4ª edición. Editorial El Sevier. 2005.
18. Swissa M, Shaked Y, Garty M. Severe Methemoglobinemia and Syncope in a Patient with Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. Case Communications. Isr Med Assoc J. 2007; 9:684–685.
19. Mehta AB. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Postgrad Med J. 1994; 70:871 -877.
20. Beutler E, Duparc S, the G6PD Deficiency Working Group. Glucose 6 Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Antimalarial Drug Development. Am Soc Trop Med and Hyg. 2007; 77(4):779–789.
21. Cheyne J, Ramirez-Zarate I. Deficiencia de glucosa-6 fosfato deshidrogenasa: situación actual, su relación con malaria y estrategias para calcular su prevalencia. Universitas Médica- Pontificia Universidad Javeriana Bogotá. 2009; 50(1):58-76.
22. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. Blood. 2008; 111:16-24.
23. Beaupre SR, Schiffman FJ. Rush Hemolysis A 'Bite-Cell' Hemolytic Anemia Associated With Volatile Liquid Nitrite Use. Arch Fam Med.1994; 3:545-548.
24. Meir A, Kleinman Y, Rund D, Da'as N. Metformin-induced hemolytic anemia in a patient with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Diabetes Care. 2003; 26:956-957.
25. Lau HKY, Li CH, Lee ACW. Acute massive haemolysis in children with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Case report. Hong Kong Med J. 2006; 12(2):149-151.
26. Cossio de Gurrola et al. Kernicterus by glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a case report and review of the literature. Journal of Medical Case Reports.2008. Vol: 2.pág:146.

UNA VISIÓN AL ESTADO HIPERGLUCÉMICO HIPEROSMOLAR

Andrés F. Galindo R.[1], Nórida T. Núñez G.[1], Luis C. Ribón V.[2]

Resumen

La comprensión de la compleja gama de interacciones fisiológicas presentes en el estado hiperglucémico hiperosmolar (EHH) ha sido motivo de numerosos estudios. Su interés radica en que si se comprende todos los mecanismos por los cuales el cuerpo humano desarrolla un compromiso sistémico tan complejo, sería más factible desarrollar tratamientos cada vez más efectivos y así disminuir la mortalidad de esta enfermedad. El EHH es un estado de alteración fisiológica en el cual se comprometen múltiples vías metabólicas, que al final llevaran al desarrollo de hiperglucemia, hiperosmolaridad y deshidratación importante, sin el desarrollo de una cetoacidosis significativa y que por lo general se asocia al deterioro del estado mental y alteraciones electrolíticas. Se han descrito factores desencadenantes como: infecciones, medicamentos, baja adherencia al tratamiento médico, diabetes mellitus de novo, abuso de sustancias y descompensación de comorbilidades asociadas; todas ellas inician un cuadro clínico que abarca toda una serie de signos y síntomas característicos del EHH. En éste artículo se presentan las diferentes teorías publicadas en los últimos diez años acerca del EHH, haciendo énfasis en la epidemiología, fisiopatología, clínica y factores desencadenantes del EHH.

Palabras clave: estado hiperglucémico hiperosmolar, hiperglucemia, hiperosmolaridad, deshidratación

A VISION TO HYPEROSMOLAR HYPERGLYCEMIC STATE

Abstract

Understanding of the complexity of physiological interactions occurring in the Hyperglycemic Hyperosmolar State (HHS) has been subject of numerous studies. The interest lies in the comprehension of all the mechanisms by which the human body develops a complex systemic complication, which would allow the development of new more effective treatments that in turn would reduce the mortality of this disease. The HHS is a physiological disorder in which multiple metabolic pathways are affected, leading to the development of hyperglycemia, hyperosmolarity and dehydration without developing of significant ketoacidosis, and that is generally associated with deterioration of mental status and electrolyte abnormalities. Factors that triggers HHS have been described: Infections, drugs, poor adherence to treatment, a new diagnosed diabetes mellitus, substance abuse and decompensation of associated diseases; all these initiate a clinical state that includes a group of signs and symptoms characteristic of HHS. In this article different theories about HHS published in the last 10 years are presented, emphasizing in the epidemiology, pathophysiology, clinic and set off factors of HHS.

Key words: Hyperglycemic hyperosmolar state, hyperglycemia, hyperosmolarity, dehydration

Introducción

El término "Estado hiperglucémico hiperosmolar" (EHH) hace referencia a una complicación aguda de la diabetes *mellitus* (DM), caracterizado por hiperglucemia, hiperosmolaridad y deshidratación sin una cetoacidosis significativa y que por lo general está asociado a deterioro del estado mental (1,2). A pesar de los múltiples avances médicos en cuanto al entendimiento de su fisiopatología y tratamiento, la EHH constituye

[1] Estudiantes de XII semestre Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Docente Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
* Correspondencia: Nórida Núñez Tanita778@gmail.com . Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.

una de las principales causas de aumento de morbilidad y mortalidad en los pacientes diabéticos y es uno de los criterios de hospitalización de la DM (3,4). Los criterios establecidos por la Asociación Americana de Diabetes para el diagnóstico del EHH son (1,2):

1. Osmolaridad sérica efectiva ≥320 mOsm/Kg.
2. Nivel de glucosa plasmática > 600 mg/dl (> 33,3 mmol/l).
3. Cetonemia leve o hasta una cruz de cetonas en orina (<20 mg/dL)
4. pH sérico > 7,30.
5. Concentración de bicarbonato > 15 mEq/l.
6. Alteración del estado de conciencia, como el estupor o el coma.
7. Anión GAP < 12 mEq/l.

Un poco de historia

A través del tiempo el EHH ha recibido diferentes nombres tales como hipertonicidad no cetósica, hiperosmolaridad acetósica, coma hiperglucémico hiperosmolar no cetósico, estado hiperglucémico hiperosmolar no cetósico y finalmente, estado hiperglucémico hiperosmolar, el cual no hace mención al estado acetósico debido a que se ha comprobado que en éste estado se pueden presentar diferentes grados de cetosis, aunque no tan marcado como en la cetoacidosis diabética (CAD), otra de las complicaciones agudas de la DM y que constituye un diagnóstico diferencial con el EHH (3,5).

Esta patología fue descrita por primera vez en 1886 por Dreschfeld (36 años antes del descubrimiento de la insulina), quien descubrió que algunos pacientes adultos mayores con DM caían rápidamente dormidos, progresivamente alcanzaban la inconsciencia y posteriormente morían; en esa época la mortalidad era del 100% y constituía la principal causa de muerte en los pacientes con DM (6,7). A partir del descubrimiento de la insulina, la mortalidad por EHH disminuyó a un 29%, presentando peor pronóstico en pacientes con edades extremas y en presencia de signos de coma o hipotensión (6).

El nombre de "coma diabético hipersomolar no cetósico" fue asignado por Sament y Schwartz en 1957 debido a que observaron que algunos pacientes presentaban glucemias elevadas con cambios en el estado de conciencia pero sin disnea, aliento cetónico o presencia de cuerpos cetónicos en la orina (7-9). El primer caso de EHH descrito en la población pediátrica fue en 1966 y su incidencia se ha incrementado considerablemente en los últimos años (9).

Epidemiología

Se ha observado que un 30-40% de los pacientes con DM no diagnosticada presentan sus primeros síntomas con un EHH (10), de los cuales menos del 20% presentan alteración del estado de conciencia tipo coma (2). En la mayoría de los casos esta complicación se asocia con la DM tipo 2, aunque también se han presentado en personas con DM tipo 1 (en quienes es más frecuente la CAD) (1). La prevalencia es ligeramente mayor en mujeres que en hombres y la edad media de presentación es alrededor de la séptima década de la vida, siendo mayor en aquellas personas postradas en cama que dependen de terceros para el cuidado personal, pues debido a su incapacidad de movilización no pueden obtener líquidos para su hidratación (2). Se considera que los afroamericanos, hispanos y nativos americanos están predispuestos a desarrollar EHH debido a la alta prevalencia de DM tipo 2 en estas poblaciones (2). Igualmente, se ha observado un aumento en la frecuencia de aparición del EHH en adolescentes obesos y en niños con diagnóstico de DM tipo 2 (8).

A pesar de la baja incidencia observada en Estados Unidos, un caso por cada 1.000 personas al año (mucho menor que la CAD) y de los avances médicos relacionados con el tratamiento, la mortalidad por EHH es aproximadamente de 10-20%, valor que es más alto que el observado en las otras complicaciones de la DM; este porcentaje va aumentando proporcionalmente con la edad, tipo de enfermedades que hayan desencadenado la crisis hiperglucémica, la severidad del compromiso sistémico, las comorbilidades asociadas, los niveles de deshidratación y de osmolaridad sérica, la inestabilidad hemodinámica y el grado de conciencia (2,3,5,10). La elevada mortalidad se debe a múltiples causas, entre las cuales se encuentran la falla en el diagnóstico temprano de la enfermedad que desencadenó el EHH como por ejemplo un evento cerebrovascular o un infarto agudo del miocardio, y que por lo general esta oculta por el cuadro clínico del EHH por lo que el personal médico no lo detecta ni le da tratamiento lo que podría llevar a la muerte del paciente (10-13).

Sin embargo, un estudio realizado en el 2006 sobre la mortalidad por las crisis hiperglucémicas (sin diferenciar si es CAD o EHH) mostró que entre los años 1985 y 2002 disminuyó de manera significativa las muertes por las complicaciones agudas de la diabetes sin importar la raza ni la edad del paciente (14). Se cree que estos cambios son debidos a una disminución de la incidencia del EHH (por un aumento de la auto-monitorización de

la glucemia por parte del paciente, logrando así que se detecten más temprano los incrementos de glucosa en sangre), un aumento de la supervivencia después de un episodio (debido a la evolución de la medicina en cuanto a la monitorización y al tratamiento de las crisis) o a ambos (14).

Fisiolopatología del EHH

La glucosa que es ingerida a través de la alimentación diaria es metabolizada por el cuerpo y convertida en energía, necesaria para todas las actividades que el organismo realiza. Los alimentos entran al organismo y sufren una serie de reacciones metabólicas que convierten los carbohidratos, proteínas y grasas, en monosacáridos, aminoácidos y ácidos grasos. Una vez la glucosa es liberada en la sangre no puede penetrar por sí misma al citoplasma de las células de los diferentes tejidos, entonces es necesaria la presencia de una hormona que la ayude en este procedimiento: la insulina, la cual es uno de los factores más importantes que intervienen en la fisiopatología del EHH. Como se describió con anterioridad, el EHH es una condición caracterizada por hiperglucemia, hiperosmolaridad y deshidratación sin una cetoacidosis significativa y que por lo general está asociado a deterioro del estado mental (1,2), motivo por el cual se explicarán cada una de éstas características a continuación (ver figura 1):

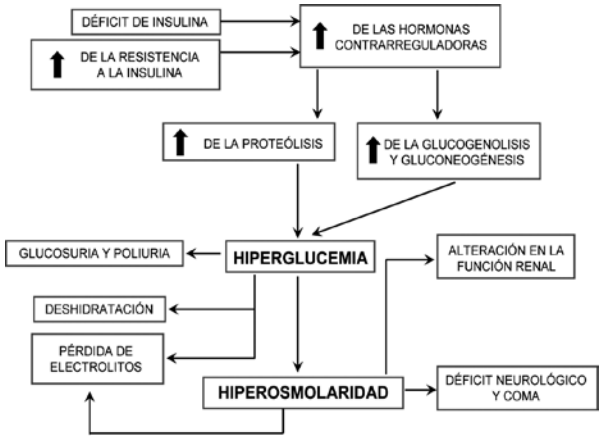

***Figura 1**: Fisiopatología del Estado hiperglucémico hiperosmolar*

Metabolismo de la insulina y desarrollo de hiperglucemia

La insulina es una hormona producida por las células pancreáticas beta, y algunas de sus funciones son ayudar en el ingreso de glucosa y proteínas a las células, inhibir la degradación proteica, estimular la reabsorción de sodio y agua en las nefronas proximales y distales y la reabsorción de fosfato en el túbulo proximal (15,16). Cuando se elevan los niveles de glucosa en la sangre debido al consumo de alimentos, la insulina es liberada al torrente sanguíneo y llega a los diferentes tejidos diana, en donde se une a los receptores de insulina localizados en la membranas de la células y que están compuestos de dos subunidades: alfa y beta. Cuando la insulina se une a una unidad alfa, induce la autofosforilación de la tirosina quinasa, que actúa como mensajero en algunas reacciones intracelulares, tales como la translocación de los receptores GLUT 4 (del inglés: *glucose transporter 4*), aumentando la capacidad de la membrana celular para permitir el paso de glucosa del compartimiento extracelular al interior de la célula, incrementándose también la captación de potasio por la célula (1).

El aumento de insulina en el torrente circulatorio en respuesta al aumento de la glucemia, hace que se inhiba la liberación de glucagón por los islotes pancreáticos elevándose el cociente insulina/glucagón; ésta relación favorece el depósito de glucosa en forma de glucógeno en el hígado y músculo, activa la lipogénesis en los adipocitos y la captación de aminoácidos por el músculo (1). Al contrario, durante los períodos de ayuno disminuye la secreción de insulina, por lo que no hay inhibición del glucagón y éste aumenta a nivel plasmático, alterándose el cociente insulina/glucagón, dando como resultado la glucogenolisis hepática, mecanismo que mantendrá los niveles de glucosa plasmática en los rangos normales; también se activará la lipólisis y la formación de cuerpos cetónicos por el tejido hepático (1).

Se desarrollará hiperglucemia patológica cuando la actividad de la insulina no se presenta de forma adecuada durante el estado postprandial tardío, lo que hace que los tejidos periféricos no capten adecuadamente la glucosa, los músculos y el hígado son incapaces de extraer glucosa del medio extracelular y almacenarla como glucógeno y no hay inhibición del glucagón, éste aumenta en el plasma y estimula a los hepatocitos para iniciar la gluconeogénesis, dando como resultado el aumento de la producción plasmática de glucosa, que empeora la hiperglucemia presente (1,15). En la gluconeogénesis se activan enzimas propias de esta vía como la piruvato carboxilasa, la fosfoenol piruvato carboxiquinasa y la fructosa 1,6 bisfosfatasa, las cuales metabolizan una gran cantidad de sustratos que no se originan de los carbohidratos, como el piruvato, el lactato, el glicerol y la alanina en el hígado y el piruvato, el lactato, el glicerol y la glutamina por la corteza renal, para formar glucosa (11).

Por otro lado, la actividad irregular de la insulina hace que se altere el transporte de aminoácidos al interior de la célula, se pierde la inhibición de la proteólisis y se altera la síntesis proteica; todo esto en conjunto genera un catabolismo proteico que tendrá como objetivo utilizar los aminoácidos como precursores gluconeogénicos por el hígado; estos cambios metabólicos llevan a la persona a perder masa muscular (lugar de dónde se obtienen los aminoácidos) y por consiguiente a experimentar una significativa pérdida de peso (15,16). En la DM tipo 2 la deficiencia de insulina es producto de un defecto en la liberación de la hormona debido al efecto tóxico directo de la glucosa sobre las células beta pancreáticas, originándose una insulinopenia relativa (1). Además, en la DM tipo 2 hay una reducida sensibilidad de los tejidos a los efectos de la insulina, conocida como resistencia a la insulina, que puede ocurrir por: 1) una deficiencia o alteración estructural de los receptores de insulina en las membranas celulares, 2) una disminución de la producción de insulina por las células beta del páncreas o 3) por un defecto en la configuración química de la insulina, lo que provocaría dificultades en la entrada de glucosa a la célula (1).

La resistencia a la insulina se puede desarrollar debido a: la obesidad, un embarazo, nutrición parenteral, algunos fármacos inmunosupresores como las ciclosporinas, o por elevados niveles circulantes de hormonas contrarreguladoras de la insulina como la adrenalina, el glucagón, la hormona del crecimiento y el cortisol, los cuales se elevan cuando la persona presenta una enfermedad aguda (infecciones sistémicas, infarto agudo del miocardio, pancreatitis, entre otras), estrés (cirugía, alteraciones psiquiátricas, traumas múltiples) o enfermedades que aumentan la producción de éstas hormonas (feocromocitoma, glucagonoma, acromegalia y síndrome de Cushing) (1).

El aumento del nivel plasmático de las hormonas contrarreguladoras conlleva a una disminución en la captación de glucosa por los tejidos periféricos, lo que predispone al desarrollo de hiperglucemia (10,17,18). Específicamente, la hipercortisolemia aumenta la proteólisis (que lleva a la producción de aminoácidos precursores en la gluconeogénesis como la alanina y la glutamina) y aumenta la actividad de las enzimas gluconeogénicas; el aumento del nivel de glucagón incrementa la glucogenolisis (el glucógeno en el músculo es catabolizado en ácido láctico, viaja al hígado en dónde sirve de precursor para la gluconeogénesis); el bajo nivel de insulina junto con la elevada concentración de catecolaminas disminuirá la captación de glucosa por los tejidos e inducirá la glucogenolisis y la combinación de una elevada producción de glucosa junto con la disminución del uso periférico de ésta es la causa principal del desarrollo de hiperglucemia en el EHH (10,13,16-18).

Una característica importante del EHH es que el aumento de los niveles de hormonas contrarreguladoras de insulina no es tan marcado como en la CAD y que los niveles de insulina son mucho más elevados en el EHH que en la CAD, lo que podría marcar la diferencia entre estas dos complicaciones de la diabetes; sin embargo, no se conoce que es lo que induce éstas diferencias (1,11). La característica principal del EHH es la deficiencia de la actividad de la insulina (ya sea parcial o completa), la cual puede estar dada por un aumento de la resistencia periférica de los tejidos o por un inadecuado aporte de ésta hormona, ya sea por vía endógena o exógena. Esto lleva al desarrollo de tres procesos principales: gluconeogénesis, glucogenolisis y pobre utilización de la glucosa por los tejidos periféricos ya descritos previamente (1,13,16).

Desarrollo de hiperosmolaridad y deshidratación

Todos los procesos anteriormente mencionados conducen al desarrollo de una hiperglucemia severa, la glucosa presente en el plasma actúa como una partícula osmóticamente activa capaz de atraer líquidos y electrolitos (sodio y potasio, entre otros) del compartimento intracelular al compartimento extracelular, generándose el estado hiperosmolar y como consecuencia se produce la deshidratación celular y una expansión del compartimiento extracelular llevando a la dilución del sodio plasmático (10,17). La expansión del espacio extracelular temporal que se presenta al inicio del cuadro del EHH, produce un aumento de la tasa de filtración glomerular renal que posteriormente conduce al desarrollo de poliuria, durante la cual hay pérdida de agua y electrolitos por la orina, produciéndose así la deshidratación corporal (15).

Generalmente en el EHH la deshidratación es crónica (días a semanas), presentándose principalmente en adultos mayores con algún tipo de enfermedad limitante que les dificulta la ingesta constante de líquidos (2). Debido a la deshidratación severa presente en éstos pacientes existe un elevado riesgo de desarrollar trombosis vascular (sobre todo de los vasos cerebrales y mesentéricos); además, la DM es considerada como un estado de hipercoagulabilidad, factor de riesgo conocido para el desarrollo de tromboembolismo de

arterias coronarias, cerebrales, mesentéricas y de vasos periféricos. Por lo tanto, con la presentación de estos dos factores, el riesgo de tromboembolismo durante un episodio de EHH es muy alto; sin embargo, son pocos los casos reportados del tromboembolismo como una complicación del EHH (8,19).

Bajo circunstancias normales, toda la glucosa que es filtrada por el riñón es reabsorbida en el túbulo proximal y muy poca se elimina en orina, pero cuando la glucemia sobrepasa valores de 180 mg/ml se satura el transportador de glucosa del túbulo proximal y no es posible su reabsorción, entonces se filtra en exceso, viaja hasta la nefrona distal y es eliminada en la orina, arrastrando consigo agua y electrolitos (sodio, potasio y cloro que se pueden reponer de manera terapéutica en el servicio de urgencias; calcio, magnesio y fosfato que requieren de días a semanas para ser corregidos), produciendo así una diuresis osmótica que tiene como efecto principal la disminución del agua corporal total (aproximadamente 8-12 litros ó 10-15% del peso corporal) (1,10,17,18).

Si no se corrige la pérdida renal de agua con la ingesta de líquidos, se origina una deshidratación progresiva y severa en donde fácilmente se puede desarrollar hipovolemia e hipotensión arterial, comprometiendo así la perfusión renal y llevando al desarrollo de oliguria, la cual exacerba la hiperglucemia y la hiperosmolaridad debido a que no es posible evacuar el exceso de glucosa del cuerpo a través de la orina (1,5,10).

Alteraciones electrolíticas

Con respecto a los electrolitos, el EHH se asocia con una pérdida del potasio corporal total alcanzando valores de 3-15 mmol/Kg del peso corporal. Al momento del examen la concentración plasmática de éste podría aparecer normal a elevado, debido a que el agua que fue arrastrada del espacio intracelular por la hiperosmolaridad atrajo consigo el potasio intracelular al espacio extracelular (donde se toma la muestra para laboratorio, por lo que se puede obtener una hiperpotasemia falsa), para después eliminarse a través de la orina, desarrollándose una hipopotasemia verdadera, el cuadro clínico que puede empeorar si la persona presenta baja ingesta oral de potasio, vómito o hiperaldosteronismo (17,20).

Por otro lado, al pasar el agua del espacio intracelular al espacio extracelular se diluye el sodio, produciéndose una pseudohiponatremia en las fases tempranas del EHH, al avanzar la enfermedad se inicia la pérdida de sodio en orina alcanzando valores de 5-13 mmol/kg, la profunda deshidratación que ocurre en la evolución del EHH lleva posteriormente a la normonatremia y en fases tardías a la hipernatremia. Además, la hipovolemia favorece una mayor liberación de hormonas contrarreguladoras que exacerban la hiperglucemia y contribuyen a la resistencia a la insulina. Lo que son fosfato, magnesio y calcio también se pierden por ésta vía en un valor aproximado de 1-2 mmol/kg. Es importante tener en cuenta estos cambios hidroelectrolíticos para darles un tratamiento adecuado, pues una hipopotasemia puede producir alteraciones en la despolarización de las células miocárdicas pudiendo llevar a arritmias ventriculares o asistolia (7,13,17).

Cuerpos cetónicos

A pesar de que en el EHH se eleva de manera importante la concentración de glucagón y en teoría se debería activar la cetogénesis, la cetoacidosis que se presenta en esta patología no es tan significativa como se esperaría. Actualmente se están estudiando las diferentes teorías que se han formulado para tratar de explicar el mecanismo fisiopatológico de este fenómeno; una de las teorías explica que el nivel plasmático de insulina es lo suficientemente elevado como para inhibir la lipólisis y por lo tanto la cetogénesis, pero no para estimular la captación de glucosa a nivel periférico, prevenir la gluconeogénesis hepática y el desarrollo de hiperglucemia. Además, la hiperosmolaridad por sí misma podría inhibir la lipólisis, limitando la liberación de ácidos grasos libres necesarios para el inicio de la cetogénesis (2,10). Otra teoría explica la ausencia de cetoacidosis y la escasa producción de cuerpos cetónicos por los bajos niveles de ácidos grasos libres en el momento en el que se desencadena la crisis. Otra teoría explica que la no activación de la cetogénesis en el hígado se debe al elevado nivel de insulina a nivel de la vena porta hepática (15,17).

Compromiso neurológico

Una de las características del EHH es el compromiso neurológico, en donde se presentan severas alteraciones electrolíticas en asociación con hipotensión (1). Contrario a los demás tejidos del cuerpo, las neuronas no están en contacto directo con la sangre y no poseen sistemas reguladores de entrada de glucosa (es decir, no son insulino-dependientes), por lo que necesitan del metabolismo de otras células para extraer los sustratos de la sangre (21). Estas células son los astrocitos, que por su localización alrededor de los capilares del parénquima

cerebral en donde se encuentra la glucosa, desempeñan un papel fundamental en el flujo de sustratos energéticos hacia las neuronas, siendo la primera barrera celular que la glucosa debe superar para penetrar en el cerebro, y al ser estimulados por el glutamato, extraen la glucosa de la sangre mediante la activación de los transportadores GLUT 4 activados por la insulina y una vez en el citoplasma es fosforilada a glucosa-6-fosfato, continuando su metabolismo a través de la glicólisis, produciéndose entonces piruvato (necesario para el metabolismo del astrocito) y en mayor proporción, lactato, que sale del astrocito por el canal MTC1 (del inglés: *monocarboxylate transporter 1*) y es captado por la neurona mediante el canal MCT2, donde es reoxidado a piruvato, sustrato disponible para ser utilizado en las actividades metabólicas neuronales; aunque éstas también pueden captar piruvato del medio extracelular (21).

El glucógeno es la principal reserva energética del cerebro y está presente principalmente en los astrocitos, células del plexo coroideo, ependimal y algunas neuronas del tallo cerebral. El cerebro es considerado como un tejido de depósito del glucógeno, controlado por el glutamato, la noradrenalina, la serotonina y la histamina. Una disminución de los niveles de glucosa ocasiona una pérdida de glucógeno, mientras que la insulina y los factores de crecimiento análogos incrementan los niveles de glucógeno almacenados en los astrocitos, razón por la cual, un daño en los astrocitos comprometería de manera importante el aporte de energía a la neurona. En los casos como el del EHH en dónde se produce una deshidratación celular severa, hace que se deteriore la función de los astrocitos, complicando el aporte de nutrientes a las neuronas, propiciando así el desarrollo de los síntomas neurológicos de la enfermedad (21).

Debido a la importancia de mantener la integridad de los astrocitos y de las neuronas, es indispensable que el sistema nervioso central (SNC) posea un sistema de defensa que le permita protegerse ante cambios metabólicos bruscos provocados por hiperglucemia o hiperosmolaridad y que le permita mantener su integridad funcional a pesar del cambio de concentración del exterior. El SNC contiene sistemas reguladores que permiten su adaptación a los estados hiperosmolares y, en algunos casos, evitar un daño de las neuronas por un breve período de tiempo. Minutos después del desarrollo de un estado hiperosmolar, la elevada carga de osmoles presentes en el líquido extracelular hace que el agua del interior de las células del SNC pase al líquido extracelular, ocasionando una disminución en el tamaño del cerebro debido a la deshidratación. Varias horas después del inicio del estado hiperosmolar las células del SNC aumentan la captación de osmoles, lo que hace que aumente la osmolaridad dentro del citoplasma, promoviendo un relativo arrastre de agua del líquido extracelular al intracelular, aumentando así el volumen del cerebro aunque no hasta su tamaño normal, proceso conocido como la fase rápida de adaptación (22).

El retorno al volumen normal del cerebro se completa días después de haber iniciado el estado hiperosmolar, en dónde las células captan tantos osmoles que sobrepasan la elevada osmolaridad del espacio extracelular (las células del SNC entran a un estado hiperosmolar), permitiendo un arrastre de un volumen de agua suficiente para restablecer el volumen normal del cerebro, proceso conocido como la fase lenta de adaptación. Sin embargo, el sistema no es completamente eficaz, ya que, aunque proporcione una solución inmediata para la hiperposmolaridad y sus consecuencias en el cerebro, no soluciona la alteración osmótica por la que está pasando el cuerpo; por lo tanto, se requiere la intervención médica para corregir el delicado estado del paciente para evitar que se produzca una consecuencia grave. Es importante tener en cuenta este sistema de adaptación cerebral al momento de iniciar un tratamiento para el estado hiperosmolar, pues una rehidratación rápida podría llevar a un ingreso excesivo de agua a las células del SNC produciendo un edema cerebral (22).

Factores desencadenantes de EHH

En general, cualquier entidad que predisponga a la deshidratación puede desencadenar un EHH como por ejemplo, las enfermedades que afecten la función mental, que comprometan la comunicación o que limiten la movilidad del paciente, ya que hacen que la persona dependa de otros para acceder a líquidos (2,10). Los factores precipitantes pueden dividirse en seis categorías (5):

1. Infecciones: son el principal factor desencadenante del EHH; el 57,1 % de los casos son ocasionados por este factor. La infección más frecuente es la neumonía por bacterias gram negativas, seguido en frecuencia por la infección de vías urinarias y en tercer lugar se encuentra la sepsis de cualquier origen. Otras infecciones menos frecuentes son la celulitis y las infecciones dentales (2,5).
2. Medicamentos: todos los fármacos que aumenten los niveles séricos de glucosa, que inhiban la insulina o que produzcan deshidratación podrían desencadenar un EHH; algunos ejemplos son: diuréticos de asa o

tiazídicos, beta bloqueadores, antipsicóticos atípicos (clozapina y olanzapina), clorpromazina, cimetidina, bloqueadores de canales de calcio, agentes quimioterapéuticos, diasóxido, glucocorticoides, fenitoina, nutrición parenteral total, diálisis peritoneal, administración de fluidos que contengan dextrosa, fármacos inmunosupresores, entre otros (2,5,10).

3. Baja adherencia al tratamiento médico: el 21 % de los casos son inducidos por este factor, es más común en aquellos pacientes con bajo conocimiento de su enfermedad, con pocos controles periódicos, con complicaciones crónicas de la diabetes y coomorbilidades que limiten la calidad de vida o compromiso de la función cognitiva (5,10,23). Además, los pacientes con mal control de cifras glucémicas tienen mayor riesgo de desarrollar EHH (23). Es muy frecuente en los pacientes pediátricos o en los adultos mayores en dónde ocurre maltrato por descuido en el tratamiento de la diabetes por parte de los cuidadores (2).
4. DM no diagnosticada: La característica principal es la falla en el reconocimiento de los síntomas tempranos de la enfermedad, la cual evoluciona hasta desarrollar el EHH (5).
5. Abuso de sustancias: Varios estudios han demostrado que el uso o abuso del alcohol o cocaína son factores desencadenantes de un EHH (5).
6. Coomorbilidades asociadas: se produce un estrés fisiológico desencadenado por una enfermedad aguda, en dónde ocurre una alteración de las hormonas contrarreguladoras de insulina y a una activación de la respuesta inmune que favorecen los niveles elevados de glucosa. Algunos ejemplos son: hemorragia intracraneal, accidente cerebro vascular, infarto agudo de miocardio, tromboembolismo pulmonar o trombosis mesentérica, tumores productores de hormona adenocorticotropica, síndrome de Cushing, hipertermia, hipotermia, pancreatitis, quemaduras severas, tirotoxicosis, hemorragia gastrointestinal entre otros. Se ha encontrado que el estrés metabólico del trauma y de las cirugías recientes agravan el control de las cifras de glucemia y pueden desencadenar un EHH. Además, el riesgo aumenta en pacientes con falla renal e insuficiencia cardiaca congestiva (2,5,10,23).

Clínica

Al momento de abordar un paciente con sospecha de cursar con una descompensación diabética se debe preguntar sobre el tiempo de evolución del cuadro clínico y prestar especial atención a los siguientes parámetros: 1) permeabilidad de la vía aérea, 2) estado mental, 3) estado cardiovascular y renal, 4) focos de infección y 5) estado de hidratación (3). La clínica del EHH por lo general aparece en personas con historia de DM tipo 2, aunque hay que tener en cuenta que en un 30-40% de los casos son diagnosticados con el EHH (2,24). La crisis puede durar de días a semanas (aproximadamente 12 días, excepto cuando hay una causa aguda precipitante), período de tiempo durante el cual se presentarán los síntomas típicos de la diabetes mellitus: poliuria (aumento de la frecuencia miccional), polidipsia (aumento de la necesidad de ingerir líquidos) las cuales reflejan la diuresis osmótica secundaria a la hiperglucemia, polifagia (aumento de la ingesta de alimentos), debilidad y alteraciones visuales (10,24,25). Posteriormente se desarrolla la deshidratación, en la cual se incluyen los síntomas de debilidad, anorexia, pérdida de peso y calambres musculares, e inician los síntomas neurológicos como somnolencia, confusión y letargia (5,10,15).

Rara vez los pacientes desarrollan síntomas gastrointestinales como náuseas, emesis o dolor abdominal; si se presenta dolor abdominal, se deberá evaluar las causas del abdomen agudo (como por ejemplo una isquemia mesentérica), las cuales muy probablemente sean el origen de la descompensación diabética (5,10,15,24). Por otro lado, a pesar de que uno de los factores desencadenantes más frecuentes son las infecciones, la persona rara vez desarrolla fiebre, presentándose en la mayoría de los casos normotérmicos o hipotérmicos debido a la vasodilatación periférica inicial o a la poca captación de sustratos que impiden la formación de energía y por lo tanto no se desarrolla fiebre. La hipotermia es considerada como un signo de mal pronóstico (2,3,12,16,17,24,25).

Si el paciente no recibe tratamiento inmediato para el EHH, se desarrollarán síntomas neurológicos más severos debido a la deshidratación cerebral, cambios de los niveles de neurotransmisores en el SNC e isquemia microvascular. Los síntomas neurológicos son frecuentes, apareciendo en el 74% de los casos. Se pueden presentar pacientes completamente alerta al inicio del cuadro, pero es típico el deterioro hacia la confusión y letargia en el 23% de los casos; en el 15% de los casos se puede presentar delirio, convulsiones focales o generalizadas (siendo más frecuentes las convulsiones parciales motoras), hemianopsias, afasias, hemiparesias, signo de Babinski positivo, contracciones mioclónicas, cambios en el tono muscular, alteraciones del sensorio, nistagmus, desviación ocular, gastroparesia (produce

distensión abdominal que se resuelve inmediatamente después de la rehidratación), corea y por último el estado de coma, el cual se presenta en menos del 20% de los pacientes, y con mayor frecuencia, en mayores de 65 años (1,3,5,10,12,15,26).

El estado de conciencia se correlaciona directamente con el estado hiperosmolar, pues las alteraciones del estado de conciencia son muy poco frecuentes con osmolaridades menores de 340 mOsm/l; en el rango de 340-350 mOsm/l pueden aparecer algunos signos y síntomas neurológicos y a partir de los 350 mOsml/l o más, es muy probable el desarrollo de coma. Es importante destacar que todos estos signos y síntomas neurológicos desaparecen con el tratamiento temprano y apropiado. Se cree que esta relación estado mental /osmolaridad podría deberse al nivel de deshidratación intracelular cerebral, a los cambios en los niveles de neurotransmisores y a la microisquemia (1,3,5,10,12,15,18,26).

Por otro lado, hay que tener en cuenta que en la mayoría de los casos éstos síntomas corresponden a un accidente cerebro vascular, por lo tanto el personal médico tiene que tener en cuenta entre los diagnósticos diferenciales ésta enfermedad, especialmente si el paciente no tiene antecedentes de diabetes mellitus (1,2,7). Se ha demostrado que la hiperglucemia es frecuente en pacientes con accidente cerebro vascular, y está asociada a un peor pronóstico en la terapia de reperfusión debido a la acelerada formación de placas ateromatosas en la vascualtura del SNC, alteraciones del metabolismo de lípidos, inhibición de la vasodilatación cerebral mediada por la hiperglucemia y producción de metabolitos que son tóxicos para el endotelio, lo que evita una adecuada perfusión a los tejidos aún con un tratamiento pertinente (27).

Al examen físico del paciente con EHH se puede apreciar debilidad generalizada y signos físicos de deshidratación (enoftalmos, mucosas secas, disminución de la turgencia de la piel, extremidades frías al tacto, taquicardia e hipotensión; aunque estos signos pueden estar presentes en personas ancianas sin que necesariamente haya deshidratación) también se pueden encontrar alteraciones del estado de conciencia con síntomas neurológicos previamente mencionados (2,3,5,12). El paciente puede presentar taquipnea como respuesta a la hipotensión arterial, mas no se desarrolla la respiración de Kussmaul debido a la leve o a la ausencia de acidosis, por la misma razón tampoco se desarrolla el aliento cetónico o a frutas(10,20,25).

Con respecto a los signos vitales la taquicardia es un signo temprano de deshidratación y la hipotensión arterial es un signo tardío sugestivo de deshidratación profunda debido a la pérdida de líquidos secundaria a la diuresis osmótica, por ésta razón, se puede presentar el signo de la hipotensión ortostática, el cual consiste en la caída de la presión arterial sistólica alrededor de 20 mmHg o más cuando el paciente pasa de la posición sentada a la bipedestación (2,15). Puede aparecer hiperreflexia no al principio del cuadro del EHH sino con el inicio del tratamiento, debido a que éste produce una caída de la concentración sérica del potasio (15). Por último, puede haber signos físicos de infección (como una celulitis o signos de neumonía) o de una diabetes preexistente (obesidad, acantosis nigricans y dermopatía diabética) (10).

Conclusiones

El EHH es una complicación aguda de la diabetes *mellitus* y es una de las principales causas de aumento de la morbilidad y la mortalidad en los pacientes diabéticos, presentándose con mayor frecuencia en la DM tipo 2 que en la tipo 1. En Estados Unidos la incidencia es de un caso por cada 1000 personas y la mortalidad alcanza un 10-20% dependiendo de las diferentes variables de cada individuo y de la habilidad del personal médico para detectar y dar tratamiento a la causa precipitante. Se presenta más frecuente en mujeres que en hombres y la edad de aparición es alrededor de la séptima década de la vida; se considera que los afroamericanos, hispanos y nativos americanos están más predispuestos a desarrollar EHH por la elevada prevalencia de DM tipo 2 en éstas poblaciones.

El EHH es una entidad compleja que aun no ha sido entendida completamente; se han descrito diferentes teorías que tratan de explicar el proceso fisiopatológico que puede llevar a la persona a la muerte. Hasta la fecha se han estudiado diferentes mecanismos de la enfermedad los cuales incluyen el metabolismo de la insulina y desarrollo de hiperglucemia, desarrollo de hiperosmolaridad y deshidratación, alteraciones electrolíticas, teorías de los cuerpos cetónicos y compromiso neurológico. Cada uno de estos procesos involucra una interacción compleja entre diferentes vías metabólicas descritas previamente en el artículo y que llevan al desarrollo del EHH.

Los procesos observados han permitido avanzar en la comprensión de la clínica de la enfermedad, como por ejemplo la deshidratación que lleva a aparición de

poliuria, polidipsia, polifagia y síntomas neurológicos y el papel fundamental del los factores desencadenantes para el desarrollo del EHH, aunque no se ha comprendido completamente estas correlaciones. Por lo tanto se hace necesario diseñar otros estudios que permitan dar solución a las interrogantes que se tienen sobre los mecanismos fisiopatológicos presentes en el EHH y con el objetivo de diseñar tratamientos más eficaces que disminuyan la mortalidad de ésta enfermedad.

Referencias

1. Gonzalez-Campoy. Hyperosmolar Coma. eMedicine. 2009; 1-15.
2. Sergot PB, Lewis NS. Hyperosmolar hyperglycemic state. eMedicine.2010; 1-16.
3. Kitabchi A, Umpierrez GE, Murphy MB, Barrett EJ, Kreisberg RA, Malone JI, et al. Management of hyperglycemic Crises in patients with diabetes. Diabetes care. 2004; 24: 131-153.
4. American diabetes association. Hospital admission guidelines for diabetes mellitus. Diabetes care. 2003; 26:S118.
5. Stoner GD. Hyperosmolar Hyperglycemic State. Am Fam Physician. 2005; 71:1723-1730.
6. Álvarez LC, Lozano JJ, Vargas G, Rubio A. Causas principales para desarrollo de crisis hiperglucémicas en pacientes con diabetes mellitus en la Secretaría de Salud del Distrito Federal. Rev Fac Med UNAM. 2008; 51:235-238.
7. Ting JY. Hyperosmolar diabetic non-ketotic coma, hyperkalaemia and an unusual near death experience. Eur J Emerg Med. 2001; 8:57-63.
8. Venkatraman R, Singhi SC. Hyperglycemic hyperosmolar nonketotic syndrome. Indian J Pediatr. 2006; 73:56-60.
9. Rosenbloom AL. Hyperglycemic Hyperosmolar State: An Emerging Pediatric Problem. J Pediatr. 2010; 156:180-184.
10. Nugent BW. Hyperosmolar hyperglycemic state. Emerg Med Clin N AM. 2005; 23:629-648.
11. Umpierrez GE, Murphy MB, Kitabchi AE. Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar syndrome. Diabetes spectrum. 2002; 15:28-36.
12. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. Diabetes care. 2006; 29:2739-2748.
13. Vargas H, Correa ME, Meza IA, Restrepo DM. Cetoacidosis diabética y síndrome hiperosmolar hiperglicémico. Revista facultad de ciencias de la salud UNICAUCA. 2004; 6:20-28.
14. Wang J, Williams DE, Narayan K, Geiss lS. Declining death rates from hyperglycemic crisis among adults with diabetes, U.S., 1985–2002. Diabetes care. 2006; 29:2018-2022.
15. Barbosa J, Rojas W. Cetoacidosis diabetica y estado hiperosmolar. Repertorio de medicina y cirugía. 2001; 10:8-17.
16. Omrani GR, Afkhamizadeh M, Shams M, Kitabchi AE.Hyperglycemic Crises in Diabetic Patients. SEMJ. 2004; 5:1-11.
17. Chiasson JL, Aris-Jilwan N, Bélanger R, Bertrand S, Beauregard H, Ékoé JM, Et al. Diagnosis and treatment of diabetic ketoacidosis and the hyperglycemic hyperosmolar state. CMAJ. 2003; 168:859-866.
18. Kitabchi AE,Nyenwe EA. Hyperglycemic crises in diabetes mellitus: Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state. Endocrinol Metab Clin N Am. 2006; 35:725-751.
19. Park J, Kim DJ, Kim HY, Seo JA, Kim SG, Baik SH, Et al. Extensive venous thrombosis of the upper extremity in a diabetic patient with a hyperosmolar hyperglycemic state. Korean J Intern Med. 2006; 21:244-247.
20. Fowler M. Hyperglycemic Crisis in Adults: Pathophysiology, Presentation, Pitfalls, and Prevention. Clinical Diabetes. 2009; 27:19-23.
21. Blázquez Ortiz C. Cetogénesis en astrocitos: Caracterización, regulación y posible papel citoprotector. Universidad complutense de madrid. 2001; 1-85.
22. Adrogué HJ, Madias NE. Hypernatremia. N Engl J Med. 2000; 342:1493-1499.
23. American diabetes association. Standards of medical care in diabetes—2010. Diabetes care. 2010; 33:S11-S61.
24. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. Diabetes care. 2009; 32:1335-1343.
25. American diabetes association. Hyperglycemic crises in diabetes. Diabetes care. 2004; 27:S94-S102.
26. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American diabetes association. Diabetes care, 2007; 30:e76.
27. Mandava P, Kent TA. Metabolic disease and stroke – hyperglycemia / hypoglycemia. eMedicine. 2010; 1-10.

DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE LA SÍNTESIS Y/O TRASLOCACIÓN DEFECTUOSA DE SGLT1 EN EL SÍNDROME DE MALABSORCIÓN DE GLUCOSA Y GALACTOSA

Angie V. Amador R.[1], Laura C. Leal F.[1], Luz C. Martínez M.[1], Angie V. José Mikán[2]*

Resumen

El síndrome de malabsorción de glucosa y galactosa (GGM) es una enfermedad autosómica recesiva, causada por diversos cambios genéticos que producen un error en el gen que codifica la proteína encargada del la absorción de glucosa y galactosa a nivel de la luz intestinal; la mayoría de estas anomalías corresponden a mutaciones de cambio de sentido en las cuales aunque se traduce la proteína completa, se observa un defecto en el transporte de la misma hacia la membrana plasmática. Por otro lado, otras mutaciones menos prevalentes como las mutaciones sin sentido, que producen cambios en el marco de lectura y las mutaciones en el sitio de *splicing*, no generan cambios en la normal expresión del cotransportador en la membrana, pero si se producen anomalías estructurales, que la convierten en no funcional. El síndrome de GGM se caracteriza por una diarrea acuosa profusa, la cual puede ser controlada con la eliminación de glucosa y galactosa de la dieta, y reemplazarlos por fructosa, ya que este azúcar usa una vía de absorción diferente. El objetivo de este artículo es hacer una descripción de este síndrome y utilizar algunos métodos de biología molecular y análisis genético para plantear un nuevo método diagnóstico realizable en las primeras 24 horas de nacimiento.

Palabras clave: malabsorción de glucosa y galactosa, proteínas SGLT1, polimorfismo

EARLY DIAGNOSIS OF DEFECTIVE SYNTHESIS AND/O TRANSLOCATION OF SGLT1 IN THE GLUCOSE AND GALACTOSE MALABSORPTION SINDROME

Abstract

Glucose-galactose malabsorption syndrome is an autosomal recessive disorder, caused by various genetic changes that alter the protein responsible for the absorption of glucose and galactose from the intestinal lumen; most of these anomalies correspond to missense mutations in which a correct translation of the protein is presented, however its expression in the cell membrane does not occurred. On the other hand, other less prevalent mutations taking place, such as nonsense mutations, changes in the open reading frame and mutations in the splicing site, result in normal expression of the co-transporter in the membrane, but with certain structural abnormalities that makes it non-functional. Glucose-galactose malabsorption is characterised by profuse watery diarrhea, which can be controlled with the removal of glucose and galactose in the diet, replacing them by fructose, since this sugar uses another intake way. A method for the diagnosis of this illness during the first 24 hours of birth is proposed, by means of molecular biology and genetic analysis.

Key words: Glucose-galactose malabsorption, SGLT1 protein, polymorphism

[1] Estudiante de V semestre, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.
[2] Docente de Ciencias Básicas, Universidad Militar Nueva granada, Bogotá, Colombia.
* Correspondencia: Angie V. Amador R. vaneamadorz12@hotmail.com. Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar nueva Granada, Bogotá, Colombia.

Introducción

El síndrome GGM es un desorden autosómico recesivo, lo que significa que ambas copias del gen, localizado en el cromosoma 22q13.1, deben estar mutadas para que pueda observarse el fenotipo. Cuando los progenitores no presentan el fenotipo pero éste si se observa en la descendencia, se debe a que tanto el padre como la madre posean una copia del gen mutado, el cual es enmascarado por el gen no mutado. Es un síndrome raro, solo unos pocos casos de malabsorción de glucosa y galactosa severa se han diagnosticado especialmente, en hijos de parejas con un vínculo familiar. Sin embargo, se cree que hasta un 10% de la población Norteamericana tiene una copia del gen alterado, en quienes se observa una disminución en la capacidad de absorción de glucosa, sin presentar otros problemas de salud asociados, condición que puede ser una variante más leve de GGM.

Los individuos afectados por este síndrome heredan dos copias defectuosas de *slg5A1*, gen que codifica para el cotransportador de Sodio/Glucosa del borde en cepillo del epitelio intestinal (conocido como SGL5A1 o también SGLT1). Este transportador se encarga básicamente de la acumulación en los enterocitos, de los monosacáridos glucosa y galactosa, provenientes de la digestión enzimática de los disacáridos de la dieta en la luz intestinal. Usualmente las mutaciones en estos individuos generan la traducción de proteínas SGLT1 truncadas y no funcionales o en una inapropiada localización de las proteínas, y como consecuencia estas no puedan transportar la glucosa/galactosa fuera del lumen intestinal, provocando un defecto en el transporte de glucosa y galactosa a través del revestimiento intestinal, ocasionando una diarrea osmótica y acidosis metabólica, características en este síndrome (1,2).

Síndrome de malabsorción de glucosa y galactosa (GGM)

El síndrome de GGM puede ser considerado como uno de los desordenes genéticos de los transportadores de membrana más estudiados (3). Este síndrome es debido a un defecto en el cotransportador de glucosa y galactosa acoplado a sodio conocido como SGLT1, también llamado NAGT, D22S675 y SLC5A1, que se encuentra en la membrana apical del enterocito (4).

Estructura del cotransportador

El SGLT1 es una proteína de membrana compuesta por 664 aminoácidos, los cuales forman una estructura secundaria característica de alfa hélice, con catorce segmentos transmembranales, donde sus grupos amino y carboxilo terminales se ubican del lado extracelular y tiene un sitio glicosilado entre los segmentos 6 y 7 (5). Este cotransportador se expresa principalmente en el epitelio del intestino delgado y el epitelio tubular renal, específicamente en el túbulo contorneado proximal, que son los encargados de la absorción y de la reabsorción de nutrientes (5).

Transporte de glucosa y galactosa

El transporte de la glucosa al interior celular constituye un proceso esencial para el metabolismo energético y en consecuencia para los procesos vitales y se realiza a través de la membrana celular por medio de dos mecanismos: en primer lugar, por las proteínas facilitadoras de transporte de glucosa (GLUT) y por otro lado, por los SGLT1 (Figura 1) (5).

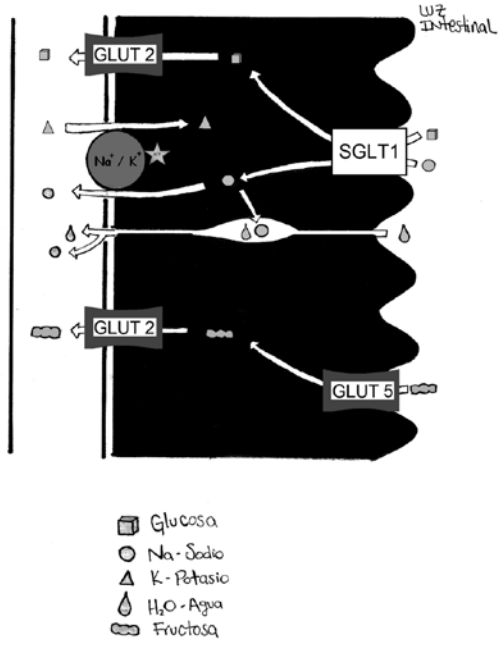

***Figura 1**. La absorción de la glucosa en el epitelio intestinal implica el co-transporte de Na+ por el SGLT-1 y el mantenimiento del gradiente de Na+ gracias a la bomba de Na+/K+. De forma secundaria y salida de Na+ al espacio basolateral genera la suficiente fuerza osmótica para arrastrar y absorber agua hacia los capilares. La fructosa se absorbe mediante otro tipo de transportador, el Glut-5. Finalmente, el paso de la glucosa y la fructosa hacia la sangre se lleva a cabo a través del Glut-2, un transportador de baja afinidad y alta capacidad de transporte (5).*

Las proteínas de la superfamilia de los GLUTs, que se encuentran en la membrana basolateral del enterocito,

son las que mantienen el gradiente de concentración por medio de la difusión facilitada de estos dos monosacáridos. Es importante mencionar que el transporte de la fructosa también es realizado por estos transportadores, incluso desde la membrana apical del enterocito (5).

Por otro lado, el transportador SGLT1 se caracteriza por realizar un cotransporte o de glucosa o galactosa, gracias a la fuerza motriz generada por el ión sodio. En humanos, este transportador se expresa principalmente a nivel del íleon, el sitio fundamental de absorción de monosacáridos como glucosa, galactosa, manosa y fructosa (5).

El proceso de absorción cuenta con cuatro fases: la unión de dos iones Na^+ a la cara externa del transportador produce un cambio conformacional que permite el acoplamiento de una molécula de glucosa o galactosa. La transferencia del Na^+ y de los monosacáridos hacia la cara citoplasmática del transportador, se produce gracias a un segundo cambio conformacional ocasionado por la glucosa que involucra la rotación y el re-arreglo de la estructura α-helicoidal del SGLT-1.

Una vez en la cara interna del transportador, la glucosa se disocia del mismo y pasa al citosol para luego expulsar los dos iones Na^+, restituyendo al transportador a su forma libre de ligando. La baja afinidad del sitio de unión intracelular por la glucosa y el sodio, junto con la baja concentración intracelular de Na^+ en comparación con la extracelular y luminal (5-10 meq vs. 140-145 meq) promueven esta disociación, permitiendo que el proceso de transporte ocurra 1.000 veces por segundo a 37 ºC. Finalmente, ocurre un cambio de conformación que permite la fijación de otra molécula de glucosa y dos Na^+ en el lado extracelular.

El mantenimiento del gradiente de Na^+ ocurre gracias a la bomba de Na^+/K^+ y de forma secundaria a la salida de Na^+ al espacio basolateral, que genera la suficiente fuerza osmótica para arrastrar y absorber agua hacia los capilares (5).

Cuadro clínico del GGM

Fisiológicamente los disacáridos son hidrolizados y absorbidos en el intestino proximal, formándose ácidos grasos de cadena corta a partir de pequeñas cantidades de carbohidratos no absorbidos, los cuales pasan al colon donde son utilizados para la producción de energía requerida en el transporte activo de iones. En el síndrome de malabsorción, los monosacáridos no son hidrolizados ni absorbidos, de manera que la flora bacteriana del colon se adapta a la llegada de estos azúcares e inicia la hidrólisis de estos utilizando su maquinaria enzimática. El resultado de este proceso es la producción de ácidos grasos volátiles tales como acético, butírico y propiónico, además de gases como metano, dióxido de carbono e hidrógeno; los cuales son los responsables de la aparición de flatulencia, meteorismo y dolor abdominal; también contribuyen a la acidificación de las deposiciones que alcanzan valores de pH menores a 5,5 (6).

Genética

Caracterización del gen

El gen *SCL5A1* pertenece a la familia de genes llamados SLC (*solute carrier family*) o transportadores de sodio, la cual incluye aproximadamente 300 genes que codifican las proteínas llamadas transportadores de solutos. Esta superfamilia de genes, se divide en subfamilias y sus nombres están dados por el primer número en el código del gen y la letra "A" seguida por otro número, que indica el gen específico dentro de esa familia; por lo tanto, el gen *SCL5A1* corresponde al primer miembro de la familia 5 de los cotransportadores Na/glucosa (8).

Este gen tiene un tamaño de 112 Kb, se encuentra ubicado en el cromosoma 22 q13.1 y tiene 15 exones, los cuales codifican para el cotransportador SGLT1, una proteína hidrofóbica de 664 aminoácidos, cuyo peso molecular es de 73 Kd. En lo que respecta a los intrones, corresponden a 40 Kb del total del gen, de los cuales se han secuenciado aproximadamente 12.000 pares de bases. Por otro lado, su promotor consta de 527 pares de bases y el principal sitio de transcripción es una guanina (G) que se encuentra a 23 pares de bases en dirección 5' del codón de iniciación ATG y a 27 pares de bases en dirección 3' de una caja TATA, cuya secuencia es TATAA. Se ha demostrado que la expresión luminal del *sglt1* es controlada por la dieta, puesto que ésta se encuentra regulada principalmente por un mecanismo post-transcripcional, en respuesta a la cantidad de glucosa y galactosa ingeridas (7).

Polimorfismos en SGLT1

En un estudio realizado por Michihiro Kasahara y col. (9) se analizó el gen *sglt1* de una paciente japonesa con GGM; se secuenciaron los 15 exones del gen de la paciente, del padre, de la madre, de la hermana y

de dos controles. En el estudio se encontró que existen diferencias en las secuencias determinadas del exón 1 y de los intrones 12 y 15. En el exón 1, 5`ATGGA-**T**AGTAGC versus 5` ATGGA**C**AGTAGC, en el intrón 12, 5`GC**C**GCAGAAGGGA-GTC versus 5`GC**T**GCAGAAGGGA**A**GTC y en el intrón 15, 5`GC**C**GCAGAAGGGA-GTC versus 5`GC**T**GCAGAAGGGA**A**GTC. Estas diferencias pueden corresponder a polimorfismos.

Se hallaron otros polimorfismos que producen cambios de aminoácidos en la proteína; uno de los polimorfismos observados induce un cambio en el aminoácido 51 en donde la Asparagina (N), un aminoácido polar de tamaño mediano, se cabia por una Serina (S), un aminoácido polar de tamaño pequeño (N51S o Asn51Ser). Un segundo polimorfismo induce un cambio en la proteína de una Alanina (A), un aminoácido hidrofóbico de tamaño pequeño en la posición 411 por una Treonina (T), un aminoácido polar de tamaño mediano (A411T o Ala411Thr) (10).

Mutaciones en *sglt1*

Hasta el momento se han identificado 46 mutaciones en el gen sglt1 responsables del síndrome de malabsorción de glucosa y galactosa; estas mutaciones dan origen a una proteína truncada o a una alteración en el mecanismo de traslocación del cotransportador de Na/glucosa en la célula. De estas mutaciones, 34 corresponden a mutaciones de cambio de sentido ("*missense*") (por una mutación puntual se genera una nueva tripleta que codifica para un aminoácido distinto), que aunque el gen se transcribe y el transcrito se traduce en una proteína completa, se observa un defecto en el transporte de la misma hacia la membrana celular (11, 12). Según el estudio realizado por Turk y col. (1), la mayoría de las mutaciones de cambio de sentido, presentan una correcta traducción de la proteína; sin embargo su expresión en la membrana plasmática es nula. Esto ocurre debido a que el cambio produce el no reconocimiento de la proteína por parte del transportador, ya que poca cantidad alcanza la membrana plasmática (lugar donde cumple su función) y la mayoría de la proteína termina siendo degradada.

También se encontraron mutaciones en donde hay una normal expresión del cotransportador en la membrana, pero con ciertas anomalías estructurales, debidas principalmeten al cambio del glutamato 457 por arginina (Glu457Arg), que la convierte en una proteína no funcional. Por otro lado, se han identificado 22 mutaciones relacionadas con el síndrome, las cuales producen una proteína truncada no funcional; seis de estas alteraciones corresponden a mutaciones sin sentido (*nonsense*, se forma una tripleta de parada), siete corresponden a alteraciones en el marco de lectura (*Frame shift*), siete a mutaciones en el sitio de *splicing* y dos mutaciones se ubican en el promotor (Figura 2) (1).

Un estudio realizado por Michihiro Kasahara y col. (9) muestra un ejemplo de una proteína SGLT1 no funcional (no es activa para transportar la glucosa), codificada por el gen que presenta solo una mutación sin sentido causada por una transición (citosina por timina) en el codón 135 del exón 5, que genera un cambio en la proteína de Gu457Arg, y que mantiene la capacidad para translocarse a la membrana plasmática de los oocitos de *Xenopus* en un nivel similar al de la proteína SGLT1 silvestre (9).

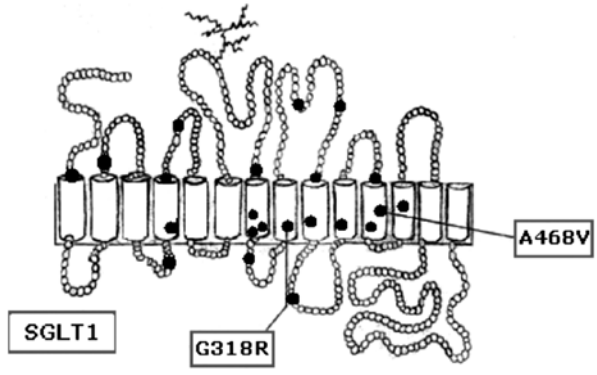

***FIGURA 2**. Localización de mutaciones sin sentido de GGM en la estructura secundaria de SGLT1. Los círculos resaltados muestran la sustitución de residuos específicos de aminoácidos (13).*

Teniendo en cuenta la información publicada en las que se muestra que el GGM está relacionado con mutaciones en el gen que codifica para la proteína SGLT1 y/o su transporte hacia la membrana, Kianifar y col (12), hicieron un estudio genético a una paciente Iraní diagnosticada con GGM; en este estudio se utilizaron técnicas moleculares para amplificar el exón 1 del gen sglt1 y luego se secuenció. De esa manera se identificó una mutación puntual a nivel de la tripleta GAT en donde la A es sustituida por una G formándose un nuevo codón GGT. Esa mutación genera un cambio en la proteína en el residuo 28 de un Aspartato (D) por una glicina (G) (D28G). Para la amplificación se utilizaron *primers* específicos y PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*); posteriormente los productos de la amplificación fueron digeridos con

EcoRV. Como resultado del estudio se pudo observar que los productos de los clones que tenían el cambio D28G, se encontraban localizados en el citoplasma celular, sugiriendo así, que la modificación D28G en la proteína, alteraba la translocación de la misma y por ende en la expresión del cotransportador en la membrana plasmática del enterocito, y por lo consiguiente, la absorción de glucosa y galactosa.

Otras mutaciones importantes que afectan la traslocación de la proteína a la membrana son las que ocurren en el exón 9, que se traduce en un cambio en la proteína de G318R, y la del exón 12, que origina un cambio en la proteína de A468V (Figura 2). La principal repercusión de estas mutaciones es la disminución de aproximadamente un 10% del número de cotransportadores en la membrana plasmática en comparación con las células silvestres, hecho que genera el 95% de disminución en el transporte activo de sodio/glucosa. La reducción de cotransportadores en la membrana plasmática no es debida a un defecto en la síntesis del transportador, sino a un defecto en la traslocación del SGLT1 del retículo endoplásmico al aparato de Golgi producido por una glicosilación incompleta de las proteínas codificadas por los genes con la mutación (13).

Se ha reportado que cuatro de las mutaciones de cambio de sentido producen cambios en las asas hidrofílicas externas, tres en las asas hidrofílias citoplasmáticas, y quince en los dominios transmembranales. Entre estas últimas se encuentran los cambios de G318R y de A468V en las hélices transmembranales (TMH) 8 y 7, respectivamente. La mayoría de las mutaciones generan cambios en la proteína de residuos cargados o polares, por ejemplo, G318R en TMH8. Estas observaciones sugieren que los cambios mínimos en los dominios críticos de la proteína son suficientes para generar cambios conformacionales que alteran su tráfico (13).

Michihiro Kasahara y col. (9) reportaron una mutación en el intrón 12 de SGLT1 en donde se observa un reemplazo de CA**GTAGGTATCAT**CT a CA**GAC**CT en un paciente con un diagnóstico de síndrome de GGM; sin embargo, no presenta información sobre la estructura del transportador ni sobre cambios en la función. En experimentos en donde se inyectó mARN en oocitos de *Xenopus* y se observó la expresión del cotransportador, se evidenció que en el intrón 12 se pueden presentar dos mutaciones, una en el sitio del splicing y/o una mutación con retención del intrón 12. Basados en esta información, los autores sugieren que en el caso de mutaciones en los sitios de corte y empalme en el transcrito primario, es el splicing alternativo, el mecanismo por el cual se pueden generar diferentes mARN, que al ser traducidos generan diferentes productos proteicos (14).

Diagnóstico

Signos y síntomas tales como glucosuria intermitente tras el ayuno o una sobrecarga de glucosa, así como el hallazgo de sustancias reductoras en heces acuosas, es muy sugestivo de síndrome de GGM, que se puede identificar mediante la prueba de hidrógeno de aliento, que se basa en la producción de hidrógeno gracias a la fermentación de los monosacáridos no absorbidos por las bacterias del colon; aproximadamente el 15% de hidrógeno producido es absorbido y luego eliminado por via respiratoria. Así, la cantidad de hidrógeno en el aire que se exhala se convierte en el método que cuantifica niveles elevados presentes en las personas con este síndrome (15).

Tratamiento

El enfoque terapéutico consiste en una restricción rigurosa de productos alimenticios que contengan glucosa y galactosa. Sin embargo, la sustitución de estos sacáridos trae como consecuencia problemas nutricionales, tales como disminución de calcio, fósforo y vitaminas, por lo que se debe asegurar un suplemento diario de calcio de 500 mg para niños menores y de 1000 mg para niños mayores y adultos. El tratamiento se aplicara de acuerdo a la intensidad de los síntomas del síndrome en el respectivo paciente.

Propuesta de una metodología molecular para el diagnóstico temprano de GGM

El hecho que el síndrome de GGM tenga una incidencia baja y que su tratamiento sea sencillo ha llevado a que se genere poco interés en la búsqueda de métodos alternativos para el diagnóstico temprano de esta enfermedad. Actualmente el diagnóstico se basa en un cuadro clínico, con signos avanzados de deshidratación y otras complicaciones severas.

Por lo anterior, en este artículo se hace una propuesta para desarrollar un método de detección temprana de este síndrome (en las primeras 24 horas de nacido), como herramienta alterna que permita el diagnóstico del síndrome de GGM de manera rápida y confiable y que además, permita conocer el tipo y lugar de la mutación. Se aplicaría únicamente en los pacientes con historia clínica de antecedentes familiares y que

presentasen factores de riesgo o una predisposición marcada, que indique una probabilidad mas alta que la media de padecer este síndrome.

A partir de sangre extraída por punción del talón o del pulpejo de un dedo de la mano se obtiene el DNA del paciente utilizando un kit de extracción de DNA. Se utilizan las secuencias de *sglt1* reportadas para diseñar los *primers* de tal forman que se acoplen hacia los flancos "derecho" e "izquierdo" de los 15 exones, para amplificar por PCR los "*sitios calientes*" o sitios de las mutaciones (17).

Para confirmar que los productos de PCR son los deseados se usa RFLP's. Cada producto amplificado por PCR es digerido con endonucleasas de restricción específicas (según el punto caliente que se desea analizar), los productos de la digestión son separados por electroforesis, se denaturan y luego se transfieren a una membrana de nitrocelulosa, la cual se pone en contacto con las sondas, que se unirá a los dos lados de los "*sitios calientes*" específicos dada su complementariedad (*Southern blot*). Por autorradiografía se localizan las bandas y dependiendo si se observan una o dos bandas que corresponden a la presencia o ausencia de la secuencia de corte, que depende de la presencia o no de la mutación (18).

El segmento que muestre la posible presencia de una mutación, se clona con un kit comercial para luego secuenciarlo. La secuencia obtenida se compara haciendo un alineamiento con la secuencia normal reportada de este gen y así se confirmaría si existe alguna mutación, cual es su naturaleza y como está influyendo a la generación del síndrome de GGM.

Para realizar estudios de epidemiología molecular, además de incluir los pacientes con el síndrome, el estudio podría ampliarse a los padres del paciente, hermanos y otros parientes, y de esta manera que pueda determinarse el patrón hereditario molecular.

Referencias

1. Wright E., Turk E., Martin M. Molecular Basis for Glucose–Galactose Malabsorption. Cell Biochemistry and Biophysics (2001) 115-121.
2. National Center for Biotechnology Information (US). Genes and Disease [en línea] 1998 [fecha de acceso 15 de noviembre de 2010]; Disponible en: o
3. Wright E., Turk E., Martin M. Molecular Basis for Glucose–Galactose Malabsorption. Cell Biochem Biophys. 2002;36(2-3):115-2.
4. Kianifar HR., Talebi S., Tavakkol-Afshari J., Esmaili M., Davachi B., Brook A. D28G Mutation in Congenital Glucose-Galactose Malabsorption. Arch Iran Med. 2007 Oct;10(4):514-8.

Bermúdez V., Bermúdez F., Arraiz N., Leal E., Linares S., Mengual E., Valdelamar., et al. Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución. Archivos venezolanos de farmacología y terapéutica, 2007/ vol.26, sociedad venezolana de farmacología clínica y terapéutica. pp.76-86.

5. Alliende F. lactose and other disaccharides intolerance. Gastr latiniam. 2007; 18: 152-156.
6. Turk E., Martin M., Wright E. Structure of the human Na+/ Glucose cotransporter Gene SGLT1. The journal of Biological Chemistry (1994) 15204 -15209.
7. Genetics home reference. SLC5A1 gene [en línea] 2007 July [fecha de acceso 26 de noviembre de 2010]; Disponible en: http://ghr.nlm.nih.gov/gene=SLC5A1#genefamilies
8. Kasahara M., Maeda M., Hayashi S., Mori Y., Abe T. A missense mutation in the Na/glucose cotransporter gene SGLT1 in a patient with congenital glucose-galactose malabsorption: normal trafficking but inactivation of the mutant protein. Biochimica et Biophysica Acta 1536 (2001) 141-147.
9. Domain mapping of disease mutation [en línea] [fecha de acceso 15 de noviembre de 2010]; Disponible en: http://bioinf.umbc.edu/DMDM/gene_prot_page.php?id=6523.
10. Xin B., Wang H. Multiple sequence variations in *SLC5A1* gene are associated with glucose–galactose malabsorption in a large cohort of Old Order Amish. Clinical Genetics (2010) 1-6.
11. Kianifar H., Talebi S., Tavakkol-Afshari J., Esmaili M., Davachi B., Brook A. D28G Mutation in Congenital Glucose-Galactose Malabsorption. Arch Iranian Med (2007) 514 – 518.
12. Lam J., Martin M., Turk E., Hirayama B., Bosshard N., Beat S., et al. Missense mutations in SGLT1 cause glucose-galactose malabsorption by trafficking defects. Biochimica et Biophysica Acta 1453 (1999) 297- 303.
13. Thompson M., Thompson J., Nussbaum R., McInnes R., Willard H. Genética En Medicina. Séptima Edición. Philadelphia. Thompson & Thompson; 2008.
14. García L, López G. evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. Nutrición hospitalaria.2007; 22: 5-13.
15. Gil N, Scromeda M, Torres E. intolerancia a la lactosa en pediatría. Revista de Postrado de la VIa Cátedra de Medicina. 2010; 198:16-17.
16. Fundacion favaloro [en línea] [fecha de acceso 6 de diciembre de 2010]; Disponible en: http://www.fundacionfavaloro.org
17. Ciencia hoy [en línea] [fecha de acceso 6 de diciembre de 2010]; Disponible en: http://www.cienciahoy.org.ar/hoy23/reaccion1.htm

PANCREATITIS NECROTIZANTE POR TRAUMA. REPORTE DE CASO

Esteban González M.[1], Carlos González[1*], Kelly Guerrero[1*], Javier Hernández[1*], Jaime Rincón[2]*

Resumen

La pancreatitis necrotizante es una complicación de la pancreatitis aguda grave; clínicamente los signos son los de respuesta inflamatoria sistémica y falla multiorgánica. La etiología y el inicio de la fisiopatología son los mismos que se observan en la pancreatitis aguda; cuando en el diagnóstico hay una alta sospecha de esta entidad se debe iniciar el análisis para obtener los parámetros de laboratorio que respaldan el diagnóstico y predicen la morbimortalidad. Los casos asociados a trauma abdominal son pocos, representan un 4% de los casos totales, lo cual hace que sea importante un diagnóstico rápido y un tratamiento oportuno. En este artículo se presenta el caso de un paciente de 41 años que ingresa al servicio de urgencias por una herida por arma cortopunzante (HACP) en cavidad abdominal entre epigastrio y mesogastrio; valorado y llevado a laparotomía exploratoria; las lesiones se localizan en el espacio retroperitoneal afectando vena cava y vena renal izquierda. Al día seis del postoperatorio por evolución clínica adecuada y favorable se da salida. Reingresa por episodios eméticos postprandiales sin otros síntomas asociados. Es un caso de pancreatitis traumática de difícil diagnóstico, por la ausencia de signos y/o síntomas clínicos que hicieran sospechar esta entidad y su posterior enfoque terapéutico adecuado, desde el ingreso.

Palabras clave: Pancreatitis aguda, necrotizante, trauma abdominal, laparotomía

NECROTIZING PANCREATITIS FOR TRAUMA: REPORT OF A CASE

Abstract

Pancreatic necrosis constitutes a complication of acute pancreatitis. Clinical signs are those of systemic inflammatory response and multi-organ failure. The etiology and pathophysiology are explained by the same causes and processes that occur in acute pancreatitis; its diagnosis requires of suspicions of the condition leading to the initiation of analysis and process of obtaining laboratory parameters that support the diagnosis and that predict the mortality rate. The associations to abdominal trauma cases are few, representing only a 4% of all cases, which makes identification and treatment much more important. The case of a 41 year old patient that enters the emergency department due to an injury by a sharp weapon in abdominal cavity between the epigastrium and mesogastrium is presented. The patient was evaluated and taken to an exploratory laparotomy; the wounds were located in the retroperitoneal space affecting the vena cava and the left renal vein. Due to favorable clinical recuperation the patient was allowed to leave the hospital on the 6th postoperative day. The patient re-enters the hospital due to emetic post-prandial episodes without any other associated symptoms. The case turns to be traumatic pancreatitis with a difficult diagnosis because of the absence of signs and/or clinical symptoms that could have led to the suspicion of this entity and the adequate therapeutic focus that should have followed since the initial admission.

Key words: acute pancreatitis, necrotizing, abdominal trauma, laparotomy

[1] Estudiante VII Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogota, Colombia.
[2] Docente Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada. Bogota.
* Correspondencia: esteban89col1@hotmail.com, carlosart2005@yahoo.es, kellyj.guerrero@gmail.com javhern19@gmail.com. Dirección postal: Tr. 3 No 49-00, Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogota, Colombia.

Introducción

La realidad de los sectores más marginados de la ciudad de Bogotá D.C., está centrada en la violencia local que a diario tienen que soportar sus habitantes. El principal motivo de consulta en los centros de salud en dichos sectores son las heridas por arma de fuego o por arma cortopunzante, lo que hace necesario el conocimiento, destreza y habilidad en atención vital avanzada de trauma del profesional de la salud médico y paramédico, según los protocolos estandarizados por el programa avanzado de apoyo vital en trauma (ATLS).

El reconocimiento de las lesiones abdominales requieren que la inspección de la anatomía interna del abdomen se realice por cavidades: peritoneal, pélvica y espacio retroperitoneal, representando este último el área posterior que contiene el segmento abdominal de la aorta, vena cava inferior, parte del duodeno y del colon ascendente y descendente, páncreas, riñones, uréteres. Es necesario tener en cuenta que las lesiones al examen físico pueden no presentarse, inicialmente, con signos y/o síntomas de peritonitis, cuya valoración y lesiones son más difíciles de reconocer (1), y fácilmente estas lesiones son sub-diagnosticadas. Las heridas penetrantes son la causa más frecuente de lesión pancreática; el diagnóstico de pancreatitis traumática requiere esencialmente para su diagnóstico una alta sospecha (2).

El paciente con pancreatitis aguda clínicamente puede variar entre leve a grave, y los casos de pancreatitis aguda severa resultan en necrosis glandular (10,11).

La pancreatitis necrotizante es definida como una complicación de la pancreatitis aguda severa caracterizada por áreas difusas o localizadas de necrosis, la presentación típica del paciente con una respuesta inflamatoria sistémica y falla multiorgánica. La severidad se evalúa mediante las escalas de Ranson y el sistema de puntuación APACHE II (Acute Physiology And Cronic Health Evaluation II) (10). Adicional a la clínica el diagnóstico de pancreatitis necrotizante se establece imagenológicamente mediante la Tomografía Axial Computarizada (TAC), la cual revela la localización y extensión de la lesión (11).

Caso clínico

Paciente masculino de 41 años quien ingresa al servicio de urgencias por una herida por arma cortopunzante (HACP) abdominal entre epigastrio y mesogastrio de quince minutos de evolución, hemodinámicamente inestable, es llevado a laparotomía exploratoria, se practica gastrorrafia más rafia de la vena cava inferior y sutura de la vena renal izquierda. Al sexto día, por evolución postoperatoria clínicamente favorable se da salida. A los ocho días reingresa por un cuadro clínico de tres días de evolución de episodios eméticos postprandiales. Al ingreso se solicita una ecografía abdominal total la cual no reporta alteración, se da manejo sintomático con mejoría del cuadro clínico de ingreso y posterior salida.

A los dos días el paciente reconsulta por persistencia de los episodios eméticos, se solicita una endoscopia de vías digestivas altas y una TAC abdominal total; la primera es tomada dentro de las instalaciones del Hospital, la cual reporta: "lago gástrico abundante, líquido biliar espeso, se aspiran 100cc. Píloro con dificultad para el avance del equipo, reducción de la luz e identificación de lesión de la mucosa al parecer con compresión extrínseca, impresión diagnóstica: Estenosis pilórica por comprensión extrínseca, estómago distal"; posteriormente el paciente es llevado a TAC, que reporta: "opacificación distal de diferentes segmentos del tracto gastrointestinal con marcada distensión de la cámara gástrica, no lesión en las paredes; colección subhepática, intraperitoneal que rodea el aspecto distal del estómago en la región pilórica y primera porción del duodeno; lóculo mayor en región prepilórica posterior de 54 x 37 mm".

El paciente es llevado de nuevo a laparotomía exploratoria, la descripción quirúrgica reporta: "tejido necrótico peripancreático en cabeza, cuerpo y porción de la cola, con hematoma subhepático; síndrome adherencial; esteatonecrosis pancreática; compromiso de mesocolón, duodeno, retroperitoneo, epiplón mayor y menor"; se realiza drenaje de la colección más debridamiento: necrosectomía del tejido pancreático afectado, el abordaje quirúrgico se hace mediante drenaje abierto, se deja al paciente empaquetado para posteriores lavados y/o exploraciones abdominales. Por dichos hallazgos se hace el diagnóstico postoperatorio de pancreatitis traumática, para este momento el paciente tiene paraclínicos control que reportan leucocitosis de 17.100/mm3, con neutrofilia de 85%, sin más alteraciones en las otras líneas celulares, función renal y hepática conservada, electrolitos dentro de los rangos normales (Tabla 1); clínicamente el paciente no presenta signos de respuesta inflamatoria sistémica y no hay signos de falla multiorgánica. No se tiene reporte de otros paraclínicos que permitan aplicar al paciente una escala pronóstica y de severidad de la pancreatitis.

***Tabla 1**. Resultados paraclínicos del paciente al ingreso*

Examen	Resultado	Valores Referencia
Recuento glóbulos blancos	17,1 mm^3	4,80 – 10,80 mm^3
Recuento glóbulos rojos	4,900 mm^3	4,00 – 5,40 mm^3
Hemoglobina	16 mg/dL	12,00 – 16,00 mg/dL
Hematocrito	46,5 mg/dL	37,00 – 47,00 mg/dL
Plaquetas	265 mm^3	150,0 – 450,0 mm^3
Nitrogeno ureico en suero	19,2 mg/dL	4,70 – 23,4 mg/dL
Creatinina en suero	0,89 mg/dL	0,50 – 1,30 mg/dL
Aspartato aminotransferasa /AST	18 mg/dL	0 – 38 mg/dL
Alanino aminotransferasa / ALT	21 mg/dL	0 – 41 mg/dL
Bilirrubina total	1,7 mg/dL	0,00 – 1,00 mg/dL
Bilirrubina directa	1,0 mg/dL	0,00 – 0,20 mg/dL
Bilirrubina indirecta	0,7 mg/dL	0,00 – 0,60 mg/dL
Proteína C reactiva	212 mg/dL	Menos de 6 md/dL
Calcio	8,70 mg/dL	7,90 – 10,90 mg/dL
Sodio	146 mEq/L	135 – 149 mEq/L
Potasio	3,9 mEq/L	3,5 – 5,1 mEq/L

Se inicia manejo antibiótico al paciente, (ciprofloxacina 400mg IV cada doce horas); es llevado a continuos lavados quirúrgicos, donde inicialmente se observan colecciones hemopurulentas supramesocólica y peripancreática y tejido peripancreático, hasta que el lavado peritoneal es negativo.

Durante el tiempo de hospitalización los paraclínicos control reportan leucocitosis de 15.900/mm3 con neutrofilia del 83%, sin alteraciones en las otras líneas celulares, función renal y hepática conservada, hipokalemia de 3,3mEq/L (3,5-5.5 mEq/L), hipocalcemia de 7,4mg/dL (8,4 a 10,6 mg/dL), glicemia 98mg/dL (70-110 mg/dL), PCR 212 (<1mg/dL), amilasa 129 U/L (23-85 U/L), valores que posteriormente se normalizan: PCR 28mg/dL y amilasa 56U/L.

Tras la mejoría clínica y paraclínica del paciente y evolución postoperatoria favorable, sin signos de respuesta inflamatoria, se decide dar salida.

Trauma páncreático

La lesión de páncreas es rara o infrecuente si se compara con las de otros órganos abdominales; su incidencia es de 0,2 a 6% y existe un franco predominio en pacientes masculinos jóvenes. En cuanto al mecanismo de la lesión pancreática, el trauma penetrante es la causa más frecuente siendo éste producido por armas cortopunzantes o por proyectil de arma de fuego (2). En las series de trauma abdominal generalmente dos tercios de las lesiones de páncreas corresponden al trauma penetrante y un tercio al trauma cerrado. Es muy raro que el páncreas se lesione aisladamente debido a su proximidad anatómica a otras estructuras. De hecho, las lesiones asociadas son la regla más que la excepción, siendo el hígado el órgano más afectado (2-4). En el metanálisis realizado por Petrone y col. (2) se reporta que en el traumatismo del páncreas las zonas que se afectan mas frecuentemente son: la cabeza y el cuello del páncreas en el 37% de los casos, el cuerpo en el 36% y la cola un el 26%.

El diagnóstico de una lesión pancreática requiere un alto grado de sospecha. Es de suma importancia conocer la mayor información posible acerca del mecanismo del trauma. La presentación clínica de las lesiones pancreáticas puede variar desde la estabilidad hemodinámica hasta choque (2,4). Los exámenes de laboratorio proporcionan poca ayuda en el diagnóstico precoz de la lesión pancreática; se recomienda la medición de los niveles de amilasa y lipasa sérica cada seis horas ya que estas se encuentran elevadas en el 82% de los pacientes con traumatismos pancreáticos. Se debe prestar una especial atención al valor de amilasa sérica, ya que se considera útil para medir la obstrucción del conducto pancreático; entre más proximal al páncreas esté la obstrucción, los niveles de amilasa son más altos (2).

Aunque la ultrasonografía es un medio diagnóstico muy útil, la tomografía es el método de elección para el diagnóstico de lesión pancreática aguda. La colangio pancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) puede usarse como herramienta diagnóstica antes de la cirugía para identificar si hay destrucción de los conductos pancreáticos y con fines terapéuticos en el caso de ruptura de los mismos; sin embargo no es utilizada en los servicios de urgencias (2).

El manejo del trauma pancreático inicia desde el establecimiento del diagnóstico o sospecha del mismo (defensa y dolor abdominal, signos de irritación peritoneal), laparotomía exploratoria y administración

de antibióticos de amplio espectro (2). La cirugía de urgencia está indicada en casos de hemorragia y ruptura pancreática, formación de abscesos, aparición de ictericia obstructiva e íleo (5). El primer objetivo de la intervención será el control de la hemorragia, seguido del control de las fuentes de escape gastrointestinal. Es de vital importancia reconocer lesión del conducto principal, sospechada en sección longitudinal del páncreas, escape de líquido pancreático, laceración de más de la mitad del diámetro de la glándula, perforaciones centrales y laceraciones con destrucción tisular masiva o sin ellas. Es recomendable utilizar la escala de lesión de órganos de la American Association for the Surgery of Trauma para clasificar las lesiones pancreáticas (Tabla 2) (2).

***Tabla 2**. Escala de lesión de órganos de la American Association for the Surgery of Trauma (2,6,7)*

GRADO	CARACTERÍSTICA
I.	Hematoma. Contusión menor sin lesión de los conductos.
II.	Laceración. Laceración superficial sin lesión de los conductos Hematoma. Contusión mayor sin lesión de los conductos ni pérdida de tejido.
III.	Laceración. Laceración mayor sin lesión de los conductos ni pérdida de tejido Laceración. Sección distal o lesión parenquimatosa con lesión de los conductos.
IV.	Laceración. Sección proximal o lesión parenquimatosa afectando la ampolla
V.	Laceración. Destrucción masiva de la cabeza pancreática

Las lesiones de grado I se presentan en el 60% de los casos, las de grado II en el 20%, las de grado III en el 15%, y las de grado IV en el 5%. Para el tratamiento de la lesión pancreática se han recomendado diferentes opciones quirúrgicas (Tabla 3) (2). El 60% de las lesiones pancreáticas pueden tratarse colocando un drenaje externo utilizado en contusiones, desgarros superficiales de la cápsula o laceraciones; en las lesiones que afectan parénquima se recomienda la realización de pancreatorrafia simple. En el 15% de los casos la lesión afecta la cápsula y el parénquima, que engloba el conducto pancreático principal, lo que requiere resección de parte de la glándula; las lesiones que comprometen el conducto principal y que se encuentran a la izquierda de los vasos mesentéricos superiores deben ser tratadas con pancreatectomía distal y esplenectomía. (2)

***Tabla 3**. Técnicas y procedimientos quirúrgicos*

- Drenaje simple
- Pancreatorrafia simple
- Pancreatorrafia compleja
- Pancreatectomía distal (a la izquierda de los vasos mesentéricos superiores)
- Pancreatectomía distal (a la izquierda de los vasos mesentéricos superiores) con preservación esplénica
- Pancreatectomía distal ampliada (a la derecha de los vasos mesentéricos superiores)
- Pancreatectomía distal ampliada (a la derecha de los vasos mesentéricos superiores) con pancreatoyeyunostomía distal
- Creación de divertículos en el duodeno (vagotomía y antrectomía, gastroyeyunostomía, duodenorrafia, drenaje en T y drenaje externo)
- Exclusión pilórica
- Pancreatoduodenectomía (operación de Whipple)

De los casos de trauma pancreático el 37% presenta complicación (fístulas, abscesos, pancreatitis, pseudoquistes, hemorragia tardía). La morbilidad oscila entre 11 y 62%. La mortalidad por lesiones por arma de fuego es de aproximadamente 51% y por arma cortopunzante o trauma cerrado entre 7 y 23% (2).

Pancreatitis necrotizante

La pancreatitis es una inflamación del órgano y está acompañada de un aumento de los niveles séricos de las enzimas producidas tras el proceso de autodigestión que realiza el páncreas de las mismas. La pancreatitis clínicamente puede manifestarse como un episodio agudo o crónico, siendo la primera la de mayor motivo de consulta (6).

Los mecanismos por los cuales se produce la pancreatitis aguda no se han esclarecido completamente. Basados en las investigaciones realizadas en este campo, se ha dividido el proceso inflamatorio en 3 fases. En la fase 1, ocurre la activación de la tripsina en las células acinares pancreáticas mediada por: 1- una disrupción en las señales de calcio en las células acinares producto de un aumento en la secreción de colecistocinina que aumenta el calcio con la consecuente formación de vesículas que llevan a la activación del tripsinógeno;

2- activación del tripsinógeno mediado por la beta-catepsina hidrolasa lisosomal y 3- disminución de la actividad de los inhibidores de la tripsina. En la fase 2 ocurre el proceso de inflamación intrapancreático producto de la activación de células inflamatorias, la quimiotaxis de las mismas y la activación de moléculas de adhesión celular. En la fase 3 se inicia el proceso inflamatorio sistémico con falla multiorgánica. Estudios recientes han mostrado un desbalance entre los factores proinflamatorios y los antiinflamatorios; en algunos individuos se ha observado una mayor activación de los factores proinflamatorios posiblemente debido a un polimorfismo genético (7-9).

Clínicamente el paciente consulta por inicio de dolor abdominal que inicia en hemiabdomen superior y se irradia a región dorsal, asociado a náuseas y vómito típicamente, porque las características propias de cada cuadro clínico se relacionan con la etiología de la pancreatitis (Tabla 4). Al examen físico puede haber fiebre, signos de deshidratación, taquicardia, taquipnea u otros síntomas igualmente específicos (ictericia, hepatomegalia, signo Gray Tunner, signo Cullen, etc.) (10).

***Tabla 4**. Etiología pancreatitis aguda*

CAUSAS DE PANCREATITIS AGUDA	
FRECUENCIA	**FACTOR**
MÁS COMÚN (60%)	Origen biliar (litiasis), alcohol, hiperlipidemia, hipercalcemia, disfunción esfínter de Oddi, fármacos y toxinas, CPRE, trauma abdominal, postoperatorio
MENOS COMÚN (30%)	Cáncer de páncreas, páncreas divisum, vasculitis.
OTRAS CAUSAS (10%)	Infecciones (virus coxsackie, papovirus, VIH, áscaris) Autoinmune (Lupus eritematoso sistémico, síndrome Sjogren)

Al ingreso, el diagnóstico clínico basado en los parámetros del laboratorio, permiten determinar pronóstico y severidad de la enfermedad en un paciente con pancreatitis aguda; las escalas más usadas son escala de Ranson y el sistema de puntuación APACHE II; la escala de Ranson (Tabla 5) tiene un valor predictivo positivo del 48% y predictivo negativo del 93%; un problema que se presenta con esta escala es que solo puede ser medida completamente a las 48 horas después del inicio del cuadro clínico, tiempo en el cual el estado crítico del paciente ya se ha manejado (7, 17).

***Tabla 5**. Criterios de la escala de Ranson para el dx de pancreatitis aguda*

CRITERIOS DE RANSON PANCREATITIS AGUDA			
Parámetro	**Pancreatitis no biliar**	**Pancreatitis biliar**	
Al ingreso			
Edad	>21 años		>70 años
Leucocitosis	>16.000	>18.000	
Glicemia	>200mg/dl	>220mg/dl	
LDH sérica	>350U/l	>400U/l	
GOT sérica	>250U/l	>250U/l	
Primeras 48 horas			
Descenso hematocrito	>10%	>10%	
Creatinina	>2mg/dl	>2mg/dl	
PaO2	<60 mmHg	<60 mmHg	
Calcio sérico	<8mg/dl	<8mg/dl	
Déficit de base	>4 mEq/l	>5 mEq/l	
Secuestro líquido	>6L	>5L	

En 1992 en el Consenso de Atlanta se estableció la clasificación clínica de la pancreatitis aguda, la cual establece las características que diferencian los casos leves de los graves de la pancreatitis; igualmente establece cuando se está ante una complicación como la necrosis o abceso (Tabla 6) (11,12).

En esta clasificación, un paciente con pancreatitis aguda tiene del 10-20% de riesgo de complicarse y desarrollar pancreatitis necrotizante; el tejido necrótico puede ser pancreático o peripancreático y la extensión del daño se presenta local o difuso, afectando cualquier parte de la glándula (12).

El inicio del proceso inflamatorio se explica por la fisiopatología de la pancreatitis aguda, luego el proceso de necrosis se describe con el desarrollo de dos fases durante aproximadamente catorce días, que se caracterizan por una respuesta inflamatoria sistémica y falla

***Tabla 6**. Clasificación de la pancreatitis aguda, Consenso Atlanta*

CLASIFICACIÓN DE LA PANCREATITIS AGUDA CONSENSO ATLANTA 1992	
NOMBRE	**DEFINICIÓN**
Pancreatitis aguda	Proceso inflamatorio agudo del páncreas con variable afectación de otros tejidos regionales o sistemas orgánicos remotos.
Pancreatitis aguda grave	Pancreatitis aguda asociada a falla multiorgánica y/o complicaciones locales como necrosis, absceso o pseudoquiste.
Pancreatitis aguda leve	Pancreatitis aguda con mínima disfunción orgánica, en la que existe recuperación completa y ausencia de los hallazgos que caracterizan a la pancreatitis grave.
Colecciones líquidas agudas	Aparecen tempranamente en la evolución de la pancreatitis, se localizan cerca del páncreas y siempre carecen de pared de granulación o tejido fibroso.
Necrosis pancreática	Áreas difusas o localizadas de parénquima pancreático no viable, típicamente asociadas a necrosis grasa peripancreática
Pseudoquiste agudo	Colección de jugo pancreático encapsulada mediante una pared de tejido fibroso o de granulación que aparece como consecuencia de una pancreatitis aguda, un traumatismo pancreático o una pancreatitis crónica.
Absceso pancreático	Colección de pus circunscrita a la cavidad abdominal, generalmente próxima al páncreas, que contiene poco o nulo tejido necrótico, y que es consecuencia de pancreatitis aguda o traumatismo pancreático.

multiorgánica, e infección (13). El riesgo de infección del tejido necrótico ocurre en un 40-70% de los pacientes y puede desarrollarse en un periodo de una a dos semanas de iniciado el proceso de necrosis, es la condición más grave dentro de su patogenia, dado que aumenta la morbimortalidad por el compromiso multisistémico, requiriendo traslado a Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) con estricta monitoreo hemodinámico y ventilación mecánica, con un riesgo de mortalidad entre 27 y 80% del total de los pacientes con pancreatitis necrotizante (14). Como principal causa de muerte se encuentra el choque séptico secundario a falla multiorgánica y la infección del tejido pancreático o peripancreático (15). En caso de pancreatitis necrotizante estéril, la tasa de mortalidad es de un 10%, cifra que puede variar por manejo médico-quirúrgico oportuno. En cuanto a la etiología de la pancreatitis necrotizante también se han establecido las mismas causas que para la pancreatitis aguda.

En relación a la fisiopatología el daño inicial que corresponde a la fase de inflamación, posterior a la autodigestión del tejido pancreático, se produce la liberación de las enzimas al tejido vascular perilobular y/o panlobulillar y al sistema glandular-ductal; el proceso de necrosis grasa peripancreática se da por la extravasación de la lipasa (16); mientras que la pancreatitis necrotizante isquémica se ha relacionado con hipovolemia e hipotensión, así como redistribución de flujo y hemoconcentración (13). Hasta hoy no hay evidencia suficiente respecto al mecanismo de lesión y la correlación clínica que respalden esta teoría.

La impresión diagnóstica de pancreatitis necrotizante se hace partiendo de la clínica y se respalda paraclínicamente con los exámenes diagnósticos que reporten el aumento de los niveles enzimáticos; la mayoría de los pacientes presentan signos de respuesta inflamatoria sistémica, con un puntaje de APACHE >8 y con más de tres criterios de Ranson; por definición la pancreatitis necrotizante es una forma severa de pancreatitis aguda, lo que sugiere que el paciente probablemente se encuentra en falla multiorgánica.

Para el estudio imagenológico de la gravedad y extensión de la lesión el examen "*Gold estándar*" es la TAC. Luego de la administración del medio de contraste las zonas alrededor del páncreas que se encuentren necrosadas se reportaran como zonas sin realce; si estas son pequeñas sugieren la existencia de una colección intraparenquimatosa, pero si son grandes sugieren necrosis pancreática, estos hallazgos están explicados por la alteración de la microcirculación del páncreas. La extensión de la lesión y los cambios morfológicos también establecen un índice de gravedad de la pancreatitis (Tabla 7) (9), cuando hay evidencia de "burbujas de gas" sugiere el diagnóstico de pancreatitis necrotizante sobreinfectada (Grado E), que luego se confirma tras biopsia con aguja fina y la tinción correspondiente (10).

En cuanto al tratamiento de la pancreatitis necrotizante, se hace manejo sintomático, se deja al paciente con soporte nutricional, en cuanto a la antibioticoterapia existe aún controversia respecto al uso o no de esta; lo que sucede también con la decisión del momento de intervención quirúrgica. Una de las principales complicaciones de la pancreatitis necrotizante es la infección pancreática asociada a translocación de la flora intestinal; sin embargo, con el uso de antibióticos por vo o iv como profilaxis se ha disminuido el riesgo de la infección.

Tabla 7. *Índice de gravedad de pancreatitis aguda por tomografía*

CRITERIOS DE BALTAZAR Gravedad según cambios morfológicos		
Grado	**Característica**	**Puntaje**
Grado A	Páncreas normal	0
Grado B	Aumento difuso o focal de la glándula, atenuación no homogénea	1
Grado C	Grado B, más cambios inflamatorios peripancreáticos leves	2
Grado D	Grado C, más una colección líquida asociada	3
Grado E	Dos o más colecciones o de gas o adyacentes al retroperitoneo	4
Gravedad según extensión de la necrosis		
Sin necrosis	0	
Necrosis de 33% o menos	2	
Necrosis de 33% a 50%	4	
Necrosis de 50% o mayor	6	

En cuanto a la elección del antibiótico los estudios han mostrado mayor efectividad con imipenem o fluoroquinolonas, mostrando mayor incidencia de necrosis infectada en quienes recibieron tratamiento con fluroquinolonas (11). El tratamiento debe iniciarse tan pronto se hace el diagnóstico de pancreatitis necrotizante y debe continuarse entre dos a cuatro semanas.

El manejo quirúrgico de elección fue la necrosectomía, con drenaje y posteriores lavados abdominales. El abordaje quirúrgico se puede hacer por drenaje convencional, abierto o semiabierto (11,18).

Discusión

El caso presentado corresponde a un paciente con diagnóstico postoperatorio de pancreatitis necrotizante de etiología traumática, con una semiología clínica poco clara y sugestiva de pancreatitis aguda grave.

Al ingreso por trauma abdominal, se hace la exploración quirúrgica respectiva, sin hallar evidencia de lesión orgánica, específicamente pancreática y sin cambios físicos evidentes; esto se explica porque en ese momento del primer lavado quirúrgico, el páncreas se encontraba en la fase 1 de la pancreatitis necrotizante o fase de inflamación. A las dos semanas siguientes, tiempo en el cual se ha iniciado la fase 2 o inicio del daño isquémico, explica que se haya observado tejido necropancreático durante la segunda laparotomía exploratoria a la que fue sometido el paciente.

Cuando el paciente reingresa con episodios eméticos posprandiales pero sin mostrar una clínica sugestiva de pancreatitis aguda y/o aguda grave, no se puede establecer diagnóstico preoperatorio; en ese momento tampoco se dispone de los análisis paraclínicos respectivos por lo tanto, no es posible calcular el grado de severidad por Ranson y/o APACHE II. El reporte de la TAC hacía referencia a una colección subhepática intraperitoneal, lo que podría sugerir que a ese momento existía una zona pequeña de lesión intraparenquimatosa, y que el paciente tendría un índice de gravedad por tomografía <6, congruente con la estabilidad clínica del paciente, con bajo riesgo de morbimortalidad; sin embargo, en la exploración quirúrgica se observa una zona necrosada que compromete más del 50% de la glándula, es decir de mayor morbi-mortalidad, y en asociación con lo descrito en la literatura del compromiso de la cabeza páncreas se esperaría un peor pronóstico; sin embargo en el caso presentado en este artículo, el paciente tuvo una satisfactoria evolución clínica post-operatoria.

En conclusión se presentó un caso de pancreatitis necrotizante por trauma de un paciente con una lesión que compromete extensamente la glándula. A pesar de no observarse congruencia en los hallazgos tomográficos y en la condición clínica del paciente, de no presentar signos de respuesta inflamatoria, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, insuficiencia renal, shock, coagulopatía e hiperglicemia, ni otro signo de falla multiorgánica; un caso de pancreatitis necrotizante subdiagnosticado pero tratado oportunamente sin presentar complicaciones mayores.

Referencias

1. Comité de trauma del colegio americano de cirujanos. Advanced trauma life support, ATLS®, curso avanzado para cirujanos. Séptima edición. 2001
2. Petrone P, Asensio J, Pardo M, Kimbrell B, Kuncir E. Traumatismos de páncreas: diagnóstico y tratamiento. Revisión de tema. Rev Colomb Cir. 2008; 23(1):44-52.
3. Espinal R, Irias M, Andino J, Galo M. Lesión de páncreas: análisis

de 38 casos. Rev Cubana Cir. 2001; 40(1):73-7.
4. Asensio J, Forno W. Pancreatic injuries. En: Demetriades D, Asensio JA. Trauma management. First Edition. Georgetown. Landes Biosciences Co. 2000. p 327-32.
5. Saelzer E, Aldunate G. Pancreatitis Traumática. Rev Chil Pediatric. 1986; 57(1):70-73
6. Toouli J, Brooke-Smith M, Bassi C, Carr-Locke D, Telford J, Freeny P, et al. Guidelines for the management of acute pancreatitis. J Gastroen Hepatol. 2002; 17:15-39.
7. Banks P, Freeman M. Practice Guidelines in Acute Pancreatitis. Am J Gastroenterology. 2006; 101:2379-400.
8. Fan BG, Andrén-Sandberg A. Acute pancreatitis. North Am J Med Sci. 2010; 2:211-214.
9. Nieto JA, Rodríguez SJ. Manejo de la pancreatitis aguda: guía de práctica clínica basada en la mejor información disponible. Rev Colomb Cir. 2010; 25:76-96.
10. Whitcomb D. Acute pancreatitis. N Engl J Med. 2006; 354:2142-50.
11. Baron T, Morgan D. Acute necrotizing pancreatitis. 1999; 340(18):1412-17.
12. Martín L, Hernández M, García A, Albaladejo M, Carballo F. Pancreatitis aguda. Medicine. 2008; 10(8):477-88.
13. Büchler MW, Gloor B, Müller CA, Friess H, Seiler CA, Uhl Wl. Acute Necrotizing Pancreatitis: Treatment Strategy According to the Status of Infection. Ann Surg. 2000; 232(5):619-26.
14. Harris H, Barcia A, Schel M, Thoeni R, Schecter W. Necrotizing pancreatitis: a surgical approach independent of documental infection. HPB. 2004; 6(3):161-68.
15. van Santvoort HC, Besselink MG, Bakker OJ, Hofker HS, Boermeester MA, Dejong CH, et al.A Step-up Approach or Open Necrosectomy for Necrotizing Pancreatitis. N Engl J Med. 2010; 362(16):1491-502.
16. Balthazar E. Acute Pancreatitis: Assessment of Severity with Clinical and CT Evaluation. Radiology. 2002; 223:603–13.
17. Ovalles, S. Ríos, E. Pancreatitis aguda severa. Rev Fac Med UN Col. 2003; 51(2):114-17.
18. Werner J, Feuerbach S, Uhl W, Büchler M. Management of acute pancreatitis: from surgery to interventional intensive care. Gut. 2005; 54:426-36.

PACIENTE IMAGINARIO 5

Esteban Camilo Rodríguez E. *

Paciente masculino, 67 años de edad, viudo, natural y procedente de Bogotá y consejero voluntario en una ONG.

Enfermedad actual: el paciente refiere cuadro clínico de cuatro meses de evolución caracterizado por disminución de su clase funcional de I/IV a II/IV y dolor ubicado en hipocondrio derecho e irradiado a los demás cuadrantes abdominales superiores, intermitente sin cronología específica, tipo peso, del mismo tiempo de evolución, asociado a tos inicialmente seca intermitente desde el inicio del cuadro clínico, posteriormente se torna productiva con esputo verdoso desde hace un mes, el dolor se intensifica al toser o al hacer actividad física moderada. Consulta por fatiga y dolor abdominal, refiere que la condición clínica actual interfiere en sus quehaceres cotidianos.

Antecedentes: *Patológicos:* niega. *Farmacológicos:* antigripales ocasionalmente, niega otros. *Quirúrgicos:* apendicetomía a los 23 años, reducción abierta de fractura de húmero derecho a los 25 años. *Traumáticos:* caída de su propia altura con resultado de fractura cerrada conminuta de húmero derecho a los 25 años. *Tóxicos:* fumador de diez cigarrillos/día por diez años, no fuma desde hace 15 años, ingesta de alcohol ocasionalmente, niega consumo de drogas ilícitas. *Alérgicos:* niega. *Familiares:* padre y tíos paternos con hipertensión arterial y coronariopatía, todos diagnosticados a los 50 años aproximadamente; hermanos menores sanos, tía materna con diagnóstico de cáncer de seno a los 40 años y sobrino con diagnóstico de cáncer basocelular de piel a los 30 años. *Epidemiológicos:* hace ocho meses habitó durante tres meses en un centro de rehabilitación para drogadictos en la ciudad de Cali trabajando como consejero, niega contacto directo con alguna persona probablemente enferma pero refiere que el dormitorio era un área común donde dormían entre diez a quince personas, muy húmeda y con poca ventilación, refiere que algunos de los co-habitantes tenían tos esporádica. Actualmente vive solo en un apartamento del centro de la ciudad.

Revisión por sistemas: fiebre subjetiva ocasional de predominio nocturno. Hace seis meses refiere sufrir un episodio respiratorio alto de dos semanas de duración. Niega dolor torácico. Diuresis presente, sin cambios macroscópicos. Deposición con cambios ocasionales de diarrea que inició hace dos meses. Fue medicado con un ciclo de metronidazol oral con resolución parcial de los síntomas gastrointestinales, actualmente con estreñimiento. Niega cefalea o síntomas neurológicos.

Examen físico: paciente en buen estado general, frecuencia cardiaca (FC): 82 latidos/minuto, frecuencia respiratoria (FR): 16 respiraciones/minuto, tensión arterial (TA): 110/70 mmHg, temperatura: 37,4°C, saturación ambiente: 89%. Peso: 78 Kg. y talla: 174 cm. Cabeza y cuello: normocéfalo, mucosa oral húmeda, sin adenopatías cervicales. No soplos carotideos y no ingurgitación yugular. *Tórax:* simétrico, sin signos de dificultad respiratoria. Sin matidez a la percusión. Ruidos cardiacos rítmicos, sin soplos ni sobreagregados. Ruidos pulmonares con murmullo vesicular conservado, estertores generalizados de predominio derecho. *Abdomen:* plano, con ruidos intestinales presentes. Doloroso a palpación en hipocondrio derecho. Signo de Murphy negativo. No se evidencian signos de irritación peritoneal, masas ni visceromegalias. Timpánico a la percusión.

Extremidades: eutróficas, llenado capilar menor a dos segundos, pulsos simétricos, conservados y sin edemas. *Genitourinario:* sin alteraciones morfológicas. *Estado neurológico:* alerta, orientado en persona, tiempo y lugar. Funciones mentales superiores conservadas, sin signos de focalización ni déficit motor o sensitivo. Sensibilidad superficial y profunda conservada. Sin signos meníngeos. *Piel y faneras:* Se observa macula pigmentada, ovoide, de bordes regulares, en la región toracolumbar derecha, refiere que nunca la había notado y niega síntomas asociados. Leuconiquia distal en 3-4-5 dedos de pie derecho. No lesiones interdigitales.

* Estudiante de XII semestre Facultad de Medicina.

Evolución: en la primera cita de medicina general el médico realizó una impresión diagnóstica de Tuberculosis pulmonar por lo cual ordenó realizar una radiografía de tórax y basciloscopia seriada y exámenes serológicos para VIH. No receta ningún medicamento. Sin embargo, el paciente se demora en traer los resultados a la consulta médica.

Cita de control No. 1: *(tres meses después de la primera cita)*

El paciente refiere aumento de la fatiga lo cual no permite que realice ejercicio al que estaba acostumbrado, clase funcional III/IV actual. Hace una semana, refiere aparición de una lesión nodular en la región toracolumbar derecha, dolorosa y sangrante al tacto. Refiere disminución de la tos productiva ahora con expectoración hialina. Niega otros síntomas asociados.

Examen físico: paciente asténico y adinámico, FC: 80 latidos/minuto, FR: 18 respiraciones/minuto, TA: 112/70 mmHg, temperatura: 37,4°C. Saturación ambiente: 88% peso: 72 Kg y talla: 174 cm. Adenopatía axilar derecha, aspecto cauchoso y dolorosa, adherida a planos profundos, tamaño aproximado 3x3 cm. Adenopatía supraclavicular derecha no dolorosa, no adherida a planos profundos, de tamaño 1x2 cm. No soplos carotideos y no ingurgitación yugular. *Tórax* simétrico, sin signos de dificultad respiratoria. Con matidez a la percusión en región de la base pulmonar derecha, entre espacios intercostales de C9 y C10. Ruidos cardiacos rítmicos, sin soplos ni sobreagregados. Ruidos pulmonares con murmullo vesicular abolido en base pulmonar derecha, conservado en las demás regiones, sibilancias campo pulmonar derecho.

Abdomen plano, con ruidos intestinales presentes. Doloroso a palpación en hipocondrio derecho. Signo de Murphy negativo. No se evidencian signos de irritación peritoneal, matidez hepática a 4 centímetros debajo del reborde costal. Timpánico a la percusión. *Extremidades* eutróficas, llenado capilar menor a dos segundos, pulsos simétricos, conservados y sin edemas. *Genitourinario:* sin alteraciones morfológicas. *Estado neurológico* alerta, orientado en persona, tiempo y lugar. Funciones mentales superiores conservadas. Sin signos de focalización ni déficit motor o sensitivo. Sensibilidad superficial y profunda conservada. Sin signos meníngeos. *Piel y faneras*: lesión nodular pigmentada irregular, cubriendo totalmente la lesión macular en la región toracolumbar derecha observada tres meses atrás. Se observa un nódulo central de 2x2cm y otros de 5x5mm alrededor, levemente sanguinolentos y con dolor al tacto.

Resultados de paraclínicos:

Radiografía de tórax: proyecciones anteroposterior y lateral con adecuada técnica. Se observan lesión radio opaca redondeada ocupando la totalidad de la base pulmonar derecha, asociada a engrosamiento pleural parietal e infiltrado reticular difuso, no se determina derrame pleural. *Baciloscopias*: tres de tres negativas. *Elisa para VIH*: negativo.

Analice el caso presentado y responda las siguientes preguntas:

1. Con los síntomas observados en la consulta inicial ¿qué otros diagnósticos diferenciales se han podido formular?
2. ¿Inicialmente hubo algún error en las indicaciones dadas al paciente o en la atención?
3. ¿Cuál es su impresión diagnóstica inicial?
4. ¿Cuáles son las indicaciones y el manejo a seguir?

Respuestas Paciente imaginario 5: ver página 104.

EL CONSUMO MODERADO DEL ALCOHOL

Paula A. Jaime[1], Nestor D. Caicedo[1], Luis A. González[2]

En la historia de la humanidad el alcohol ha sido visto como una sustancia utilizada en un ámbito social; es así, como en la cultura griega Dionisio obsequio al hombre una herramienta que causaba placer, desinhibición, olvido de los problemas y además era considerado como inofensivo para la salud del que lo bebía; este aparente elixir mágico es el que ahora denominamos alcohol (1). Con el paso del tiempo se han reevaluado aquellas creencias y actualmente las bebidas alcohólicas se asocian con el aumento de la violencia, el crimen, la pobreza, la depresión, entre otras; igualmente, el consumo excesivo está relacionado con varias enfermedades que pueden terminar con la vida del consumidor.

Hacia la década de los 90 se encontró que los franceses, a pesar de tener un consumo elevado de grasas saturadas, presentaban menor incidencia de enfermedades cardiovasculares en comparación con los estadounidenses; se presumía que el posible factor cardioprotector se debía al consumo de vino tinto, ya que este era la principal diferencia entre las dos dietas. Dichos hallazgos incentivaron la investigación sobre cuales eran los efectos del vino tinto; los resultados fueron concluyentes y demostraron que no es sólo el consumo de vino tinto si no que un CONSUMO MODERADO de cualquier bebida alcohólica tiene efectos benéficos en la prevención de enfermedades cardiovasculares y en el riesgo de mortalidad; también se halló la relación con los otros grados de consumo, ya que los abstemios presentan algo más de riesgo en relación con los que tienen un consumo moderado, pero mucho menos que aquellos que tiene un consumo pesado o excesivo, lo que conoce como efecto en J, es decir, el no consumo tiene un poco más de riesgo que el consumo moderado, pero cuando el consumo es excesivo el riesgo aumenta considerablemente (2, 3).

Pero entonces surge la pregunta ¿qué es un consumo moderado, pesado o excesivo de alcohol? El consumo moderado de alcohol se define como la ingesta de máximo dos tragos por día en hombre y máximo uno en mujeres. Se considera que un trago está compuesto por 14 g o 17,74 ml de alcohol; si se sobrepasa el consumo diario se considera un consumo pesado; un consumo excesivo se define como el patrón de consumo de alcohol que alcanza la concentración de alcohol en sangre ≥0,08%, que por lo general corresponde a más de cuatro tragos para los hombres o más de tres para las mujeres en aproximadamente dos horas, independiente si el consumo es frecuente o no (cada fin de semana, cada mes o cada fiesta).

En la tabla 1 se presenta la lista de bebidas alcohólicas que se consumen con mayor frecuencia en Colombia, la cantidad promedio en ml por trago y el gramaje de alcohol respectivo.

Los días 18 y 19 de febrero del año 2011 se realizó en la ciudad de Bogotá el Simposio Internacional del Consumo Moderado de Alcohol, realizado por la Asociación Colombiana de Endocrinología. Dentro de los temas expuestos, se habló de los beneficios que conlleva un consumo moderado de alcohol en la salud tales como: la disminución en el riesgo de presentar ciertos tipos de cáncer, la utilidad en pacientes con diabetes *mellitus* y síndrome metabólico para la reducir las cifras de triglicéridos, colesterol, aumento de HDL, menor riesgo en la aparición o progresión de enfermedades cardiacas, disminución en la incidencia de enfermedad coronaria debido a los efectos del alcohol sobre el endotelio que causan vasodilatación, disminución de la aparición de infarto agudo de miocardio, reducción del porcentaje de muerte cardiaca súbita provocada por arritmias ventriculares (2).

Con todos los beneficios que al parecer tiene un consumo moderado de alcohol y sumado a estilos de vida saludables, se pensaría que son una buena estrategia para la prevención de muchas enfermedades principalmente cardiovasculares. Sin embargo, estos dos factores no son los únicos que se deben tener en cuenta en países como Colombia, en donde existen otros factores que

[1] Estudiante V semestre, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Docente Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.

Tabla 1. *Bebidas alcohólicas, cantidad en ml por trago y gramaje de alcohol por trago*

Bebida	Cantidad en ml	Gramos de alcohol/ 100 ml	Consumo Moderado Hombres	Consumo Moderado Mujeres
Cerveza (Poker Ligera, Águila Light)	1 botella (330ml)	≈3,25/100 ml	≈ 861	≈430
Cerveza (Pilsen, Poker, Costeña, Águila)	1 botella (330 ml)	≈4g/100 ml	≈700 ml	≈350 ml
Cerveza (Redd's)	1 botella (330 ml)	≈4,5g/100ml	≈622 ml	≈311 ml
Cerveza (Club Colombia, Peroni)	1 botella (330 ml)	≈4,9g/100ml	≈571 ml	≈286 ml
Aguardiente (Cristal, Néctar, Antioqueño)	1 copa (≈30 ml)	≈29g/100ml	≈96 ml	≈48 ml
Ron (Viejo de Caldas, Santa Fe, Medellín Añejo)	1copa (≈30 ml)	≈35g/100ml	≈80 ml	≈40 ml
Whisky (Old Parr, Johnnie Walker, Grants, Chivas Regal, Buchanan's)	1 vaso (≈70 ml)	≈40g/100ml	≈70 ml	≈35 ml

son importantes y que influyen en el abuso del alcohol tales como los problemas sociales (el desempleo, la pobreza y el conflicto armado) y la cultura de consumo excesivo principalmente en los fines de semana o en cada festividad y no la de un consumo moderado como lo han definido los estudios.

Por las razones expuestas anteriormente, surge una pregunta: ¿será ético promover el consumo moderado de alcohol como estrategia para la prevención de enfermedades en una sociedad como la colombiana, donde promoverlo ocasionaría posiblemente más perjuicios que beneficios? (4).

Referencias

1. Marks D. Murray M. Evans B. et al; Psicología de la salud teoría investigación y práctica; Manuel Moderno; 1 ed, 2008.
2. Saremi A. Arora R; The Cardiovascular Implications of Alcohol and Red Wine; American Journal of Therapeutics, 2008; 15:265–277.
3. Keefe J. Bybee K. Lavie C; Alcohol and Cardiovascular Health; Journal of the American College of Cardiology, 2007; 50(11).
4. Kloner R. Rezkalla S; To Drink or Not to Drink? That Is the Question; *Circulation* 2007; 116; 1306-1317.

ENTORNO

I. LOS PREMIOS NOBEL EN MEDICINA Y SU IMPORTANCIA EN EL DESARROLLO DE LAS NUEVAS TÉCNICAS TERAPÉUTICAS Y EN EL DIAGNÓSTICO 3

Iván Mauricio González[1] *y Juan Sebastián Montoya*[2]

Niels Ryberg Finsen

Nació el 15 de diciembre de 1860, en Thorshavn, Islas Feroe, Dinamarca y murió el 24 de septiembre de 1904. En 1882 inició sus estudios de medicina en la universidad de Copenhague, en donde fue nombrado profesor de anatomía en 1890, año en el que finalizó su carrera. En el año 1883 empezó a padecer la enfermedad de Pick caracterizada por el engrosamiento progresivo del tejido conectivo de las membranas del hígado, del corazón y del bazo, con la consecuente disfunción de estos (1). Con el tiempo desarrolló problemas cardiacos y finalmente su incapacidad aumentó tanto, que lo obligó a usar silla de ruedas; sin embargo, esto no fue un impedimento para contribuir con inmensa voluntad y energía a la medicina, gracias los resultados de sus investigaciones (2).

Finsen desarrolló su idea basado por un lado, en las observaciones de su enfermedad: "*Esta enfermedad que tengo ha desempeñado un papel muy grande en el desarrollo de mi investigación sobre la luz: he sufrido de anemia y cansancio y debido a mi estancia en una casa en frente del mar y con mucha luz, comencé a creer que podría mejorar con ayuda del sol; por lo tanto, pasé tanto tiempo en el sol como fuera posible, pero como médico entusiasta, quería saber los beneficios que el sol otorga. Lo consideré desde el punto de vista de la fisiología pero no tuve respuesta, así que concluí que yo tenía razón y ésta no*" (1). Esta frase originó su primera pregunta, ¿qué papel jugaba la luz en el organismo de los seres de este planeta?

Por otro lado, las observaciones hechas por Duclaux, relacionadas con la capacidad de los rayos UV (ultravioleta) para eliminar colonias de bacterias, lo llevaron a cuestionarse si la luz natural podía destruir colonias de bacterias sobre la piel de los pacientes, y logró comprobar que es la luz y los rayos actínicos (azul, violeta y UV) y no el efecto térmico que ella produce, la que tiene tales propiedades bactericidas. Ideó entonces la lámpara Finsen que es una lámpara de arco voltaico para el tratamiento de problemas de la piel, resaltando que si la radiación es demasiado fuerte puede dañar los tejidos, denotando que esto puede en cierta medida prevenirse por la pigmentación de la piel como en personas de color o en quienes están muy expuestos al sol. Luego inició el uso de las radiaciones a otro tipo de enfermedades (1).

A pesar de no ser un método construido con bases científicas o en hechos definitivos que aseguraran el éxito del proceso, el objetivo de su trabajo fue utilizar los efectos directos de los rayos del sol sobre las lesiones de la piel. En 1893 en su estudio realizado con ocho enfermos de viruela, a quienes ubicó en cuartos oscuros y expuso las lesiones que tenían a radiación lumínica roja; los resultados observados fueron una mejoría del estado de salud general y en el aspecto cutáneo; basado en sus resultados escribió el libro titulado "Efecto de los rayos químicos sobre el organismo vivo" (1,2).

Por sus trabajos se le ha considerado como el creador de fototerapia y en reconocimiento a su contribución sobre su uso en el tratamiento de las enfermedades, en especial del lupus vulgaris, se le otorgó el premio Nóbel en 1903. Otros de los galardones que Finsen recibió son: el título de Profesor en 1898, Caballero de la Orden de Dannebrog en 1899, la medalla de oro al mérito danés y el Premio de Cameron por la Universidad de Edimburgo en 1904. Fue miembro honorario de numerosas sociedades en los países escandinavos, en Islandia, Rusia y Alemania (2).

[1] Estudiante de V semestre, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.
[2] Estudiante de IV semestre, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.

"El recurso a los fenómenos físicos para el tratamiento y prevención de distintas enfermedades es una constante en distintas sociedades y culturas a lo largo de la historia, y por supuesto lo es en la medicina científica. Se puede hablar del recurso al agua (hidroterapia), a la luz solar (helioterapia) etc." (3).

Referencias

1. The Nobel Prize in Physiology or Medicina 1903. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1903/finsen.html
2. José L. Fresquet Febrer. Niels Ryberg Finsen (1860-1904). Instituto de Historia de la Ciencia y Documentación. Universidad de Valencia – CSIC. Julio, 2005. http://www.historiadelamedicina.org/finsen.html
3. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1903. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1903.html

Ivan Petrovich Pavlov

Pavlov nació el 14 de septiembre de 1849 en Riazan, Russia y murió el 27 de febrero de 1936 en Leningrado. Estudió Teología, pero motivado por el doctor I. M. Sechénov, padre de la Fisiología rusa, y por la lectura incontenible de estudios científicos decidió dedicar su vida a la ciencia. Se matriculó entonces en 1870 en la Facultad de Física pura y Matemáticas para realizar el curso de Ciencias Naturales (1). Después estudió Medicina y Química en la Universidad de San Petersburgo y al finalizar su doctorado en 1883 en Alemania, se especializó en Fisiología intestinal y en la mecánica del Sistema Circulatorio, bajo la supervisión de Ludwid y Haidenhein. El tema de su tesis doctoral fue "Los nervios centrífugos del corazón"; con este maravilloso trabajo establece los principios sobre la función trófica del sistema nervioso y se demuestra un patrón básico en la regulación refleja de la actividad de los órganos del sistema circulatorio.

Durante toda la carrera científica de Pavlov, sus investigaciones fueron en el campo de la Fisiología, área que le apasionaba extraordinariamente, especialmente en la Fisiología del corazón, el Sistema nervioso y el Aparato digestivo. Con la colaboración de Afanasyev, otro estudiante aferrado al conocimiento, realizó uno de sus primeros trabajos sobre la fisiología de los nervios pancreáticos. Por éste trabajo Pavlov fue galardoneado con una medalla de oro.

En 1900 Pavlov trabajó para profundizar el conocimiento sobre el sistema digestivo y la composición de los jugos gástricos; los trabajos sobre la fisiología de las glándulas digestivas y factores nerviosos le hicieron merecedor del Premio Nóbel de Fisiología y Medicina en 1904 (2).

Pavlov formuló la ley del reflejo condicionado; su experimento se basó en el uso de una campana para avisar sobre el alimento a los caninos y así demostrar un condicionamiento; observó que los perros comenzaban entonces a salivar justo al oír el sonido de la campana. Sus trabajos sobre digestión se enfatizaron en los condicionamientos presentados en los animales y cómo estos influyen en la secreción de enzimas que degradan los alimentos a digerir. Así Pavlov demostró que la magnitud de las respuestas a diferentes estímulos puede determinarse por el volumen total de enzima en una determinada unidad de tiempo. Se puede considerar a Pavlov como pionero del conductismo, debido a sus investigaciones sobre el condicionamiento y la generalización del estímulo que forman parte del aprendizaje. Su trabajo tuvo un gran impacto sobre la psicología y el aprendizaje.

A lo largo de su vida ocupó importantes cargos, en el Instituto de Medicina Experimental, uno de los sitios más importantes en investigación en el campo de la Fisiología, organizó y dirigió el Departamento de Fisiología; fue profesor de Farmacología en el Instituto de Medicina Militar. Fue nombrado Académico en la Academia de Ciencias de Rusia, recibió el título de Doctor honorario de la Universidad de Cambridge y recibió la Orden de la Legión de Honor de la Academia de Medicina de París.

Referencias

1. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1904/pavlov-bio.html
2. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1904/pavlov-bio.html
3. Ivan Petrovich Pavlov :: Opposition to Communism - Britannica Online Encyclopedia
4. Todes, Daniel Philip (2002). *Pavlov's Physiology Factory*. Baltimore MD: Johns Hopkins University Press. pp. 232 & sig.. ISBN 0801866901.

II. SABÍA USTED QUE...

LA FRENOLOGÍA

Juan Sebastián Montoya y Juliana Andrea Arteaga
Estudiantes de IV Semestre

Hace aproximadamente dos centurias, una teoría curiosa fue propuesta por el neuroanatomista y fisiólogo Franz Joseph Gall, un médico alemán, nacido en Tiefenbrunn en 1758. Según Gall, el carácter y la personalidad dependían de la morfología del cráneo, sus medidas, y sus protuberancias distintivas. Así, alguien con cierta protuberancia podría ser un muy buen orador, o con tendencia al homicidio. Esta falsa doctrina, conocida como frenología (*phrenos*: mente, *logos:* estudio), rápidamente se convirtió en una mofa entre la mayoría de círculos médicos, aunque alcanzó gran popularidad a lo largo del siglo XIX.

Sin embargo, la frenología sirvió para mucho más que para amenizar las reuniones de los neurocientíficos incipientes, pues por primera vez se atribuyó un sustrato anatómico a lo conocido como la mente y se procuró una lluvia de ideas frescas para los investigadores en neurociencias de la época como el reconocido médico, anatomista y antropólogo francés Paul Broca, quien del tema opinó: "Yo he pensado que si existe cosa tal como la ciencia de la frenología, sería la frenología de las circunvoluciones (en la corteza), y no la frenología de las protuberancias (en la cabeza)". Poco después, Paul Broca sentó la piedra angular para la neurociencia al descubrir el centro del habla en 1861 (atribuyó a la corteza pre frontal inferior izquierda la importante labor), confirmando la inherente asociación cerebro-mente propuesta por Gall. A Gall se le considera como uno de los anatomistas e investigadores del cerebro más importantes, murió en 1828 en Paris.

IV. CONGRESOS DE MEDICINA 2011

Julie P. Sánchez Cárdenas
Estudiante V semestre

Anestesiología

XXIX Congreso Colombiano de Anestesiología y Reanimación. 17 - 20 de marzo de 2011, Medellín.

Congreso de Dolor en el Eje Cafetero, Colombia. 12 de agosto de 2011, Pereira.

Ciencias Básicas

XLVI Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. 11 - 15 de octubre del 2011, Medellín.

VII Congreso Nacional de Morfología. 27 - 29 de octubre del 2011, Santa Marta.

Cirugía

XXXVII Congreso Nacional de Avances en Cirugía. 12 de agosto de 2011, Bogotá.

V Congreso Iberoamericano de Cirugía Pediátrica y XVIII Congreso Colombiano de Cirugía Pediátrica. Del 21 - 25 de Agosto de 2012, Cartagena.

Cuidado crítico

IX Congreso Panamericano e Ibérico de Medicina Crítica y Terapia Intensiva. Del 29 de Noviembre al 3 de Diciembre de 2011, Cartagena.

II Encuentro Panamericano e Ibérico de Medicina Crítica Pediátrica. Del 29 de Noviembre al 3 de Diciembre de 2011, Cartagena.

VIII Congreso Colombiano de Medicina Crítica y Cuidado Intensivo. Del 29 de Noviembre al 3 de Diciembre de 2011. Cartagena.

V Congreso Nacional de Cuidado Intensivo Pediátricos. Del 29 de noviembre al 3 de diciembre de 2011, Cartagena.

Endocrinología

IX Congreso Colombiano de Menopausia. 3-5 de marzo de 2011, Medellín.

Simposio "Lo último en diabetes". 9 de julio de 2011, Barranquilla.

VI Congreso Colombiano de Diabetes y Congreso Región Centro ALAD. 11-14 de agosto del 2011, Santa Marta.

Simposio de patología ósea: un problema endocrinológico. 3 de septiembre de 2011, Cali.

Gastroenterología

VI Simposio Latinoamericano, Iberoamericano y Colombiano "Enfermedades Digestivas en Niños. 7 - 9 de abril de 2011, Cartagena.

IV Congreso Colombiano y del Caribe en Gastroenterología. 7-9 de abril de 2011, Cartagena.

Gestión Sanitaria

Foro Internacional CGH 2011. 15-17 de junio del 2011, Bogotá.

Imagenología

XXXVI Congreso Colombiano de radiología. 4 - 6 de agosto de 2011, Cartagena.

Medicina Estética

II Jornada de actualización en Medicina estética.11 - 12 de agosto de 2011, Medellín.

II Congreso Interactivo de Medicina Estética. 22 - 24 de septiembre de 2011, Cartagena.

Medicina interna

IX Congreso Colombiano de Enfermedades Infecciosas. 17-20 de junio del 2011, Medellín.

XXIII Curso de Posgrado ACMI – ACP "Nuevas Intervenciones en Medicina del Adulto". 11-14 de agosto de 2011, Bucaramanga.

XIV Congreso Estado Actual en Enfermedades Cardiacas y Vasculares. 17-19 de agosto de 2011, Medellín.

XIII Congreso Colombiano de Reumatología. 11-15 de agosto de 2011, Barranquilla.

XX Congreso Latinoamericano de Parasitología y XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Del 27 septiembre al 1 de octubre de 2011, Bogotá.

XVII Congreso Colombiano de Nefrología e Hipertensión Arterial. 18-22 de abril del 2012, Cartagena.

XXIV Congreso Colombiano de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. 8-10 marzo del 2012, Cali.

Neurocirugía y neurología

XXIII Simposio Internacional de Neurocirugía. Del 31 de marzo al 3 de abril de 2011, Cartagena.

III Congreso de Neurocirujanos en formación. 25-27 de junio de 2011, Melgar, Tolima.

III Simposio de Estereotáctica, cirugía funcional, dolor y epilepsia. 21-23 de julio de 2011, Cartagena

XI Congreso Colombiano de neurología "De la molécula a la clínica" 11-14 de agosto de 2011, Bogotá.

IV Simposio Internacional de columna. 13-15 de octubre de 2011, Medellín.

III Simposio de estereotáctica, cirugía funcional, dolor y epilepsia. 27-29 de octubre de 2011, Cartagena.

I Congreso nacional de Neuro-oncología. 24 - 27 de noviembre de 2011, Cartagena.

Oncología

Simposio nódulo y cáncer de tiroides. 30 de julio de 2011, Medellín.

Ortopedia y traumatología

Curso Internacional en actualización de columna. 3 - 5 de febrero de 2011, Cartagena.

XXI Congreso Latinoamericano de Ortopedia y Traumatología. 11-14 de mayo de 2011, Cartagena.

LVI Congreso Colombiano de Ortopedia y Traumatología. 11-14 de mayo de 2011, Cartagena.

III Curso Nacional de Ortopedia Geriátrica, manejo integral de la patología músculo esquelética en el adulto mayor. 10-11 de junio de 2011, Armenia.

I Encuentro Iberoamericano de Ortopedia infantil. 14-16 de julio del 2011, Bogotá.

VI Curso Internacional de Medicina Deportiva y Artroscópica. 7-9 de octubre de 2011, Cartagena.

VI Congreso ACOMM (Asociación Colombiana de Osteología y Metabolismo mineral). 14-16 de octubre de 2011, Bogotá.

Curso Infecciones y Fijación Externa. 17-19 de noviembre de 2011, Armenia.

VI Encuentro Nacional Residentes de Ortopedia y Traumatología. 2-3 de diciembre de 2011, Bogotá.

Pediatría

XXVII Congreso Colombiano de Pediatría ¨Ermilson Leal Cardozo". Del 30 de junio al 2 de julio de 2011, Cali.

IX Congreso Colombiano de Dermatología Pediátrica (SIMPOSIO CILAD). 12-14 de agosto 2011, Cartagena.

Psiquiatría

I Congreso Internacional de Psiquitría Bio-Psico-Social y Psicología Preventiva. 10-12 de febrero de 2011, Armenia.

VI Simposio Latinoiberoamericano y Colombiano Enfermedades Digestivas en niños. 07-09 de abril de 2011, Santa Marta.

XXXIII Congreso Interamericano de Psicología (SIP 2011). 26-30 de junio de 2011, Medellín.

Salud Pública

I Congreso Nacional de Médicos Especialistas en Salud Ocupacional – Acolmédica. 02-03 de septiembre de 2011, Bogotá.

Trasplantes

XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe. 23-26 de marzo del 2011, Cartagena

Urgencias y APH

III Congreso Internacional Servicios de Emergencia Médica - EXPOSEM 2011. 01-03 de abril de 2011, Bogotá

Otros

IV Congreso Mundial de Estudiantes de Medicina. 20 - 24 de octubre del 2011, Cancún, México.

Meditech 2012. 8 - 11 de mayo del 2012, Bogotá.

V. ¿SABE QUÉ ES EL TOEFL?

Angélica M. Pinzón Beltrán
Estudiante de VI semestre, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada

El **TOEFL** (*Test of English as a Foreign Language)* es un examen que mide si una persona, para quien el inglés no es su lengua nativa, tiene el nivel necesario para realizar estudios universitarios en Estados Unidos; la prueba evalúa la capacidad de escuchar, leer, hablar y escribir en inglés.

El examen se puede realizar en todos los países del mundo que cuente con sitios autorizados por el ETS (*Educational Testing Services*) en donde se puede presentar en forma escrita (PBT: *paper based test*), por computadora (CBT) o por internet (iBT). El precio del examen no es el mismo en todos los lugares, pero es alrededor de 180 dólares americanos.

¿Qué se evalúa en las cuatro áreas del lenguaje en el TOEFL?

- Comprensión de lectura o *Reading Comprehension*: evalúa la capacidad de leer y comprender el lenguaje escrito; puede durar entre una a una hora y media horas.
- Comprensión auditiva o *Listening Comprehension*: mide la capacidad para entender el lenguaje hablado; puede durar entre una a una hora y media horas.
- Comunicación oral o *Speaking*: evalúa la capacidad para comunicarse en inglés. Esta sección no se presenta en todos los tipos de TOEFL, no está implementada en la modalidad pBT.
- Comunicación escrita o *Writing*: evalúa la gramática y la capacidad de escribir en inglés. Esta sección no se presenta en todos los tipos de TOEFL, aunque sí en el nuevo iBT, el más exigido.

¿Quiénes presentan el TOEFL?

- Las personas que desean ir a los Estados Unidos a realizar estudios universitarios (Pregrado o posgrado) y que tengan un nivel entre intermedio y avanzado.
- Estudiantes o profesionales que van a ingresar a instituciones que exijan la presentación del examen.
- Estudiantes que desean estudiar inglés y que se les exige para su admisión o en el momento de la finalización del curso.
- Estudiantes o trabajadores que quieren obtener visas.

Para presentar el examen por internet ingresa a la página http://www.ets.org/

¿Cómo registrarse?

- Se puede registrar 24 horas al día, los siete días a la semana. Se escribe el nombre completo y la identificación en el día que desea presentar el examen
- Se puede pagar con tarjeta debito o crédito (American Express, Discover, JCB, MasterCard o VISA), con cheque electrónico, si tiene cuenta en un banco del territorio americano o con el voucher de registro obtenido en un centro de recurso TOEFL iBT Test.

Las fechas del año 2011 para presentar el examen a través de la página de ETS son las siguientes:

Colombia	Barranquilla	Internet-based Test	Fri., Apr 15, 2011	Sat., Apr 30, 2011	
			Fri., May 13, 2011	Sat., May 14, 2011	Sat., May 28, 2011
			Fri., Jun 10, 2011	Fri., Jun 17, 2011	
Colombia	Bogotá,	D. E	Internet-based Test	Sat., May 14, 2011	Sat., May 28, 2011
			Fri., Jun 10, 2011	Fri., Jun 17, 2011	
			Sat., Jun 25, 2011		
Colombia	Bogotá	Internet-based Test	Fri., May 13, 2011	Sat., May 14, 2011	Sat., May 28, 2011
			Fri., Jun 10, 2011	Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011
Colombia	Bucaramanga	Internet-based Test	Sat., Apr 02, 2011	Fri., Apr 15, 2011	
			Sat., Apr 30, 2011	Fri., May 13, 2011	
			Sat., May 28, 2011	Fri., Jun 10, 2011	
			Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011	
Colombia	Cali	Internet-based Test	Fri., Apr 15, 2011	Sat., Apr 30, 2011	
			Fri., May 13, 2011	Sat., May 14, 2011	
			Sat., May 28, 2011	Fri., Jun 10, 2011	
			Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011	
Colombia	Cartagena	Internet-based Test	Sat., Apr 30, 2011	Sat., May 14, 2011	
			Sat., May 28, 2011	Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011
Colombia	Chía	Internet-based Test	Fri., May 13, 2011	Sat., May 14, 2011	
			Sat., May 28, 2011	Fri., Jun 10, 2011	
			Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011	
Colombia	Cúcuta	Internet-based Test	Sat., Apr 30, 2011	Sat., May 14, 2011	Fri., Jun 10, 2011
Colombia	Ibagué, Tolima	Internet-based Test	Sat., Apr 30, 2011	Sat., May 14, 2011	Fri., Jun 10, 2011
Colombia	La Guajira	Internet-based Test	Sat., Apr 02, 2011	Sat., Apr 30, 2011	
			Sat., May 14, 2011	Sat., May 28, 2011	Sat., Jun 25, 2011
Colombia	Manizales, Caldas	Internet-based Test	Fri., Apr 15, 2011	Sat., Apr 30, 2011	

			Sat., May 14, 2011	Fri., Jun 10, 2011	
Colombia	Medellín	Internet-based Test	Sat., Apr 30, 2011	Fri., May 13, 2011	
			Sat., May 14, 2011	Sat., May 28, 2011	
			Fri., Jun 10, 2011	Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011
Colombia	Montería	Internet-based Test	Sat., Apr 02, 2011	Fri., May 13, 2011	
Colombia	Pasto	Internet-based Test	Sat., Apr 30, 2011	Sat., May 14, 2011	Fri., Jun 10, 2011
Colombia	Pereira	Internet-based Test	Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011	
Colombia	Popayán	Internet-based Test	Sat., Apr 30, 2011	Sat., May 28, 2011	Sat., Jun 25, 2011
Colombia	Villavicencio	Internet-based Test	Fri., Apr 15, 2011	Sat., Apr 30, 2011	
			Fri., May 13, 2011	Sat., May 14, 2011	
			Sat., May 28, 2011	Fri., Jun 10, 2011	
			Fri., Jun 17, 2011	Sat., Jun 25, 2011	

¿Cómo son los puntajes del TOEFL iBT?

El examen presentado por internet tiene las siguientes escalas de puntajes de cada una de las secciones.

- Comprensión de lectura o *Reading Section* (puntaje de: 0 – 30)
- Comprensión auditiva o *Listening Section* (puntaje de: 0 – 30)
- Comunicación oral o *Speaking Section* (puntaje de: 0 – 30)
- Comunicación escrita o *Writing Section* (puntaje de 0 – 30)

Para un puntaje total: (0 – 120)

Cada institución exige un puntaje diferente del TOEFL; normalmente es necesario obtener un puntaje de 90 para el iBT. Los resultados son válidos por dos años después de la fecha de la prueba y no hay límite en el número de veces para presentar el examen. Para recibir una calificación oficial la persona debe contestar por lo menos una pregunta de la sección de comprensión de lectura de lectura y una de la comprensión auditiva, escribir un ensayo y completar por lo menos una tarea de la sección de comunicación oral.

V. ACEMED-UMNG, ABRE FRONTERAS

Ángela María Mojica R.[1], y Omar J. Calixto[2]
[1]Presidente ACEMED UMNG, estudiante IX semestre. [2]Leo-ACEMED-UMNG, Estudiante VII semestre

La Asociación Científica de estudiantes de medicina de la Universidad Militar Nueva Granada (ACEMED-UMNG) desea en esta ocasión comunicar las actividades desarrolladas por la asociación en el último año. Uno de los mayores logros alcanzados y que nos han dado mucha satisfacción es el establecimiento de los intercambios estudiantiles entre nuestra Universidad y ASCEMCOL (Asociación de Sociedades Científicas de Estudiantes de Medicina de Colombia), que por intermedio de la IFMSA, los estudiantes pueden acceder a los intercambios tanto a nivel académico como cultural.

Gracias a estos intercambios, una estudiante de último año, tuvo la oportunidad de estar en el hospital de Barcelona Valld'Hebron, en Cataluña, en donde se entrenó en el área de la hepatología y trasplante hepático. El objetivo de ACEMED-UMNG es promover la participación de los estudiantes de la facultad en la convocatoria nacional, para que cada año sea mayor el número de personas las que tengan la oportunidad de interactuar con estudiantes de medicina de otras Universidades, las cuales posiblemente cuenten con ambientes distintos y metodologías de aprendizaje diferentes. Estas rotaciones son muy importantes porque ayudan al fortalecimiento de habilidades aprendidas en nuestra formación y a visualizar a la medicina de una manera más global.

Junto a estos logros hemos sido también los anfitriones de un intercambio proveniente de Francia que realizó prácticas con el servicio de medicina interna y

urgencias en el Hospital Militar Central, tiempo en el cual junto al programa académico se logró el acompañamiento durante actividades sociales y culturales permitiendo crear nuevo lazos y fortalecimiento de redes de apoyo.

Este año también participamos en la X Convención Nacional de ASCEMCOL, donde se debatieron diferentes temas de importancia en salud; además, en la asamblea general se propuso que al interior de cada comité se debían establecer programas que ayudaran a estrechar los lazos entre las facultades de medicina de toda la nación.

V. RESPUESTAS PACIENTE IMAGINARIO 5

1. Neumonía por gérmenes atípicos, silicosis.
2. En el caso de sospecha de tuberculosis pulmonar, se debe realizar la confirmación inmediatamente por medio de baciloscopia y cultivo, antes de dar de alta al paciente. Se deben realizar exámenes para descartar cualquier enfermedad inmunosupresora.
3. Dx: melanoma nodular metastático
4. Tomar biopsia de la lesión y estudios de extensión, para realizar la estadificación TNM y según esto tomar el mejor tratamiento disponible.

CARTA AL EDITOR

Ana María Morales, Eduardo Burbano*, Edward Javier Acero***

En la edición de Semilleros MED Vol. 4 N° 1 de Enero del 2010; en las páginas 49-58, el artículo titulado "SÍNDROME DE MIRIZZI: CASO CLÍNICO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA" en el paraclínico de cuadro hemático de "referencia" y del paciente involucrado, todos los datos se encuentran reportados en unidades de magnitud miligramos por decilitro (mg/dl), no habiendo fuente bibliográfica de referencia que lo soporte y posiblemente de muy difícil consecución, debido a que la comunidad médica en cualquier contexto aborda el análisis del cuadro hemático de referencia y de manera estandarizada para glóbulos rojos y blancos en expresiones por milímetro cúbico de sangre o sus múltiplos, hematocrito en porcentaje, la hemoglobina en gramos por decilitro; los índices eritrocitarios de volumen corpuscular medio en fentolitros, hemoglobina corpuscular media en picogramos y la concentración de hemoglobina corpuscular media en picogramos por decilitro (1). ¿Qué correlación clínico-patológica se puede establecer y/o profundizar para el caso clínico publicado? Incluso si se involucran los datos, se entorpece el análisis. El cuadro hemático es de las pruebas más solicitadas al laboratorio clínico, haciendo parte del perfil de exámenes relacionados directamente con las células de la sangre e indirectamente para hacer seguimiento de entidades incluso no hematológicas como el síndrome publicado.

En cuanto a los datos reportados de química sanguínea tanto de referencia como del paciente, el valor de las unidades de magnitud para la enzimas Transaminasas ASAT y ALAT, la Fosfatasa Alcalina y Amilasa se hacen de nuevo en mg/dl, cuando la unidad en estándares internacionales son unidades de actividad enzimática, indicados con la sigla "U", y que significa la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 mol de sustrato por minuto, estas "unidades" se pueden expresar por litro o sus múltiplos, lo cual configura la concentración de unidades por litro U/L, o unidades por decilitro U/dl, o unidades por mililitro U/ml, o unidades por microlitro U/µL (1). Si bien mg/dl es una medida de concentración, hacerlo para cuantificar enzimas o células impone un obstáculo al análisis médico, alejando los datos paraclínicos de una correlación clínico patológica expedita, que incluso termina por convertir un artículo científico en una publicación de carácter anecdótico (1).

No son fábulas los graves errores médicos ocurridos por no indicar la unidad de una magnitud o malinterpretar un valor numérico paraclínico sin la unidad correcta (1). La información publicada en nuestra revista debe contener datos precisos y exactos por parte de los escritores de los artículos y exigirse por parte del equipo de revisión, ese es el aseguramiento de una buena publicación, lo contrario fomenta el desinterés del lector informado y limita su difusión; debemos considerar el público médico en formación al cual va dirigida la publicación, lo cual exige de manera concreta información de alta calidad y de una excelente precisión. Parafraseando al Dr. Gerzaín Rodríguez Toro, Premio Nacional de Medicina en el 2009 en su artículo 'Para Reflexionar' (2) cuando hace una traducción libre del Dr. A. B. Ackerman, un líder mundial en dermopatología que escribe sobre las dificultades de encontrar literatura científica de calidad con respecto a Micosis Fungoides hipopigmentadas; dice A.B. Ackerman en resumen; que si un estudiante no puede ir de "cabo a rabo" en un trabajo particular publicado, a causa de

* Estudiante Morfología. Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada.
** Docente Morfología, Área de Ciencias Básicas. Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada. Docente Morfofisiología. Área de Morfofisiología. Facultad de Medicina-Grupo PROSEIM - Universidad de la Sabana.

defectos crasos del mismo, ¿Cual es en primer lugar el punto de haber producido un trabajo; y segundo, de haberlo difundido? El asunto no es solo de profesionalismo y competencia; lo es de conciencia social (2).

Referencias

1. Rigg C, Brown S, Dybkaer R, Olsen H, *Compendium of terminology and nomenclature of properties in clinical laboratory y sciences*; Blackwell Science, Oxford; 1995; ISBN 0-86542-612-0.
2. Rodríguez G; Para reflexionar; *Cuadernos de Medicina en Investigación y Salud*. 2007; 1(1): 11-12.

GUÍA PARA LOS AUTORES

Con el objeto de proporcionar una ayuda estructurada para la elaboración de un artículo, el editor y el grupo colaborador de edición de la revista *Semilleros Med* han elaborado las directrices relacionadas con el formato que deben contemplar los manuscritos enviados a esta revista, las cuales han sido aprobadas por el Comité de publicaciones de la Facultad. Las recomendaciones para los articulistas fueron elaboradas y adaptadas con base en guías internacionales ampliamente reconocidas como son: *International Committee of Medical Journal Editors 2006, Students Biomedical Journal 2000, World Association of Medical Editors y Normas Vancouver - Actualización 2006* (http://www.icmje.org/).

1. Normas de la revista para la publicación

Los autores deben presentar el artículo que desean someter a publicación en medio magnético junto con los archivos de las referencias bibliográficas usadas en el trabajo, más una copia escrita en papel tamaño carta, a doble espacio, enumeradas y letra arial 12.

Con el artículo se debe enviar el **FORMATO DE REGISTRO PARA EL INGRESO DE TRABAJOS A PUBLICACIÓN - REVISTA SEMILLEROS *MED*** diligenciado y una carta dirigida al editor en donde se presenta el artículo y se expresa el deseo de someterlo a publicación en la revista, la cual debe estar firmada por todos los autores. El envío de este formato es un requisito indispensable en donde el autor principal y todos los coautores expresan claramente, que el manuscrito presentado ha sido leído y aprobado por todos para ser enviado a Semilleros Med; y se da autorización para la divulgación del mismo en la revista incluyendo la versión electrónica, con protección a sus derechos de autor. Debe aclararse que el artículo no ha sido publicado con anterioridad y deben además manifestar que en el manuscrito no hay plagio. Se colocarán los datos personales de los autores incluyendo: nombre completo, documento de identidad, código institucional, último nivel académico, teléfono fijo y celular y dirección del correo electrónico. También deben indicar quien es el autor para correspondencia.

Autoría: Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial en lo que se refiere a: 1) la concepción y el diseño del estudio, la recolección de los datos, el análisis y/o la interpretación de los mismos; 2) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte sustancial de su contenido intelectual; y 3) la aprobación final de la versión que se enviará a publicación. El orden de los autores dependerá de la decisión que de forma conjunta se tome.

No debe infringirse el derecho a la intimidad de los pacientes, por ello debe contarse con su consentimiento informado. No se publicará información de carácter identificativo en textos, fotografías e historiales clínicos, a menos que dicha información sea esencial desde el punto de vista científico y el paciente (familiares o tutor) haya dado su autorización por escrito para la publicación, el cual debe tener acceso directo al documento original que se pretende publicar. No se podrán alterar o falsear datos del paciente para lograr el anonimato.

2. Requisitos para el envío de manuscritos:

- Revise la ordenación del documento: página del título con autor y datos del mismo, resumen con palabras clave en español e inglés, texto (introducción, desarrollo del tema, conclusiones y agradecimientos, si es de pertinencia materiales y métodos, resultados y discusión) y referencias bibliográficas.
- Las tablas, figuras y gráficas con sus respectivas leyendas deben ser realizadas por el articulista, de no serlo (si es tomada de libros, Internet o revistas), debe presentarse adjunto la autorización del autor de la misma o de quien tenga los derechos sobre las mismas.
- El texto del artículo se imprimirá en papel blanco, tamaño carta y a una sola cara.
- La entrega de artículos se hará en forma de trabajo impreso, junto a CD etiquetado con formato y nombre de archivo. Debe incluir carpeta de los artículos citados en los dos medios y carta de autoría.
- Conserve una copia de todo el material enviado.

3. Contenido estructural del artículo

3.1. Primera página:

La primera página del artículo debe contener:
a- El título en mayúscula el cual debe ser conciso pero informativo sobre el tema central de la publicación. b- el nombre de cada uno de los autores acompañados de su último grado académico y su afiliación institucional y dirección postal (debe estar incluido ciudad, departamento y país). c- nombre, dirección, fax y dirección electrónica del autor responsable de la correspondencia.

3.2. Resumen y palabras clave:

El resumen debe redactarse en español e inglés; máximo 250 palabras. En él se indicarán los objetivos de la revisión o del trabajo de investigación, los materiales y métodos empleados, los resultados más destacados mediante datos concretos y a ser posible, su significación estadística y las principales conclusiones. Al final del resumen deberán agregar de tres a seis palabras clave que deben ayudar a los indicadores a clasificar el artículo. Para ello se debe consultar los términos enlistados en el *Medical Subject Headings (MeSH)* http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm (para el inglés) y para las de español consultar DeCS (Descriptores en Ciencias de la Salud del índice de la Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud) en http://decs.bvs.br

3.3. Introducción:

Se indicará el propósito del artículo y se realizará de forma resumida una justificación del estudio o artículo de revisión. En esta sección del artículo se incluirán las referencias bibliográficas estrictamente necesarias. No se colocarán datos o conclusiones. Dicha introducción no debe tener más de una página.

3.4. Materiales y métodos:

Se describirá con claridad los materiales y métodos empleados con la bibliografía correspondiente, la forma como fueron seleccionados los sujetos sometidos a observación o participantes en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio), con las respectivas variables.

3.5. Resultados:

Los resultados se presentan en una secuencia lógica. En el texto no se debe repetir los datos que están en las figuras y/o en las tablas. Enfatice solo las observaciones importantes.

3.6. Discusión y conclusiones
Se debe enfatizar los aspectos nuevos e importantes y las conclusiones que se derivan de ellos. No se debe de repetir lo expresado en los resultados. Explique el significado de los resultados. Aquí se pueden incluir las recomendaciones cuando existan.

3.7. Agradecimientos:
Especificar las colaboraciones que se deban reconocer pero que no justifican autoría.

3.8. Referencias bibliográficas:
Las referencias o citas bibliográficas constituyen una sección destacada en un trabajo científico. La selección cuidadosa de documentos relevantes, es un elemento que da solidez a la exposición teórica del texto y constituye una importante fuente de información para el lector. El número mínimo de referencias bibliográficas debe ser de 20, de los cuales el 80% (como mínimo) ha de corresponder artículos científicos, el porcentaje restante a páginas de Internet, libros, obras de consulta y demás. Los artículos revisados deben tener una fecha de publicación no anterior al año 2002 en su gran mayoría, exceptuando los que son "clásicos" para determinado tema, y bases del trabajo que se esta realizando.

Numere las referencias consecutivamente según el orden en que sean mencionados en el texto, utilizando números arábigos en superíndice y sin paréntesis. Cuando hay más de una cita con numeración consecutiva, se coloca la primera y la última separadas por un guión (ej: 1-10, en caso que las citas vayan de la 1 a la 10). Si en el texto se menciona un autor, el número de la referencia se pone tras el nombre del autor, al tratarse de un trabajo realizado por más de dos autores, se cita el primero de ellos seguido de la abreviatura "col" y su número de referencia.

Se recomienda no citar revistas traducidas al español. Es aconsejable recuperar la cita de la versión original, ya que es más fácil localizar la revista original, además de resultar el documento original más fidedigno.

Las referencias que se realicen de originales aceptados pero aún no publicados se indicará con expresiones del tipo "en prensa" o "próximo a publicarse"; los autores deberán obtener autorización escrita y tener constancia que su publicación está aceptada. La información sobre manuscritos presentados a una revista pero no aceptados, cítela en el texto como "observaciones no publicadas", previa autorización por escrito de la fuente.

Esquema para las referencias: (http://www.icmje.org/)

1. Artículos de Revistas
   Autor/es*. Título del artículo. Nombre o abreviatura** Internacional de la Revista. Año; Volumen (número***): Página inicial-final del artículo.
   Si los autores fueran más de seis, se mencionan los seis primeros seguidos de la abreviatura et al.

2. Libros y monografías
   Autor/es. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; Año.
   Nota: La primera edición no es necesario consignarla. La edición siempre se pone en números arábigos y abreviatura (2ª ed.) Si la obra estuviera compuesta por más de un volumen, debemos citarlo a continuación del título del libro.

3. Capítulo de libro
   Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En*: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; Año. Página inicial-final del capítulo.

4. Organización como autor
   Nombre de la organización. Título de la publicación. Edición. Lugar de publicación: Editorial; Año.

5. Actas de congresos
   Nombre del congreso. Nombre de la ponencia; Fecha de inicio y finalización del evento en números arábigos seguidos del mes y año (12-15 de Noviembre de 2004). Lugar de realización: Asociación o institución organizadora del congreso; año.

6. Comunicación presentada en un Congreso, Jornadas, Simposios o Reuniones Científicas.
   Autor/es de la Comunicación/Ponencia. Título de la Comunicación/Ponencia. En: Título oficial del Congreso. Lugar de Publicación: Editorial; Año. Página inicial-final de la comunicación/ponencia.

7. Monografía en Internet
   Autor/es o Director/Coordinador/Editor. Título [Monografía en Internet]*. Edición. Lugar de publicación: Editor; Año [Fecha de consulta]. Dirección electrónica. * Puede sustituirse por: [Monografía en línea], [Internet], [Libro en Internet].

8. Sede Web o Página principal de inicio de un sitio Web
   Autor/es. Título [Sede Web]*. Lugar de publicación: Editor; Fecha de publicación [Fecha de actualización; Fecha de acceso]. Dirección electrónica.
   * Puede sustituirse por: [Página principal en Internet], [Internet], [Página de inicio en Internet], [Homepage], [Sede Web].

9. Parte de una página de un sitio o sede Web
   Título de la página [Sede Web]*. Lugar de publicación: Editor; Fecha de publicación [Fecha de actualización/revisión; Fecha de acceso]. Título de la sección [Número de páginas o pantallas]. Dirección electrónica.
   * Puede sustituirse por: [Página principal en Internet], [Internet], [Página de inicio en Internet], [Homepage], [Sede Web].

10. Base de datos en Internet
    Institución/Autor. Título [Base de datos en Internet]*. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación, [fecha de actualización; fecha de consulta]. Dirección electrónica.
    Puede sustituirse por: [Base de datos en línea], [Internet], [Sistema de recuperación en Internet].

Para mayor información; no dude en comunicarse al correo revista.semillerosmed@unimilitar.edu.co, o consulte las normas de International Committee of Medical Journal Editors 2006 (http://www.icmje.org/), Students Biomedical Journal 2000, World Association of Medical Editors y Normas Vancouver - Actualización 2006: (http://asp.medicinalegal.gov.co/medicina/Revista%2018%20No4/Normas_Vancouver.pdf)