



“La historia de la ciencia, como la de todas las ideas humanas, es una historia de sueños irresponsables, de obstinaciones y errores. Sin embargo, la ciencia es una de las pocas actividades humanas -quizá la única- en la cual los errores son criticados sistemáticamente y muy a menudo, con el tiempo, corregidos”

Karl Popper (1902-1994)

Dirección de Investigación, Ciencia y Técnica
Ministerio de Salud, Desarrollo Social y Deportes
Gobierno de Mendoza



Comité Editorial

Jorgelina Álvarez

Carolina Martínez

Paola Possamai

Coordinación Editorial

Brenda Barroso

Comité Revisor

Gustavo Bargazzi

Lizet Vejling

Esteban Falcón

Roberto Basilio

Guillermo Gallardo

Diseño y Diagramación

Educación para la Salud

Fecha de Publicación:

Marzo 2017

Autoridades

Gobernador

Lic. Alfredo Cornejo

Ministro de Salud, Desarrollo Social y Deportes

Farm. Claudia Najul

Subsecretaria de Salud

Dr. Oscar Sagas

Dirección de Investigación Ciencia y Técnica

Farm. Jorgelina Álvarez

ÍNDICE

Proyectos de Investigación 2014

Deterioro cognitivo en pacientes obesos mórbidos candidatos a cirugía bariátrica	7
Detección de infecciones genitales por biología molecular.....	12
Detección de los virus de la hepatitis A y hepatitis E en efluentes cloacales de la provincia de Mendoza.....	17
Acido ursólico un potencial anti-rotavirus de origen natural.....	21
Efecto de principios activos del aceite de oliva virgen en la prevención y tratamiento de patologías inflamatorias y tumorales.....	25
Medio ambiente y mal formaciones congénitas.....	30
Plaguicidas agrícolas en Maipú, San Martín y salud genética de aplicadores y animales.....	34
Validación de la metodología "MLPA" para la determinación del oncogen ERBB2 en carcinomas de mama.....	40
El acceso a la salud, al derecho y al revés. Trayectorias sanitarias de los llamados "niños con TGD" (trastornos generalizados del desarrollo).....	45
Factores de riesgo asociados a la restricción del crecimiento intrauterino en la embarazada atendida en el área departamental de Junín, Mendoza, Argentina.....	49

Proyectos de Investigación 2015

Desarrollo de una técnica molecular para inestabilidad de microsátélites aplicable a cáncer de colon.....	57
Evaluación de la ingesta dietaria de madres en período de lactancia y la composición de su leche donada al servicio banco de leche humana del Hospital Lagomaggiore	65
Marcadores moleculares en rhabdomyosarcoma pediátrico: de la biología molecular a la aplicación clínica.....	73
Evaluación integral de la muerte materna en Mendoza 2003-2013: causas, contextos e implicancias para la política sanitaria.....	80
El rol del sistema de complemento en pacientes pediátricos con síndrome urémico hemolítico.....	88
Burnout y calidad de vida percibida en profesionales residentes en área materno-infantil.....	95
Efectos de un programa de estimulación cognitiva grupal en deterioro cognitivo leve.....	100
Indagación de factores laborales estresores y protectores percibidos por los trabajadores de la salud de tres hospitales públicos de Mendoza.....	106
Caninos como centinelas del riesgo de exposición a plaguicidas anticolinesterásicos en zonas urbanas y rurales de Mendoza.....	110
Biomarcadores no utilizados en insuficiencia cardíaca. Relación con hipertensión pulmonar secundaria a insuficiencia cardíaca izquierda.....	116
Búsqueda de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas para la esclerosis múltiple.....	124
Motivos que facilitan u obstaculizan a los médicos del área departamental de salud de Godoy Cruz, a realizar el examen del pie en pacientes con diabetes.....	132

INVESTIGACIONES EN SALUD

2014



DETERIORO COGNITIVO EN PACIENTES OBESOS MÓRBIDOS CANDIDATOS A CIRUGIA BARIÁTRICA

Equipo: Pablo Omelanczuk; Ángela M. Sánchez; Carolina M. López;
Andrea Pampillón; Lasagni Viviana

Instituciones: Hospital Lagomaggiore; Universidad J. A. Maza; Centro
Quirúrgico Obesidad

Contacto: peomelanczuk@gmail.com

Introducción

Las enfermedades cognitivas adquieren en la actualidad una incidencia creciente. Según la OMS existe un aumento de enfermedades no transmisibles donde la obesidad se ha duplicado en todo el mundo.

La obesidad constituye un importante factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas como diabetes tipo 2, hipertensión arterial, síndrome metabólico, resistencia a la insulina.

Las personas con IMC (índice de masa corporal) elevado a menudo presentan disfunción cognitiva en los test, siendo los déficits más comunes en los dominios de memoria y función ejecutiva. Rachel A. Whitmer, en un estudio longitudinal a 27 años de seguimiento informó que la obesidad en edad media incrementa el riesgo de demencia futura independientemente de las condiciones comórbidas. Existen pocos estudios que examinan la función cognitiva de los pacientes obesos mórbidos, Boeka 2008 y Lokken 2010 reportaron en pacientes obesos mórbidos candidatos a la cirugía déficits en test de función ejecutiva.

En Latinoamérica falta evidencia sobre la situación actual del obeso mórbido y no existen datos en la actualidad del estado de las funciones cognitivas en este tipo de pacientes.

Por todo lo mencionado surge la necesidad de esta investigación, cuyo objetivo ge-

neral es: Evaluar el estado de las funciones cognitivas en personas obesas mórbidas candidatas a la cirugía bariátrica y cuyos objetivos específicos son: 1. Describir el perfil socio-demográfico de la muestra evaluada; 2. Indagar las variables antropométricas; 3. Evaluar la presencia de patologías asociadas; 4. Explorar indicadores de laboratorio; 5. Evaluar las funciones cognitivas; 6-Describir la asociación entre factores de riesgo socio demográficos, antropométricos, enfermedades asociadas a la obesidad y estado de las funciones cognitivas.

Método

Se realizó un estudio descriptivo, transversal, en el que se incluyeron consecutivamente pacientes obesos mórbidos, candidatos a cirugía bariátrica, que asistieron a la clínica Quirúrgica Mendoza, Argentina, en el período comprendido entre mayo de 2014 y marzo de 2015. Se incluyeron personas con edad mayor o igual a 35 años, con obesidad mórbida.

Se administró una entrevista semi-estructurada para la recolección de las variables socio-demográficas y explorar hábitos. Se aplicaron pruebas psiconeurológicas como Mini Mental Test, Test del Reloj, Test de Boston, Test de Series Gráficas Alternantes, Test de Orientación de Benton. Se solicitaron análisis de laboratorio.

Resultados

Fueron incluidos en el análisis 102 pacientes obesos mórbidos, candidatos a cirugía bariátrica; el 76,5%(78) pertenecían al sexo femenino y la edad promedio fue de $47 \pm 9,1$ años.

El 61,8% de la población analizada tenía estudios terciarios/universitarios ya sea completos o incompletos y el 73,5% de la población estaba casado o en pareja.

En cuanto a las variables antropométricas analizadas se observó un peso de $122 \pm 25,4$ kg, IMC promedio de $45 \pm 7,3$ (kg/mt^2), y el perímetro abdominal fue de $127,9 \pm 14,3$ cm.

Dentro de los antecedentes patológicos estudiados en la población, se observó por orden de frecuencia: Resistencia a la Insulina 72,5% (IC95% 70-86), Sme. Metabólico 56,9% (IC95% 47-66), HTA 54,9% (IC95% 45-64), Dislipemia 52% (IC95% 42-61), DM tipo 2 26,5% (IC95% 18-35).

En el análisis de las variables de laboratorio se observó que la glucemia basal de la

muestra fue de $104,1 \pm 36,3$ mg/dl. El índice de HOMA arrojó un valor promedio de $4,9 \pm 3,7$.

En cuanto al análisis de medias del perfil lipídico, el colesterol total fue de $196,6 \pm 39,9$ mg/dl; el colesterol LDL de $121,9 \pm 36,9$ mg/dl; el colesterol HDL fue de $48,4 \pm 10,3$ mg/dl y Triglicéridos de $152,8 \pm 72,5$ mg/dl.

Posteriormente se evaluó la función cognitiva a partir de pruebas psicológicas. Se registraron 33 pacientes, (32,4% – IC95% 24 – 41) que presentaron alteraciones en algunas de las pruebas tal cual se detalla en la Tabla 1. Como se visualiza en la misma, en el Test de Boston (17,6%) se registró el mayor porcentaje de personas con alteraciones en la prueba; le sigue el Test de Series Gráficas Alternantes, en tercer lugar el Test del Reloj, continuando con el Mini Mental Test y por último el Test de Orientación de Benton.

TABLA 1. FRECUENCIA DE PACIENTES CON ALTERACIÓN EN LAS PRUEBAS DE EVALUACIÓN COGNITIVA				
	Alteración	Frecuencia	Porcentaje	IC _{95%}
Mini Mental Test	No	98	96,1	90 - 98
	Sí	4	3,9	1 - 9
Test del Reloj	No	95	93,1	86 - 96
	Sí	7	6,9	3 - 13
Test de Boston	No	75	73,5	71 - 87
	Sí	18	17,6	12 - 28
Test de Series Gráficas Alternativas	No	85	83,3	83 - 95
	Sí	8	7,8	4 - 16
Test de Orientación de Benton	No	91	89,2	92 - 99
	Sí	2	2,0	0,5 - 7

Al analizar el porcentaje de pruebas anormales para cada área de función cognitiva se observó el mayor porcentaje de alteración en el dominio Memoria, 46% (IC95% 31 – 61), seguida de la función ejecutiva, 39% (IC95% 24 – 54).

Se obtuvieron medias para las pruebas psicológicas utilizadas, las cuales se resumen en la tabla 2.

TABLA 2. VALORES PROMEDIOS DE LAS PRUEBAS DE EVALUACIÓN COGNITIVA PARA LA POBLACIÓN TOTAL				
	Media	DE	Mínima	Máximo
MMT	29,02	1,194	25	30
Reloj	8,40	1,269	3	9
Boston	10,03	1,611	6	12
Series	1,88	,413	0	2
Benton	21,19	2,123	11	22

Se analizaron los factores de riesgo asociados a la alteración de la función cognitiva, siendo la escolaridad la primera variable estudiada.

Con respecto a esta se obtuvo una significación estadística entre el nivel de escolaridad y la proporción de pacientes con pruebas alteradas, observando 87% (IC95% 52-97) de los pacientes con pruebas alteradas en el nivel primario vs secundario 35% (IC95% 21-53) vs terciario/universitario 23% (IC95% 14-35); $p=0,001$.

También se evaluó la asociación entre el factor de riesgo Nivel de Escolaridad y pruebas alteradas, observando que los pacientes con escolaridad primaria presentaron más riesgo OR 22,4 (IC95% 2,5-197) de tener pruebas alteradas que los pacientes con estudios terciarios/universitarios. Cuando se analizó cada prueba por separado esta asociación se observó en la prueba de reloj OR 12 (IC95%1,9-75) y Boston 26 (IC95%3,9-170).

No se observó asociación entre la edad, estado civil y funciones cognitivas.

Continuando con la evaluación de los factores de riesgo se encontró asociación entre perímetro abdominal menor o mayor de 130 cm y alteración de área memoria. Pacientes con perímetro < 130 y alteración pruebas de memoria, 8 (13,8%); vs 10 (30,3%) pacientes con perímetro \geq 130 cm y alteración, $p=0,05$. OR 2,7 (IC95%1,12-9,13). No se encontró asociación entre IMC < 40 o \geq 40 y alteración en las funciones cognitivas.

Tampoco se encontró asociación entre presencia de pruebas alteradas y enfermedades asociadas a la obesidad como HTA, DM tipo 2, Dislipemia, Sme. Metabólico e Insulino-resistencia.

Comentarios finales

La edad media de las personas evaluadas fue de 47,76 años de edad siendo la mayoría de sexo femenino, de estado civil casado con un nivel de escolaridad alto.

Las personas presentaron obesidad mórbida con alto porcentaje de patologías asociadas como resistencia a la insulina, Síndrome Metabólico, hipertensión arterial, dislipidemia y diabetes.

Un tercio de los pacientes de la población estudiada presentaba alteración en las pruebas que evalúan la función cognitiva. Los dominios más afectados por orden de frecuencia fueron memoria y ejecución.

Los pacientes con menor escolaridad tuvieron mayor porcentaje de pruebas alteradas que los pacientes con mayor nivel de estudios. La menor escolaridad se asoció con mayor riesgo de tener pruebas alteradas. El perímetro abdominal elevado se asoció con mayor riesgo de pruebas alteradas en el área memoria.

No se encontró asociación entre funciones cognitivas alteradas y factores de riesgo como estado civil, edad mayor o menor de 50 años, IMC mayor o menor a 40, HTA, DM tipo 2, Dislipemia, Síndrome Metabólico, Insulino Resistencia.

Bibliografía

1. Shanthi M. (2014). Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2014. Septiembre 2016, de Organización Mundial de la Salud Sitio web: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149296/1/WHO_NMH_NVI_15.1_spa.pdf?ua=1
2. Whitmer, R. A., Gunderson, E. P., Barrett-Connor, E., Quesenberry, C. P. y Yaffe, K. (2005). Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *BMJ* : British Medical Journal, 330(7504), 1360. <http://doi.org/10.1136/bmj-38446.466238.Eo>
3. Gunstad, J., Lhotsky, A., Wendell, CR, Ferrucci, L. y Zonderman, AB (2010). El examen longitudinal de la Obesidad y la función cognitiva: Resultados del Estudio Longitudinal de Baltimore sobre el Envejecimiento *Neuroepidemiología*, 34 (4), 222-229. <http://doi.org/10.1159/000297742>
4. Waldstein SR. (2006) Interactive relations of central versus total obesity and blood pressure to cognitive function. *Int J Obes*.2006;30:201-7
5. Boeka AG y Lokken (2008). Neuropsychological performance of a clinical sample of extremely obese individual. *ArchClinNeuropsychol*. <http://acn.oxfordjournals.org/content/23/4/467.short>

DETECCIÓN DE INFECCIONES GENITALES POR BIOLOGÍA MOLECULAR

Equipo: M. Teresa Damiani; Emilio Gassibe; Natalia Leiva; Diego Sánchez; María S. Fili Hidalgo ; Agustín Luján

Instituciones: Hospital Central; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: meteresadamiani@gmail.com

Introducción

La infección por *Chlamydia trachomatis* es la enfermedad bacteriana de transmisión sexual más prevalente en el mundo, tanto en países desarrollados como no desarrollados. En Argentina, son muy escasos y poco representativos los datos sobre prevalencia e incidencia de infecciones clamidiales, debido a que se han investigado poblaciones muy acotadas y circunscriptas a grandes centros urbanos como la zona metropolitana de Buenos Aires.

En la práctica médica cotidiana, la paciente que concurre a un centro asistencial con síntomas de infección genital, es tratada con antibióticos sin haber realizado un diagnóstico que revele cuál es el microorganismo causante de dicha infección. Por otro lado, la infección clamidial asintomática es tres veces más frecuente que la sintomática, lo cual lleva a un bajo número de consultas médicas. Esto, sumado a que en la práctica se procede al tratamiento sin el diagnóstico previo, como fue citado anteriormente, y a que no se enfatiza en el tratamiento de las parejas sexuales ni en la prevención de la transmisión, genera una alta tasa de recurrencia de la infección como así también un gran número de personas infectadas que desconocen su condición y actúan como reservorio de la enfermedad. Esto convierte a la infección genital por *Chlamydia trachomatis* en una “enfermedad silenciosa” ampliamente distribuida en la población.

Esta infección afecta principalmente a la población joven sexualmente activa, y lamentablemente, la infección por *Chlamydia trachomatis* puede evolucionar a infertilidad femenina en el 13% al 75% de los casos. El riesgo aumenta con el número de reinfecciones y cronicidad de la infección. La bacteria sobrevive largos períodos de tiempo

dentro de células cervicales por la falta de diagnóstico y de tratamiento adecuados. La respuesta inmunológica del huésped desencadenada por la persistencia intracelular de este agente infeccioso, provoca inflamación crónica, cicatrización y obstrucción de la trompa de Falopio, y en consecuencia, infertilidad femenina. Además la *Chlamydia trachomatis* es la causa más frecuente en el mundo de ceguera prevenible o tracoma. La conjuntiva y córnea de los recién nacidos puede infectarse al pasar por el canal del parto. En consecuencia, el recién nacido puede desarrollar conjuntivitis y neumonía. Los efectores públicos de salud de la provincia de Mendoza no realizan diagnóstico de la infección causada por *Chlamydia trachomatis*. La implementación del diagnóstico precoz en grupos susceptibles, podrá reducir los gastos ocasionados al sistema público de salud devengados del tratamiento de las patologías irreversibles ocasionadas por *Chlamydia*, como infertilidad femenina. En este momento, la carencia de métodos para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* en instituciones públicas conduce a tratamientos antibióticos inadecuados que no logran erradicar la infección. Como consecuencia existen elevadas tasas de reinfecciones, altos índices de cronicidad y un gran número de complicaciones y secuelas irreversibles.

Los objetivos de este estudio son desarrollar y aplicar técnicas de biología molecular para la detección de *Chlamydia trachomatis*.

Método

Se trata de un diseño descriptivo transversal.

La presencia de *C. trachomatis* en células de cuello de útero puede ser detectada por cultivo celular o por microscopía revelando la presencia de proteínas bacterianas en los tejidos o exudados en estudio. En los últimos años se han desarrollado técnicas de biología molecular que detectan la presencia de ADN bacteriano, estas pruebas representan un importante avance en el diagnóstico de esta infección, ya que son altamente sensibles y específicas. Además pueden utilizarse muestras no invasoras como son los hisopados cervicales. Aunque estas técnicas son más caras que los cultivos o la detección antigénica, hay datos en la bibliografía mundial que sugieren que el dinero ahorrado en la prevención de la enfermedad pélvica inflamatoria y de la infertilidad femenina supera ampliamente el costo de la prueba diagnóstica.

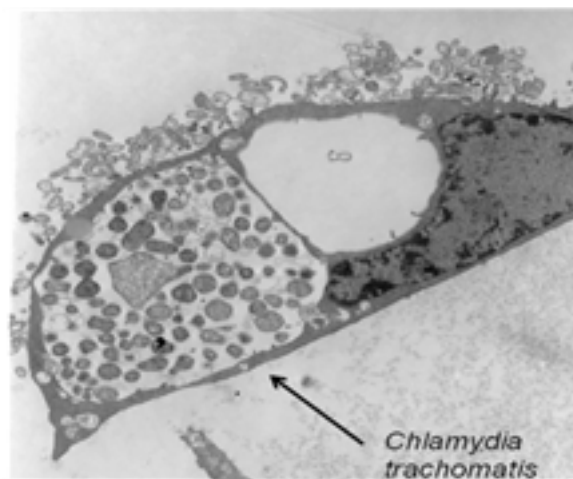
Los efectores públicos de salud de la provincia de Mendoza no realizan el diagnóstico de la infección causada por *Chlamydia trachomatis*. Es más, no está disponible en el medio hospitalario la detección de la bacteria, ya sea mediante técnicas de biología celular (como cultivo celular e inmunodetección por fluorescencia de la bacteria) o por biología molecular (como la detección del ADN de *Chlamydia* por reacción en cadena

de la polimerasa o PCR). Es por ello, muy importante el desarrollo de estas herramientas diagnósticas y su aplicación en un hospital de referencia con una concurrencia tan masiva como el Hospital Central de Mendoza.

Es muy importante introducir en los efectores de salud de la provincia el diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis* mediante PCR (amplificación del ADN bacteriano). Esta técnica altamente específica y sensible permite efectuar el diagnóstico en infecciones crónicas, infecciones persistentes, o en presencia de baja carga bacteriana, situaciones en las cuales otras técnicas diagnósticas son ineficaces.

Resultados

Este proyecto permitió el desarrollo de una técnica de biología molecular (la PCR o reacción en cadena de la polimerasa) para la detección del ADN de la bacteria *Chlamydia trachomatis* en secreciones cervicales obtenidas durante la coloscopia o Papanicolau. Esta técnica fue altamente sensible y específica, y permitió la detección de la presencia de una sola bacteria en la muestra analizada. Es importante recalcar, que desarrollamos una metodología que evitaría la utilización de equipos comerciales de alto costo, y por el contrario, se utilizaron reactivos de preparación en el laboratorio para la conservación de la muestra y la extracción del ADN.



La confiabilidad y eficiencia del método de diagnóstico desarrollado fue testeado con muestras de bacterias purificadas, células en cultivo infectadas con la bacteria y exuda-

dos vaginales y tejidos uterinos de ratones hembra con una infección clamidial genital. Posteriormente, se analizaron las muestras de secreciones cervicales provenientes de mujeres infértiles que concurren al Consultorio de Esterilidad del Servicio de Ginecología del Hospital Central de Mendoza, las que fueron derivadas desde el hospital. Los resultados obtenidos indican que el método de diagnóstico molecular desarrollado es robusto, confiable y altamente sensible.

La imagen de microscopía electrónica obtenida en nuestro laboratorio mostró una célula de cérvix infectada por *Chlamydia trachomatis*. Nótese la gran cantidad de bacterias (estructuras redondeadas de distinto tamaño) que se encuentran en el interior celular.

Comentarios finales

El diagnóstico sistemático de la presencia de *Chlamydia trachomatis* en secreciones cervicales permitirán el diseño de políticas sanitarias locales que conduzcan a la protección de la salud reproductiva de la mujer y a la prevención de complicaciones derivadas de las infecciones clamidiales no diagnosticadas y por ende, tratadas inadecuadamente. Entre las complicaciones más severas que ocurren frecuentemente en las infecciones clamidiales se encuentra la enfermedad inflamatoria pélvica y el embarazo ectópico. La persistencia intracelular de la bacteria y la inflamación crónica que acompaña a esta infección, termina produciendo obstrucción tubárica y consecuentemente, infertilidad femenina. Estas patologías son de difícil tratamiento y ocasionan grandes gastos al sistema público de salud, particularmente, en este momento, luego de la aprobación de la Ley Nacional 24754 de Fertilización Asistida. Los costos de los tratamientos de fertilidad son muy elevados, y el éxito de los mismos es muy reducido, por lo que generalmente, se realizan más de una vez por pareja infértil. El costo de la detección sistemática de esta bacteria en la población femenina en edad fértil por una técnica sensible y específica como es la PCR, es mucho menor que el tratamiento de las secuelas derivadas de la infección. Consideramos que los resultados de este proyecto contribuirán a reducir el impacto en el erario provincial de los gastos derivados de la atención de las complicaciones de estas infecciones al establecer métodos confiables de diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*.

Además permitirán prevenir la infección ocular del recién nacido al pasar por el canal del parto y contribuirán al programa de la OMS llamado VISION 2020 que persigue la erradicación del tracoma en el año 2020.

El conocimiento de la realidad local y frecuencia en nuestro ambiente de infección genital por *Chlamydia trachomatis* en la población de mujeres infértiles en edad re-

productiva, que asisten al Consultorio externo de Fertilidad del Servicio de Ginecología del Hospital Central de Mendoza, será útil para el establecimiento de políticas de salud pública.

Bibliografía

1. Rowley J, Toskin I y Ndowa F. (2008). Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections - 2008.. Switzerland : World Health Organization.
2. Cacho J, Sanz F y Blanco MA. (2001). La enfermedad silenciosa por Chlamydia trachomatis: necesidad urgente de detección y tratamiento en mujeres. *Enfermedades Infecc Microbiol Clin*, Vol 19; 419-421
3. Nailet Arraiz R. et . (2007). Diagnostico molecular y prevalencia de infecciones por Chlamydia trachomatis en pacientes sintomáticas y asintomáticas de una población del estadio de Zulia. *Rev. Chil. Infectol*, 24.
4. Molano M, Weiderpass E, Posso H, Morre SA, Ronderos M, Franceschi S, Arslan A, Meijer C J L M, Muñoz N y Van Den Brule A J C. (2003). Prevalence and determinants of Chlamydia trachomatis infections in women from Bogota, Colombia. *Sex Transm Infect* Vol 79;474-478.

DETECCIÓN DE LOS VIRUS DE LA HEPATITIS A Y HEPATITIS E EN EFLUENTES CLOCALES DE LA PROVINCIA DE MENDOZA

Equipo: Carlos Espul; Ivana G. Lo Castro; Héctor H. Cuello; Roxana Silva; Nicolás Juárez

Instituciones: Hospital Central; Universidad Nacional de Cuyo; Universidad Juan Agustín Maza

Contacto: carlospul@gmail.com

Introducción

Las deficientes condiciones socioeconómicas puestas de manifiesto a través de la falta de agua potable, la ausencia de sistemas de canalización de efluentes cloacales y las escasas conductas higiénico-preventivas que se observan en países poco desarrollados a nivel mundial y, especialmente en Latinoamérica, sirven de contexto social para comprender por qué aún en la actualidad existen infecciones como las ocasionadas por los virus de las Hepatitis A y E. (Franco y col 2012)(Pelosi y col 2008).

En ambos casos, la infección ocurre principalmente por inoculación oral de virus excretado fecalmente, a través de la ingesta de agua o alimentos contaminados, pero también se considera incluso el contacto persona a persona (Brundage y col 2006). Generalmente, es una enfermedad autolimitada que se resuelve sin consecuencias ni procesos crónicos y que confiere inmunidad de por vida. No obstante, en algunos casos puede evolucionar hacia formas clínicas más prolongadas o recidivas o de extrema gravedad como en el caso de la hepatitis fulminante (HF) ,con una incidencia de 1/1.000 casos sintomáticos. (Franco y col 2012) (Hussain y col. 2011) (Brundage y col 2006) (Ministerio de Salud y Ambiente. 2005)

Un reciente informe sobre la situación en Argentina reveló que el 61% de los casos de HF ocurridos entre los años 1982 y 2002 tuvieron como única causa la infección con el HAV, con una mortalidad asociada del 50% (Gentile y col, 2013).

A partir del año 2005 se incorporó al calendario oficial de inmunizaciones la vacuna para HAV al año de vida. Esta medida, sumada a las mejoras higiénico-sanitarias trajo aparejada una sustancial mejora de la situación epidemiológica. Pero paradójicamente estos beneficios tuvieron también, como consecuencia, un corrimiento en la incidencia de la infección a grupos etarios de mayor edad, en donde las repercusiones clínicas son más significativas (Gentile y col, 2013) (Yañez y col, 2014).

Diversos estudios revelan circulación de HAV en nuestra comunidad a través de brotes registrados, y de aumento significativo de título de anticuerpos para HAV a través de los años en niños vacunados. (Espul y col. 2012)

Con respecto al HEV ha sido descripto no sólo en humanos sino también en animales como cerdos, jabalíes y ciervos entre otros mamíferos, los que podrían actuar como reservorio en zonas no endémicas, en las cuales la zoonosis podría ser una vía de transmisión (Pavio y col, 2010). (Mirazo y col.2012).

Al igual que lo que sucede con HAV, la infección por el HEV es propicia a diseminarse cuando existen condiciones tales como deficiencia en las condiciones sanitarias, hacinamiento y desnutrición. Suele presentar un curso clínico benigno en la mayoría de la población, salvo en el caso que la infección ocurra en una mujer embarazada, en cuyo caso la infección es muy severa y con peor pronóstico. El rango de mortalidad oscila entre el 10-25 % en mujeres que estén cursando el tercer trimestre de gestación. Las causas de muerte incluyen fallo hepático fulminante y complicaciones obstétricas debido a hemorragias (Teshale y col. 2011) (Pelosi y col 2008).

En la Provincia de Mendoza hay reportes de identificación de HEV en humanos (Munne y col, 2011) y en cerdos recién nacidos de granjas (Espul y col, 2013).

Nuestro objetivo general fue detectar la presencia de los virus de la hepatitis A y E en efluentes cloacales del Gran Mendoza.

Método

Las muestras analizadas provinieron de las plantas de tratamiento de efluentes cloacales de Paramillo, departamento de Lavalle y de Campo Espejo, departamento de Las Heras, ambas de la provincia de Mendoza que periódicamente los técnicos de AySAM recolectaron según cronograma interno. El período abarcado fue desde febrero hasta abril de 2015 inclusive, totalizando 32 muestras.

Los sitios fueron escogidos debido a de que ellos reciben los desagües líquidos y semisólidos domésticos del Gran Mendoza (Ciudad, Las Heras, Guaymallén, Godoy Cruz, Luján de Cuyo y Maipú), abarcando indirectamente 900.000 habitantes y representando el 60% de los efluentes totales provinciales.

Luego de estandarizar la técnica de filtración, que se llevó a cabo en membranas cargadas negativamente con posterior elución mediante diferencia de pH y concentración por ultrafiltración, se logró concentrar las muestras de 2 litros cada una a un volumen de 2 a 4 ml. Posteriormente se extrajo el ARN mediante un kit comercial de QIAGEN® y se conservó a -70°C hasta su procesamiento. Para validación de técnica de filtración y concentración se realizó inoculación de 80 ul de fago PP7 a cada muestra antes de su procesamiento y posterior q-PCR para el fago. Para HAV se realizó Nested RT-PCR con enzima SuperScript® III PlatinumOneStep. y revelado mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% (banda de control positivo de ARN HAV 247 pb). Para HEV se realizó q-PCR (control positivo ARN HEV Ct 25-26).

Resultados

En primer término se pudo constatar para la eficacia del proceso de filtración y concentración que el bacteriófago PP7 fue detectado en el 100% de las muestras (32/32).

Ensayos de PCR cualitativa y cuantitativa fueron llevados a cabo para detectar la presencia de HAV y HEV respectivamente, en muestras de efluentes cloacales de las plantas de tratamiento de Campo Espejo y Paramillo. De las 32 muestras estudiadas, en un 25% (8/32) se detectó al menos un tipo de virus. Usando Nested RT-PCR se identificó la presencia de RNA para HAV en 15,55% (5/32) de las muestras, correspondiendo un 6,25% (2/18) a Campo Espejo y un 9,3% (3/18) a Paramillos. Cuando se realizó q-PCR para HEV, se detectó un 9,3% (3/32) de muestras con Ct menor a 40. De éstas, una correspondió a Espejo y dos a Paramillos.

Comentarios finales

La identificación de RNA de HAV en las muestras estudiadas de ambas plantas de tratamiento, evidencia la presencia del virus en los efluentes cloacales de la población del Gran Mendoza. Serán necesarias técnicas de biología molecular adicionales que profundicen en este hallazgo y permitan cuantificar e identificar si los virus identificados pertenecen a la filogenia de nuestra región.

El haber obtenido un 15,55% de ARN de HAV en muestras con una naturaleza tan heterogéneas como son los efluentes cloacales, y solo habiendo abarcado cuatro meses de relevamiento, presenta un marco muy esperanzador y optimista para continuar con esta investigación.

Con respecto a las muestras que evidenciaron presencia de RNA de HEV, no es oportuno aventurar alguna conclusión, debido a los elevados Ct que presentaron. Serán

necesarios mayores y diversos análisis que arrojen luz a estos resultados.

La detección de al menos un tipo de virus en 25% de las muestras incentiva nuevas investigaciones con una mayor población de estudio y con metodologías anexas que aumenten las chances de hallazgos.

Bibliografía

1. Brundage S, (2006). Hepatitis A. Am. Fam. Physician. Vol 73(12):2162-2168 <http://www.aafp.org/afp/2006/0615/p2162.html>
2. Espul C, Benedetti L, Cuello H, Hovillon G, Rasuli A. (2012). Persistence of immunity from one year of age after one or two doses of hepatitis A vaccine given to children in Argentina. Hepatic Medicine: evidence and research. Vol 4: 53-60.
3. Espul M, Manzur A, Espul, C, Cuello, H., Lo Castro, I, Altbert, N, Gonzalez J, Munne MS. (2013). Identificación y Caracterización del Virus de la Hepatitis E en Establecimientos de Producción Porcina en Mendoza. XVII Congreso Argentino de Hepatología . Buenos Aires.
4. Franco E, Meleleo C, Serino L, Sorbara D. y Zaralti L, (2012). Hepatitis A: Epidemiology and Prevention developing countries. World J. Hepatol. Vol 4(3):68-73
5. Gentile A, Ramonet M. y Ciocca M, (2013). La Introducción de la Vacuna contra la Hepatitis A en el Calendario Nacional de Vacunación: una nueva realidad. Arch. Argent. Pediar. Vol 111(2):155-161.

ÁCIDO URSÓLICO UN POTENCIAL ANTI-ROTAVIRUS DE ORIGEN NATURAL

Equipo: Laura Delgui; María I. Colombo; Sergio Milone; Maria J. Tohmé Chapini

Instituciones: Hospital Central; Universidad Juan Agustín Maza

Contacto: ldelgui@yahoo.com

Introducción

Rotavirus (RV) es el principal agente causal de gastroenteritis aguda en niños menores de 5 años, al igual que un importante agente de infección gastrointestinal en diferentes géneros de animales (Parashar y col. 2003). Se estima que el mismo es responsable de más de 600.000 muertes por año a nivel global, afectando principalmente a los países en desarrollo en los cuales constituye un agente importante de morbi-mortalidad infantil (Tate y col. 2008). En la Argentina las infecciones por RV son responsables de numerosas consultas médicas anuales y del 40% de las internaciones por diarrea aguda en niños menores de 5 años (Degiuseppe 2013).

El AU se encuentra formando parte de la estructura de diversas plantas. Se ha demostrado que posee diversas acciones biológicas entre las que se pueden mencionar las propiedades anti-inflamatorias, antioxidantes y anti-tumorales (Harmand y col. 2003). Además, diversos estudios han demostrado que el AU tiene actividad antiviral en infecciones por diferentes virus, como son el Virus de la Hepatitis C (Kong y col. 2007), el Virus del Dengue (Brandao y col. 2013), el virus del Herpes Simplex (Bag y col. 2012), el Virus del Papiloma Humano (Kazakova y col. 2010), y el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (Xu y col. 1996). En nuestro grupo de investigación hipotetizamos que el AU podría tener acción antiviral en infecciones por RV, afectando a una o más etapas de su ciclo de replicación. Para ello, nos hemos centrado en la evaluación del posible efecto antiviral del compuesto AU, a partir de la utilización de un modelo de RV in vitro.

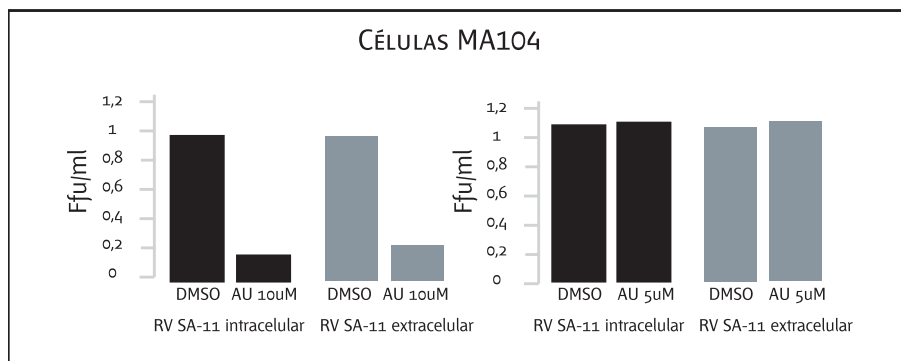
Objetivo: Evaluar la posible actividad antiviral del compuesto de origen natural ácido

ursólico (AU) en infecciones por RV in vitro.

Método

La metodología empleada se basó en realizar infecciones con RV de las células susceptibles in vitro en presencia o ausencia de AU, a diferentes tiempos y concentraciones, partiendo del compuesto comercial AU (pureza >90%). El efecto del AU sobre la replicación del virus se estudió empleando técnicas convencionales de virología y biología molecular y celular.

El ciclo de replicación de RV es corto, generándose una camada de virus nuevos luego de 10 a 12 horas post infección en cultivos de células susceptibles. Entonces, cuantificamos la presencia de virus en el interior y exterior de las células infectadas luego del tratamiento con AU (10 µM) tras 15 h de infección. Como se puede observar en la figura, cuando las células se trataron con 10 µM de AU, se observó una disminución significativa de la cantidad de virus, tanto intra (barras negras) como extra-celular (barras grises) en relación con la condición control (panel izquierdo del gráfico). A la derecha del gráfico observamos que el tratamiento con una concentración menor de AU no mostró efecto anti-viral. Este resultado indica claramente que el tratamiento con 10 µM de AU durante 15 h tiene un efecto antiviral en la infección por RV en células MA104.

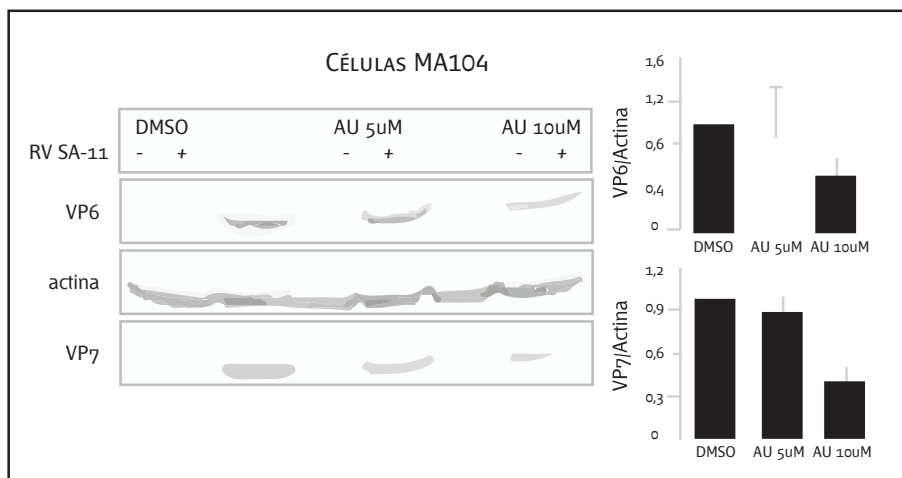


Los asteriscos representan significancia estadística de los datos: ** (p<0,5); *** (p<0,01).

La síntesis de proteínas virales fue interferida por el AU

El RV codifica diversas proteínas en su genoma. Con el fin de determinar si el AU afecta-

ba específicamente la producción de las proteínas virales determinamos los niveles de dos de ellas (VP6 y VP7) en células infectadas y tratadas con AU a concentraciones de 5 μM y 10 μM o DMSO (control). Como se puede observar en la figura, tras el tratamiento con 10 μM de AU, observamos una disminución significativa en los niveles de VP6 y VP7 evidenciado por bandas de menor intensidad. A su vez, tras el tratamiento con 5 μM de AU, no observamos diferencias significativas en relación al control, tal como era esperado. Este resultado refuerza el obtenido en el apartado anterior y permite continuar el estudio explorando de qué manera el AU actúa en alguno o varios de los pasos del ciclo de replicación del virus involucrados en la producción de las proteínas virales.



Los asteriscos representan significancia estadística de los datos: ** ($p < 0,5$); *** ($p < 0,01$).

Comentarios finales

Los resultados obtenidos hasta el momento claramente evidencian que el compuesto AU interfiere en el ciclo de replicación de RV lo cual indica actividad anti-RV en infecciones in vitro. Esta observación, dada la completa originalidad del estudio, constituye un importante aporte al conocimiento del área. Por otra parte, constituye el inicio de una nueva línea de investigación que continuará con el análisis detallado del mecanismo de acción del AU como compuesto anti-RV.

Bibliografía

1. Bag, P., Chattopadhyay, D., Mukherjee, H., Ojha, D., Mandal, N., Sarkar, M. C. y Chakraborti, S. (2012). Anti-herpes virus activities of bioactive fraction and isolated pure constituent of *Mallotus peltatus*: an ethnomedicine from Andaman Islands. *Virology Journal* Vol 9;98. Septiembre 2016, Sitio web: <http://doi.org/10.1186/1743-422X-9-98>
2. Brandão GC, Kroon EG, Souza DE, Souza Filho JD y Oliveira AB. (2013). La química y la actividad antiviral de *Arrabidaea pulchra* (Bignoniaceae). *Moléculas*, vol 18 (8); 9.919-9.932.
3. Degiuseppe J, Giovacchini C, Stupka J. (2013). Archivos argentinos de pediatría. RV epidemiology and surveillance in Argentina Vol 1(11); 2009-2011.
4. Harmand, P.O, Duval, R, Liagre, B, Jayat-Vignoles, C, Beneytout, J,L, Delage, C, Simonb, A. (2003). Ursolic acid induces apoptosis through caspase-3 activation and cell cycle arrest in HaCat cells. *Int. J. Oncol.* Vol23; 105-112.
5. Kazakova OB, Giniyatullina GV, Yamansarov EY, Tolstikov GA. (2010). Betulin and ursolic acid synthetic derivatives as inhibitors of Papilloma virus. *Bioorg Med ChemLett.* Vol20(14):4088-90

EFECTO DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EN LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS INFLAMATORIAS Y TUMORALES

Equipo: Alicia Penissi; Elia del Carmen Martino; María L. Mariani; Flavia Cerutti; M. Paula Carena

Instituciones: Hospital de Carmen; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: apenissi@yahoo.com.ar

Introducción

Los alimentos funcionales y sus principios bioactivos han sido intensamente estudiados en relación con sus efectos sobre la salud. Sin embargo, a pesar del gran volumen de antecedentes en el tema, aún es necesario realizar numerosos estudios adicionales para poder efectuar recomendaciones dietéticas basadas en hallazgos científicos. En el caso particular del aceite de oliva virgen, hasta el momento se desconocía si los principales fenoles antioxidantes que constituyen este tipo de aceite (hidroxitirosol y oleuropeína) inhiben la activación de mastocitos, células del sistema inmune que participan activamente en la patogénesis de enfermedades alérgicas, inflamatorias y tumorales.

En trabajos previos hemos demostrado que dehidroleucodina (DhL), principio activo de *Artemisia douglasiana* Besser (planta medicinal regional popularmente conocida como “matico” y consumida en infusiones), posee actividad antiulcerosa, antiinflamatoria, antioxidante e inhibidora de la activación de mastocitos (Penissi y col., 2003a; 2003b; 2003c; 2005; 2006; 2008; 2009; Vera y cols., 2012). El presente trabajo también está relacionado con la investigación biomédica de productos regionales y plantea el estudio de la interacción entre mastocitos y principios bioactivos presentes en alimentos funcionales como el aceite de oliva virgen.

El aceite de oliva consta de una fracción insaponificable rica en compuestos fenólicos, como hidroxitirosol y oleuropeína (Visioli y col., 2000; Beauchamp y col., 2005; Smith y

col., 2005; Turner y col., 2005).

Si bien se ha demostrado el poder antioxidante de hidroxitirosol y oleuropeína, hasta el momento no se conocían los efectos de estos compuestos sobre la activación de mastocitos. Considerando que la activación mastocitaria incluye la producción de especies reactivas del oxígeno y que moléculas antioxidantes como flavonoides y DHL inhiben la activación mastocitaria, consideramos probable que hidroxitirosol y oleuropeína sean capaces de inhibir la activación de mastocitos, disminuyendo así la producción de mediadores de la inflamación en respuesta a la injuria. La identificación y estudio de los mecanismos de acción de estos compuestos bioactivos constituiría un aporte de interés con implicancias en la protección de enfermedades inflamatorias y tumorales.

Objetivo: Determinar la acción de los principales fenoles antioxidantes presentes en el aceite de oliva virgen, hidroxitirosol y oleuropeína, en la prevención/tratamiento de patologías inflamatorias y tumorales.

Objetivos específicos: Analizar el efecto de hidroxitirosol y oleuropeína sobre la activación de mastocitos inducida por estímulos inmunológicos y no inmunológicos.

Método

Efecto de hidroxitirosol y oleuropeína sobre la activación de mastocitos inducida por estímulos inmunológicos y no inmunológicos: Se utilizaron ratas machos adultas de la cepa Wistar (n=30), mantenidas en el bioterio del IHEM bajo estricto control de alimentación, temperatura y períodos de luz/oscuridad. Los animales se sacrificaron por inhalación de CO₂. Los mastocitos fueron obtenidos por lavado peritoneal y luego purificados en gradiente discontinuo de solución estéril de Percoll.

Los mastocitos purificados fueron incubados con: 1) solución buffer ó 2) estímulo ó 3) hidroxitirosol (+ estímulo ó 4) oleuropeína + estímulo. Los estímulos fueron compuesto 48/80, ionóforo de calcio A23187 y concanavalina A. Se utilizaron diferentes dosis de hidroxitirosol y de oleuropeína (para construir las curvas dosis-respuesta) y distintos tiempos de incubación (para construir las curvas tiempo-respuesta). La viabilidad de los mastocitos se evaluó con azul tripán. En las soluciones de incubación se cuantificó la liberación de -hexosaminidasa por ELISA como marcador de activación mastocitaria. En las células se estudió la concentración de -hexosaminidasa remanente (no liberada) luego de las incubaciones y la morfología de los mastocitos por microscopía óptica y microscopía electrónica de transmisión. Se calculó el porcentaje de liberación de -hexosaminidasa.

Los resultados fueron analizados utilizando análisis de la varianza de tipo 1 (ANOVA-1)

seguido por la prueba de Tukey-Kramer. $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Efecto de hidroxitirosol y oleuropeína en un modelo de úlcera gástrica mediada por activación de mastocitos: Se utilizó el modelo animal de producción de inflamación y lesión gástrica por compuesto 48/80, un degranulador experimental de mastocitos (Ohta y col., 2006). Se estudió el efecto de la administración oral de diferentes dosis de hidroxitirosol y oleuropeína sobre las lesiones de la mucosa gástrica inducidas por compuesto 48/80 en ratas (0.75 mg/kg, i.p.). Se evaluaron además diferentes tiempos de acción de los fenoles (previo y posterior a la administración de compuesto 48/80). Las ratas controles recibieron una inyección i.p. de agua destilada en lugar del compuesto 48/80 y se les administró carboximetilcelulosa (CMC) al 0.4% v.o. en reemplazo de los fenoles. Se sacrificó a los animales por dislocación cervical y se les extrajo el estómago (región corpo-fúndica). Se calculó el índice ulcerogénico para cada grupo experimental teniendo en cuenta el número y tamaño de las lesiones según la escala de Marazzi, Uberti y Turba bajo lupa estereoscópica. Además el material se fijó en Bouin y se incluyó en parafina. Se realizaron cortes seriados de 5 μ m donde se realizaron estudios inmunohistoquímicos con anticuerpos anti-histamina. Para el análisis cuantitativo de la expresión inmunohistoquímica de dicho mediador mastocitario se utilizó un sistema de videomicroscopía y análisis de imágenes asistido por computadora. Se estudió el número de células inmunopositivas. Otro grupo de muestras fue fijado en glutaraldehído y procesado para microscopía electrónica de barrido. Los resultados se expresaron como número de mastocitos por mm^2 y se analizaron utilizando análisis de la varianza de tipo 1 (ANOVA-1) seguido por la prueba de Tukey-Kramer. $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Efecto de hidroxitirosol sobre la proliferación de células tumorales de cáncer de mama humano:

Las líneas celulares tumorales mamarias humanas MDA-MB-231 se cultivaron en medio RPMI 1640, que fueron incubadas con hidroxitirosol 0.001 μM -10 μM . La proliferación clonogénica se determinó contando colonias formadas por 50 células o más. Los resultados fueron analizados utilizando ANOVA-1 seguido por prueba Tukey-Kramer. $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Resultados

Efecto de hidroxitirosol y oleuropeína sobre la activación de mastocitos inducida por estímulos inmunológicos y no inmunológicos: La incubación de los mastocitos con concanavalina A (ConA, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$), compuesto 48/80 (48/80, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y con el ionóforo

de calcio A23187 (A23187, 50 $\mu\text{g/ml}$), indujo un incremento significativo de la liberación de -hexosaminidasa, comparado con el grupo control. Este efecto fue inhibido, en forma dosis- y tiempo dependiente, por preincubación con hidroxitirosol y oleuropeína.

Los mastocitos teñidos con azul de toluidina se identificaron fácilmente por la presencia en su citoplasma de gránulos secretorios metacromáticos. Los mastocitos del grupo basal mostraron abundante cantidad de gránulos de secreción en su citoplasma y una superficie celular regular. Los mastocitos estimulados con 48/80, Con A o A23187 presentaron un masivo proceso de granulación, observándose gránulos que protruyen de la superficie celular y una superficie celular irregular. Los mastocitos tratados con hidroxitirosol (100 μM), al igual que oleuropeína (100 μM), e incubados durante 10 minutos previo a la estimulación con 48/80, Con A o A23187, presentaron una morfología similar a los del grupo basal.

Los mastocitos se identificaron fácilmente por la presencia de un núcleo redondeado con cromatina moderadamente condensada y la presencia en su citoplasma de gránulos secretorios electrónicamente densos. Los mastocitos del grupo basal mostraron abundante cantidad de gránulos de secreción en su citoplasma y una superficie celular con abundantes microvellosidades. Los mastocitos estimulados con 48/80, ConA o A23187 presentaron un masivo proceso de de granulación, observándose gránulos que protruyen de la superficie celular, una superficie celular irregular, gránulos con menor densidad electrónica y presencia de canales de exocitosis. Los mastocitos tratados con hidroxitirosol (100 μM), al igual que oleuropeína (100 μM), e incubados durante 10 minutos previo a la estimulación con 48/80, ConA o A23187, presentaron una morfología similar a los del grupo basal.

Efecto de hidroxitirosol y oleuropeína en un modelo de úlcera gástrica mediada por activación de mastocitos: El grupo tratado con compuesto 48/80 presentó un índice ulcerogénico significativamente mayor que el del grupo control negativo. Los grupos tratados con los fenoles presentaron índices ulcerogénicos menores que los del grupo 48/80. El índice ulcerogénico del grupo tratado con cromoglicato de sodio fue mayor que el correspondiente a los fenoles. Estos resultados se correspondieron con el aspecto macroscópico y con los estudios histológicos, inmunohistoquímicos y ultraestructurales.

Efecto de hidroxitirosol sobre la proliferación de células tumorales de cáncer de mama humano: Hidroxitirosol inhibió significativamente ($P < 0,001$) la proliferación celular de la línea tumoral MDA-MB-231 a partir de concentraciones de 10 μM .

Comentarios finales

Los resultados obtenidos a partir del presente proyecto permiten concluir que: 1) Hidroxitirosol y oleuropeína inhiben, en forma dosis- y tiempo-dependiente, la activación de mastocitos inducida por compuesto 48/80, concanavalina A y el ionóforo de calcio A23187, actuando así como estabilizadores mastocitarios; 2) Hidroxitirosol y oleuropeína inhiben la activación de mastocitos en un modelo in vivo de inflamación y úlcera gástrica. El poder citoprotector de estos fenoles del aceite de oliva virgen es mayor que el del compuesto de referencia cromoglicato de sodio; 3) Hidroxitirosol inhibe la proliferación de células tumorales de cáncer de mama humano triple negativo; 4) Los resultados obtenidos podrían constituir un aporte de interés en el conocimiento de las acciones benéficas para la salud de los alimentos funcionales regionales como el aceite de oliva virgen, con implicancias evidentes en la protección de enfermedades alérgicas, inflamatorias y tumorales.

Bibliografía

1. Parkinson L y Keast, R. (2014). Oleocanthal, a Phenolic Derived from Virgin Olive Oil: A Review of the Beneficial Effects on Inflammatory Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, vol15(7), 12323-12334. <http://doi.org/10.3390/ijms150712323>.
2. Blank U y Rivera J. (2004). The ins and outs of Ige-dependent mast cell exocytosis. *Trends Immunol*, Vol 25; 266-273.
3. Ferry X, Brehin S, Kamel R, Landry Y (2002) G-protein dependent activation of mast cell by peptides and basic secretagogues. *Peptides* Vol 23; 1507-1515.
4. Freedman B] y Asthma (1977) Induced by sulphur dioxide, benzoate and tartrazine contained in orange drinks. *Clin Allergy* Vol 7; 407-415.
5. Galli SJ, Grimaldeston M y Tsai M (2008) Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of immunity. *Nature* Vol 8; 478-486.

MEDIO AMBIENTE Y MAL FORMACIONES CONGÉNITAS

Equipo: Carina Nuñez; Ana L. Vargas; Alejandra Monllor; Silvia López; Carina Herrera; Marianela Usuna

Instituciones: Dirección de Salud municipal de Las Heras; Programa de malformaciones craneofaciales, Ministerio de Salud; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: cenconil@gmail.com

Introducción

Las malformaciones congénitas se producen durante el desarrollo embriológico por la acción de factores genéticos, por la influencia de factores ambientales o la combinación de ambos. Cada año nacen aproximadamente 8 millones de niños con defectos congénitos en el mundo, de los cuales alrededor de 3 millones fallecen por dichos defectos y el resto presenta una discapacidad física o intelectual por el resto de su vida.

Se calcula que un 4% de los niños nacidos en los países de ingresos altos tienen un defecto congénito mientras que esa cantidad se duplica en los países de bajos ingresos.

En el año 2010, la Asamblea de la Organización Mundial de la Salud adoptó una resolución sobre malformaciones congénitas, instando a todos los países miembros, a promover la prevención y mejorar la salud de los niños afectados con ellas.

En esa resolución se define a las malformaciones congénitas como anomalías estructurales o funcionales que ocurren durante toda la vida intrauterina y se pueden identificar en la etapa prenatal, al nacimiento o posteriormente.

En Latinoamérica se ha producido una "transición epidemiológica", con mayor prevalencia actual de enfermedades crónicas incluyendo las malformaciones congénitas, debido a la existencia de factores ambientales contaminantes. En nuestro país la mortalidad infantil ha decrecido en forma constante con algunas diferencias regionales y muestra un cambio en las causas que la determinan, ya que se han reducido las

patologías agudas por los tratamientos, pero ha permanecido sin cambios el número de muertes determinadas por malformaciones congénitas.

En el documento de UNICEF sobre Argentina publicado en el año 2014, y en el Boletín 142 del Sistema Estadístico de Salud de la Argentina, se indica que la mortalidad infantil en Argentina en el año 2012 fue de 11,1/1000 nacidos vivos y la de Cuyo en particular fue de 9,8. Las causas determinantes en primer lugar fueron las de origen perinatal y en segundo lugar, las malformaciones congénitas. A pesar de las mejoras tecnológicas y de formación de recursos humanos, la etiología del 70% de las malformaciones congénitas permanece desconocida. El 20% de los casos tiene origen genético y el 10% se relaciona con factores ambientales.

Teniendo en cuenta la importancia que el medio ambiente tiene en el desarrollo y la salud de los diferentes grupos humanos, se diseñó este proyecto de investigación con el objetivo principal de establecer si el lugar de residencia y la actividad laboral de dos poblaciones de Mendoza con factores de riesgo ambiental comprobado, han determinado efectos en el desarrollo de los niños favoreciendo la aparición de mayor cantidad de malformaciones que la esperada en la población general.

Este objetivo principal responde a la hipótesis de trabajo propuesta de que la acción de factores ambientales adversos determinaría mayor frecuencia de malformaciones congénitas.

Los objetivos específicos, para llevar a cabo la investigación consistieron en: 1.- Describir los resultados de una encuesta, con la participación de agentes sanitarios, en la muestra definida en el Borbollón y Secano

2.- Identificar la exposición a factores químicos y deficiencias nutricionales de ambas comunidades y 3. Describir la relación con la aparición de malformaciones congénitas a través de los datos relevados en la encuesta.

Método

La investigación respondió a una estrategia de investigación cuantitativa, descriptivo transversal, con el objeto de detectar elementos teratogénicos y otros factores socio ambientales, a los que se exponen mujeres en edad fértil, que hubiesen tenido hijos o estuviesen embarazadas en el momento de la aplicación de la encuesta, que trabajan en el reciclado de basura en el distrito El Borbollón (Las Heras) y la exposición a elementos teratogénicos que afectan a las mujeres de iguales características, que viven en la zona desértica del secano (Lavalle).

La elección de la muestra fue intencional. Se aplicó como instrumento de investigación una encuesta sobre los factores ambientales con probable efecto teratogénico y la composición de la alimentación y contaminación del agua. Se entrevistaron 50 mujeres y 50 participantes como comparación en El Borbollón y 59 en cada grupo del Secano y en el distrito de comparación.

Resultados

	DATOS RELEVANTES RELACIONADOS CON EL OBJETIVO PRINCIPAL	EL BORBOLLÓN (LAS HERAS) MUESTRA EN ESTUDIO	EL BORBOLLÓN (LAS HERAS) GRUPO DE COMPARACIÓN	SECANO (LAVALLE) MUESTRA EN ESTUDIO	COSTA DE ARAUJO (LAVALLE) GRUPO DE COMPARACIÓN
FACTORES SOCIO AMBIENTALES	Mujeres embarazadas durante la realización del trabajo.	7 (14%)	5 (10%)	8 (13,6%)	7 (11,8%)
	Exposición a pesticidas, fertilizantes, pintura, solventes, ácidos, lavandina.	27 (54%)	9 (18%)	9 (15%)	16 (27%)
	Contaminantes en el agua de consumo (arsénico).	7 (14%)	-	30 (50,8%)	8 (36,6%)
	Enfermedades infecciosas durante la gestación (toxoplasmosis)	-	4 (8%)	5 (8,5%)	1 (1,7%)
	Consumo de tabaco	8 (16%)	13 (26%)	-	22 (37,2%)
	Consumo de alcohol	29 (58%)	1 (2%)	-	15 (25,4%)
	Consumo de marihuana/ cocaína	1 (2%)	-	-	3 (5%)
MALFORMACIONES CONGÉNITAS	Consanguinidad reconocida	-	3 (6%)	6 (10,2%)	7 (11,8%)
	Fisuras oro faciales	3 (6%)	4 (8%)	2 (3,4%)	5 (8,5%)
	Otras malformaciones	2 (4%)	(25%)	-	-
	Hidrocefalia	(14%)	-	-	-
	Abortos	(14,28%)	13 (26%)	5 (8,5%)	14 (14%)
	Niños fallecidos	11 (22%)	4 (8%)	8 (13,6%)	5 (8,5%)
	Macronutrientes	7 (14%)	Aporte adecuado	Aporte adecuado	Aporte adecuado
	Micronutrientes	-	-	Vit A, D, E insuficientes	-
	Aporte insuficiente de Ca, Mg y vit. C en todos los grupos				

Los datos obtenidos mediante la aplicación de la encuesta en los grupos seleccionados, no demuestra un aumento significativo de la frecuencia de malformaciones con

respecto a los valores esperados para la población general (2-4%), por lo que no se comprobó en esta etapa del proyecto la hipótesis establecida.

Se pudo identificar la acción de varios agentes teratogénicos en los grupos en estudio y en los grupos de comparación, que indicarían una situación de riesgo de la población residente en los lugares seleccionados. Se detectó un alto porcentaje de tabaquismo y exposición a agentes químicos por contacto o ingesta de los mismos en el agua de consumo.

Comentarios finales

Es significativo el número de abortos considerando que el porcentaje de abortos en la población general es aproximadamente 7% y el número de niños fallecidos merece una investigación detallada para detectar las causas determinantes. En los porcentajes de "otras malformaciones" encontrados en El Borbollón requieren un análisis muy detallado para clarificar los valores encontrados. Llama la atención la información sobre el grupo de comparación de Costa de Araujo ya que tiene valores elevados de consumo de tabaco, alcohol y sustancias psicoactivas que son responsables de síndromes malformativos, restricción del peso y prematuridad en los recién nacidos.

Bibliografía

1. Álvarez J, Barahona D, Grebenc I y Thomas C. (2010). Análisis de la mortalidad infantil según condicionantes sociales de la salud en la provincia de Mendoza Ministerio de Salud Mendoza. Dirección de planificación, estrategia y control.
2. Weinhold B (2009) Environmental factors in birth defects: what we need to know. Environmental Health Perspectives Vol 117(10);A440-A447.
3. Marconi E H. (2014). Natalidad, mortalidad general, infantil y materna por lugar de residencia. Septiembre 2016, Sitio web: <http://deis.msal.gov.ar/wp-content/uploads/2016/01/Boletin142.pdf>
4. Unicef Argentina. (2014). El estado de la salud materna, neonatal e infantil en la argentina. Septiembre 2016, Sitio web: <http://sahdes.org/wp-content/uploads/2014/09/Salud-Materno-Infantil-Informe-Unicef-2014.pdf>
5. Brent R (2004) Environmental causes of human congenital malformations. Pediatrics Vol 113; 957

PLAGUICIDAS AGRÍCOLAS EN MAIPÚ, SAN MARTÍN, Y SALUD GENÉTICA DE APLICADORES Y ANIMALES

Equipo: Daniela M Ferré, Martín Quero, Aldo Saracco, Marcelo Tornello, Valeria Lentini, Valentina Hynes, Nora B Gorla

Instituciones: Departamento de Toxicología, Ministerio de Salud; Universidad Juan Agustín Maza

Contacto: danitasol@hotmail.com

Introducción

El uso de plaguicidas agrícolas tiene consecuencias negativas en las especies “no blanco”, y existen biomarcadores de probada sensibilidad para medir exposición genotóxica, con capacidad predictiva de riesgos asociados con defectos genéticos en el mantenimiento del genoma, envejecimiento acelerado, daño genotóxico, algunas enfermedades degenerativas y cáncer (Holland et al., 2008, Ceppi et al., 2010). Los animales domésticos al compartir el mismo ambiente que las personas, están expuestos a casi todos los mismos contaminantes. Los animales pueden ser utilizados como centinelas de contaminación, con la intención de advertir la presencia de contaminantes en el ambiente y anticipar el efecto de los mismos en las personas (Backer et al., 2001).

El objetivo general de esta investigación fue realizar un relevamiento en fincas frutihortícolas de Maipú y San Martín (Mendoza), de los plaguicidas agrícolas más usados, modos de uso, y biomonitorear trabajadores rurales que aplican plaguicidas y sus animales domésticos, para evaluar la exposición a los mismos y los efectos en la salud genética y ambiental, para aportar a la prevención de enfermedades crónicas.

Método

Es un diseño analítico observacional no experimental. Mediante entrevistas se obtuvo información sobre datos demográficos, características de la finca, tipos de plaguicidas,

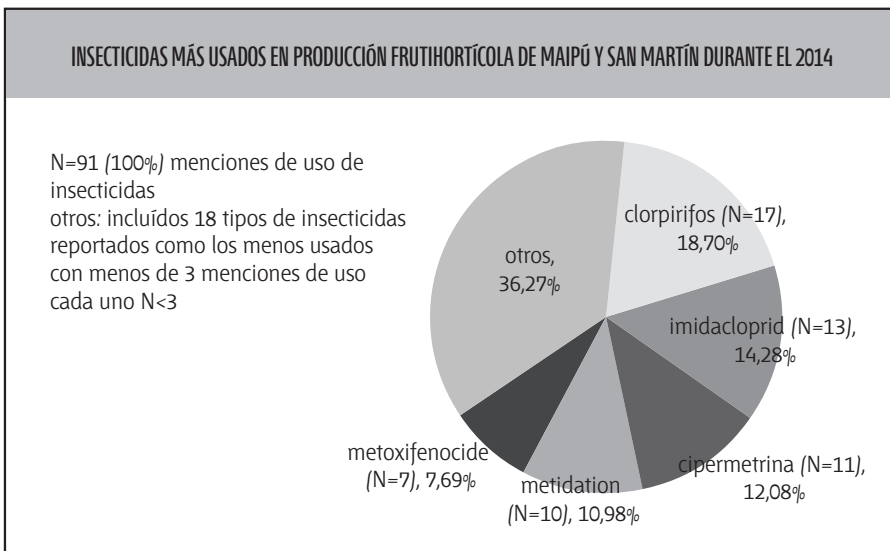
frecuencia y duración de los mismos, tipos de métodos de aplicación, prácticas de trabajo, equipos de protección personal, y manejo de envases vacíos de plaguicidas. Del total de los entrevistados, 17 fueron estudiados mediante el ensayo citoma bucal (Thomas et al., 2009). Se tuvieron en cuenta aspectos necesarios y para el biomonitoreo de personas expuestas (Albertini et al., 2000). Al grupo urbano control se le realizó el mismo estudio, que además fue adaptado por primera vez para caninos y equinos y realizado en los animales domésticos presentes en el lugar. Se realizó análisis estadístico de los datos con software Prisma versión 5.0, test de Kolmogorov-smirnov y Mann Whitney.

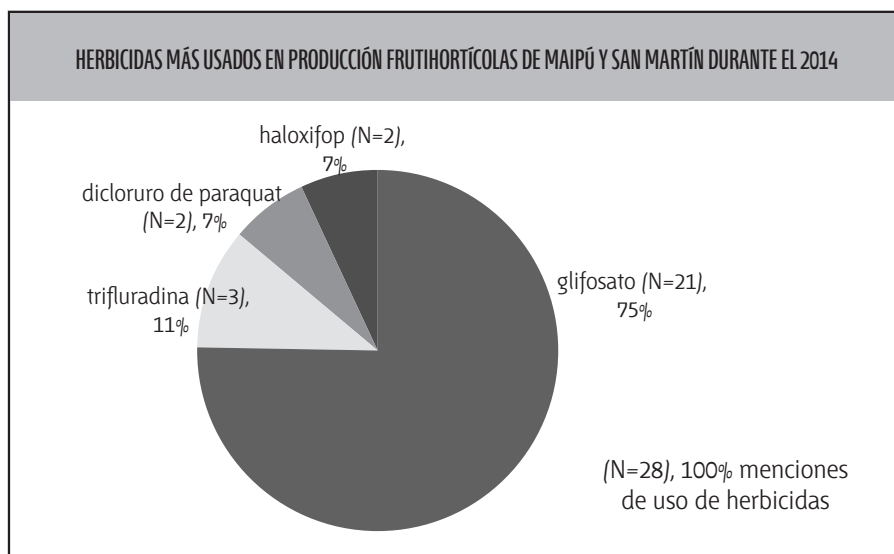
Resultados

A continuación seleccionamos los resultados que consideramos más significativos a ser comunicados:

Plaguicidas que se usan en la producción de alimentos vegetales de Maipú y San Martín:

En los gráficos siguientes se presentan los tipos de plaguicidas (principios activos) más usados en producción frutihortícola de Maipú y San Martín.





En la siguiente tabla se describen las características de los plaguicidas más usados por trabajadores agrícolas de Maipú y San Martín durante el año 2014:

Plaguicidas	Clasificación según acción	Grupo químico	Toxicidad aguda (OMS) ¹	Toxicidad crónica (EPA) ²	Toxicidad crónica (IARC) ³	Producción agrícola en Mendoza ⁴
Glifosato	herbicida	aminas ácidas	II	NL	2a (2015)	frutihortícola
Clorpirifos	insecticida	organofosforado	II	Grupo E	NL	frutihortícola
Imidacloprid	insecticida	neonicotinoide	II	Grupo E	NL	frutihortícola
Cipermetrina	insecticida	piretroide	II	Grupo C	NL	frutihortícola
Metidatión	insecticida	organofosforado	Ib	Grupo C	NL	frutal

1. Clasificación según Organización Mundial de la Salud . Clase Ib: altamente peligroso; Clase II, Moderadamente peligroso, según criterios de toxicidad aguda (DL50).
2. Agencia de Protección Ambiental, EEUU. Grupo E, con evidencia de no carcinogenicidad para humanos y Grupo C, posible carcinógeno humano (carcinogenicidad)
3. Clasificación según Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, OMS. Grupo 2a: Probable carcinógeno y NL, No Listado.
4. Relevamiento de 55 entrevistas realizadas en los departamentos de Maipú y San

Martín de Mendoza durante el 2014

En cuanto a su toxicidad aguda, según datos del Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT), en la provincia de Mendoza durante los años 2010-2013, los plaguicidas agrícolas ocupan el tercer lugar de causas de intoxicaciones en Mendoza (aprox. 120 consultas), priorizado por los medicamentos (aprox. 700 consultas) y seguido de plaguicidas de uso doméstico (aprox. 200 consultas), mientras que en último lugar se encuentran los productos veterinarios.

Posibilidades de exposición a plaguicidas y de contaminación ambiental.

Casi el 60% de los entrevistados usa de uno a tres elementos de protección personal (EPP), y el 9% no los utiliza. En nuestro estudio sólo el 36% de los trabajadores utiliza el impermeable de hule y los guantes que usan son de tela tejida no recomendada. Quienes utilizan barbijos o pañuelos de tela, no protegen sus ojos. Sólo el 18% relata usar de botas de goma y el resto de los trabajadores utiliza calzado no apropiado.

En la zona rural en estudio, el 80% de los trabajadores conoce el método de triple lavado, aunque solamente lo realiza el 30%, y lo hacen para no desperdiciar producto, sin advertir la peligrosidad que posee el envase vacío para ellos, sus familias y el ambiente. El 32% de los entrevistados relata que los envases vacíos le son retirados para programas de reciclado, el mayor porcentaje de los trabajadores los incinera.

Ensayo citoma bucal. Alteraciones nucleares de los trabajadores agrícolas y sus animales:

Respecto a su potencialidad de toxicidad crónica, las variables que resultaron con diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de trabajadores de Maipú y San Martín y el grupo control fueron las células con micronúcleos, células basales, células binucleadas y células con brotes nucleares. El ensayo MN-citoma bucal fue adaptado satisfactoriamente a los animales en estudio. Las células con núcleos picnóticos, carioplíticos y núcleos lobulados fueron las variables que resultaron con valores estadísticamente significativos entre los grupos de referencia o control y el grupo de caninos de las fincas de Maipú y San Martín donde utilizan plaguicidas.

Comentarios finales

El análisis de los plaguicidas más citados por los trabajadores indica que dos son órgano-fosforados, cuyo mecanismo de acción contra los insectos es el bloqueo de una enzima que degrada al neurotransmisor acetilcolina, que también tenemos los seres humanos, y es la causa por la que nos intoxicamos cuando tomamos contacto con cantidades suficientes de un órgano-fosforado, lo que genera un cuadro nervioso que

incluye convulsiones y que puede terminar en la muerte. Los órgano-fosforados son clasificados por la OMS como alta y moderadamente peligrosos.

El metidatión, 4to. insecticida más citado por nuestros entrevistados, fue prohibido en la Unión Europea por la regulación/ directiva 777/2006 (04/129) (http://www.pan-europe.info/Resources/Links/Banned_in_the_EU.pdf). La legislación de la Unión Europea, ha prohibido ("banned") la comercialización y uso de productos que protegen las plantas que contengan sustancias activas, las cuales, aún si se aplican de manera apropiada, puede tener efectos dañinos sobre la salud humana o el ambiente (<http://www.pesticides.gov.uk/guidance/>).

En cuanto al glifosato, los resultados obtenidos hasta el momento en los ensayos de genotoxicidad han demostrado que glifosato no es un herbicida exento de riesgo de toxicidad genética para la población expuesta. Se ha evidenciado la capacidad del glifosato de producir alteraciones genéticas a través de una variedad de ensayos en los que se han hallado resultados positivos (Mañas et al., 2009; Mañas, 2012). El uso del glifosato es exponencial, tanto el principio activo como su metabolito AMPA son persistentes en el ambiente (Battaglin et al., 2005), se lo encuentra en aguas superficiales en zonas de nuestro país donde se lo usa con frecuencia, escurre hacia corrientes de agua cercanas, pudiendo generar contaminación en lugares distantes a los sitios de aplicación (Peruzzo et al., 2008).

Por todo lo expuesto creemos que es necesario que comencemos a hablar de un "uso sustentable de plaguicidas" (<http://www.pesticides.gov.uk/guidance>). El uso responsable y sustentable de plaguicidas puede proporcionar beneficios sustanciales para la sociedad incluyendo: asegurar de que tendremos acceso a una cantidad suficiente de alimentos de buena calidad pero manteniendo los ambientes urbanos, controlando las especies invasivas pero protegiendo el agua, apostando a la conservación de la naturaleza, manejo adecuado de los recipientes vacíos, correcto transporte de productos peligrosos, capacitación en la prevención de accidentes, los usuarios de plaguicidas deben tener capacitación profesional, los asesores de uso de plaguicidas deben estar correctamente informados, informar al público en general y poner en marcha sistemas para recopilar información sobre incidentes de intoxicación aguda y los historiales de envenenamiento crónico. Para un uso sustentable de plaguicidas la fumigación aérea debe estar prohibida, como en Europa, no se realiza en Mendoza pero si en otras provincias de nuestro país; minimizar o prohibir el uso de plaguicidas en algunas zonas críticas por razones de salud o protección del ambiente, todos los equipos de aplicación de plaguicidas tienen que ser inspeccionados al menos una vez al año para un uso eficiente y adecuado de cualquier producto, y promover un "Manejo Integrado de Plagas"

(MIP): promover un manejo agrícola con baja incorporación de plaguicidas, incluyendo métodos no químicos. La Unión Europea reglamentó que los usuarios profesionales tendrán que aplicar los principios generales del MIP ya desde el 1 de enero de 2014 (http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/sustainable_use_pesticides/index_en.htm).

El daño genético en los trabajadores expuestos presentó un aumento significativo en células micronucleadas, brotes nucleares y células binucleadas. El daño genético en los caninos expuestos presentó un aumento en células picnóticas, células cariolióticas y células con núcleos lobulados. Las alteraciones nucleares observadas en caninos no coinciden con las observadas en seres humanos. El número de caninos estudiados es aún insuficiente y es nuestra intención aumentarlo, al igual que el número de equinos. Si bien no es posible demostrar con certeza una relación en particular entre la exposición a los citados plaguicidas y las alteraciones nucleares observadas en células exfoliadas de humanos y animales, estas alteraciones son una realidad, con la importancia de que no provienen de sistemas in vitro o producidos experimentalmente in vivo en animales, sino que provienen de observaciones directas de personas y animales expuestos a plaguicidas agrícolas.

Bibliografía

1. Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, Natarajan AT, Norppa H, Shuker DE, Tice R, Waters MD y Aitio A. (2000) IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research* Vol 463(2); 111-172.
2. Backer L C, Grindem C B, Cobertt W T, Cullins L y Hunter L C. (2001). Pet dogs as sentinels for environmental contamination. *The science of the total environment*; Vol 274; 161-169.
3. Ceppi M, Biasotti B, Fenech M, Bonassi S. (2010) Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: statistical and epidemiological issues. *Mutatation Reseach*. Vol 705 (1); 11-19.
4. Battaglin, W., Kolpin D., Scribner E., Kuivila K. y Sandstrom M. (2005). Glyphosate, Other Herbicides, and Transformation Products in Midwestern Streams. *J Am Water Resour Assoc*. Vol 41; 323-332.
5. Mañas F., Peralta L., García Ovando H, Weyers A., Ugnia L., Larripa I., Gonzalez Cid M. y Gorla N.. (2009). Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environmental Toxicology and Pharmacology* Vol 28; 37-41.

VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA “MLPA” PARA LA DETERMINACIÓN DEL ONCOGEN ERBB₂ EN CARCINOMAS DE MAMA

Equipo: María Roqué; Francisco Gago; Javier Orozco; Bárbara Mendiondo; Olga Tello; Sergio Laurito; Guillermo Urrutia

Instituciones: Área Sanitaria de Godoy Cruz, Ministerio de Salud; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: mroque@mendoza-conicet.gob.ar

Introducción

El cáncer de mama está entre las principales causas de muerte de mujeres en Argentina, siendo Mendoza y San Luis las dos provincias con mayor tasa de mortalidad. Los avances en genómica y proteómica han permitido identificar marcadores pronósticos y predictivos que contribuyen a mejorar la sobrevida. La sobre-expresión/amplificación del oncogen HER2 (17q12) es un factor de mal pronóstico e indicador de sensibilidad al anticuerpo monoclonal Trastuzumab (Herceptin). Las guías internacionales de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) y el College of American Pathologists (CAP) indican que la determinación de HER2 se debe realizar en los carcinomas mamarios invasores primarios y en sus metástasis por Inmunohistoquímica (IHQ) o por metodologías de hibridación de sondas in-situ (FISH/CISH). Cualquier otro test debe ser validado respecto de éstos. Los valores para informar tumores HER2 positivos y negativos están establecidos. Los resultados ++ son considerados equívocos y requieren ser resueltos por la metodología no utilizada en primera instancia (FISH/CISH).

En Mendoza las determinaciones para HER2 se realizan por IHQ. Los casos intermedios son derivados para estudios FISH/CISH a las provincias de Córdoba y Buenos Aires. En Mendoza no existe servicio de IHQ en entidades públicas. Entre los laboratorios privados, se observa alta variabilidad entre resultados de IHQ y discordancia con la clínica. Una dificultad que se agrega a las determinaciones HER2 es la heterogeneidad tumoral, que afecta a los resultados dependiendo de qué porción del tumor se analice.

Los objetivos son: contribuir al diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama con la validación de una nueva metodología basada en hibridación de sondas, denominada MLPA, para determinar la amplificación del oncogen ERBB2.

Método

Es un estudio analítico observacional. Pacientes y muestras. Luego de la firma de un consentimiento informado aprobado por el comité de ética de la UNCuyo, 11 pacientes con carcinomas ductales invasores fueron incluidas en el estudio.

Extracción ADN. El ADN fue extraído tanto de tumores frescos como de tejido tumoral embebido en parafina, mediante protocolos basados en la utilización de proteinasa K y precipitación con cloroformo-alcohol isoamílico, a los efectos de obtener cantidad y calidad de ADN suficiente para su posterior hibridación con sondas.

Ensayos de MLPA: Los ensayos de MLPA se realizaron sobre una cantidad mínima de ADN (20 mg) a los efectos de diluir posible contaminación con células normales. En breve, los ensayos consisten en una del ADN templado, hibridación con diferentes pares de sondas, su posterior ligación y amplificación con un set de primeros marcados con fluorescencia. La posterior resolución de los productos de amplificación, se realiza por electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI3130. Cada ensayo se acompaña con el análisis en una muestra control de copias genómicas normales.

Resultados

Análisis de amplificación de ERBB2 por MLPA: Una de las dificultades para determinar amplificación de copias genómicas es la contaminación de la muestra con células normales. MLPA es una metodología semi-cuantitativa que permite detectar la amplificación en términos de porcentajes. Si bien su umbral de detección es altamente sensible, un exceso de ADN normal podría impedir la identificación de la amplificación tumoral. Es por esto que se decidió realizar ensayos partiendo de cantidades mínimas de ADN a los efectos de minimizar el impacto de células normales, células mesenquimales y leucocitos que portan 2 copias de ERBB2 en condiciones de normalidad. Para esto se estableció como criterio partir de 20 mg totales, el mínimo valor sugerido por los creadores de la metodología (www.mlpa.com) Los resultados de MLPA revelaron que en todos los casos se pudo determinar el estado del oncogen ERBB2.

El kit de sondas utilizado (P004) incluye 4 sondas para ERBB2 que hibridan en los exones 7, 22, 28 y 29 como regiones representativas del oncogen. A su vez, incluye varias sondas más para la región 17q y 17p.

Los 11 carcinomas analizados abarcaban todos los resultados posibles para IHQ: un tumor IHQ-, dos tumores IHQ+, cinco tumores IHQ++ (resultados que requieren resolución por otro método) y tres tumores IHQ+++ . Los resultados de MLPA se muestran en la figura 1, presentando el análisis de ratio entre las copias de ERBB2 en la muestra tumoral y en una muestra control de tejido normal. Para considerar un resultado por MLPA positivo para la amplificación de ERBB2, se tomó como umbral un valor > 2 . Somos conscientes de que este cut-off es superior al utilizado por otros autores que sugieren en la literatura un ratio > 1.3 para considerar ERBB2 amplificado. Nuestro propósito en una primera instancia, fue mantener un criterio altamente conservador. En la Figura 1 se pueden observar los análisis de tasas entre el número de copias de ERBB2 en algunas de las muestras estudiadas y el control sano (tejido mamario normal obtenido de margen de resección quirúrgica).

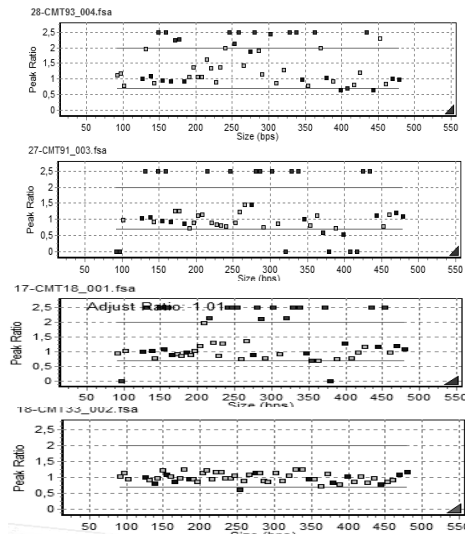


Figura 1. Análisis de ratio de los ensayos de MLPA, entre muestras de tumor mamario y tejido normal.

En los 4 paneles se muestran 4 análisis de ratio en tumores distintos. Las líneas verdes horizontales presentan el rango de desvío aceptado, considerándose normal un ratio hasta 2. Cada punto representa el ratio de una sonda que hibrida en una región específica del genoma. Los puntos verdes se encuentran dentro del rango de desvío aceptado y no son presentando alteración numérica respecto de una muestra control normal. Los puntos rojos por debajo de la línea verde horizontal inferior, representan ratios por debajo de desvío aceptado y permiten inferir delección de esas región. Puntos rojos por encima de la línea verde horizontal superior, indican valores de ratio > 2 y permiten inferir amplificaciones, comparado con una muestra control normal.

Los 3 paneles superiores revelan varios puntos rojos amplificados. En las 3 muestras los 4 exones ERBB2 se encuentran amplificados. En el segundo panel, además algunas regiones se encuentran delecionadas. En el último panel no se detectan ratios alterados, excepto una región que no afecta ERBB2, que se encuentra en el valor umbral de aceptación.

De los 11 análisis por MLPA, 7 coinciden con los resultados IHQ y 4 son discordantes. De los 4 discordantes, todas fueron repetidas por MLPA y mantuvieron el resultado y es valioso distinguir las diferencias observadas. La primera discordancia (Figura 1, primer panel, CMT93) revela un resultado de MLPA positivo (ratio > 2), con un resultado e IHQ + (considerado negativo). A su vez, el último panel de la Figura 1 (CMT33) presenta un

resultado de MLPA negativo (ratio <2) y un resultado de IHQ+++ (positivo sin requerir análisis por ISH). Estas dos discrepancias probablemente sean explicables por la heterogeneidad intra-tumoral. Las muestras que se utilizaron para ambos ensayos fueron tomadas en diferentes instancias, y pueden no representar la misma parte del tumor. Estos datos sugieren que en tumores altamente heterogéneos, los análisis para cotejar resultados deberán realizarse a partir de una misma porción tumoral. Además, indican la importancia de evaluar distintas secciones del tumor para descartar discrepancias debido a la heterogeneidad espacial. Otra explicación es la posible variabilidad de los ensayos de IHQ, que depende en grande de la calidad del anticuerpo utilizado, la marca, y el protocolo utilizado. En este sentido, MLPA es más robusto, presenta alta repetibilidad si las condiciones iniciales de ADN son respetadas.

Las otras dos discrepancias corresponden a dos tumores (CMT91 y CMT18) con resultados de IHQ++, que indican un resultado dudoso, equívoco. Ambos fueron enviados para análisis por ISH fuera de la provincia, y en ambos casos los resultados dieron negativo. Sin embargo, por MLPA se detectó en ambos casos la amplificación de ERBB2. En nuestro entender, si bien estas diferencias también pueden ser explicados por la heterogeneidad intra-tumoral, nos animamos a plantear que MLPA es más sensible que FISH/CISH dado que, a diferencia de éstos, permite resolver amplificaciones en tándem y por polisomía.

Sensibilidad y Ventajas de MLPA: Tomando a los ensayos de IHQ como “positivos verdaderos”, esto revela una sensibilidad de MLPA del 75%, con un intervalo de confianza del 95% entre 20,3-95,8.

Estas observaciones permiten sugerir que MLPA podría contribuir a resolver regionalmente la determinación de la amplificación de ERBB2, siendo tan o más sensible que IHQ y CISH/FISH. A su vez, cuenta con las siguientes ventajas: -permite detectar amplificaciones en tándem y en polisomía (ISH no puede), puede partir de 20ng de ADN (cantidad mínima), no requiere cuidados previos o tratamientos especiales de la muestra (como ISH, IHQ), no es observador dependiente (como IHQ), resultados listos en 72hs, con menor tiempo de análisis (respecto de IHQ y ISH), tiene un costo intermedio entre IHQ y FISH.

Comentarios finales

La importancia del proyecto se evidencia a través del creciente desarrollo de la medicina personalizada en el cáncer de mama. Los esfuerzos en investigación y la inversión de subsidios en oncología se orientan a la identificación de marcadores tumorales que permitan un diagnóstico temprano y un tratamiento específico de cada paciente. Claramente el foco está puesto en estos dos ejes: diagnóstico temprano y tratamiento

específico. La función de este proyecto ha sido comenzar a contribuir en la región de Cuyo a que el diagnóstico de tumores HER2 sea más rápido y ágil. Nuestros resultados sugieren que es posible determinar HER2 por una metodología alternativa a las existentes en el país, como un complemento a los métodos existentes. El proceso de innovación requerirá ser validado, propuesta que se ha realizado a la ANPCyT de MINCyT en el contexto de los FITR-SALUD y que ha sido recientemente aprobada.

Bibliografía

1. Yan, M. et al. (2014) HER2 aberrations in cancer: implications for therapy. *Cancer Treat Rev.* Vol 40(6);770-80
2. Antonio C. Wolff et al. J Clin Oncol (2013) Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. Vol 1;31
3. Schouten J (2002) Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* Vol 12; 15-30.

EL ACCESO A LA SALUD, AL DERECHO Y AL REVES. TRAYECTORIAS SANITARIAS DE LOS LLAMADOS “NIÑOS CON TGD” (TRASTORNOS GENERALIZADOS DEL DESARROLLO)

Equipo: Gastón Cottino; Alicia E. Laprida; Laura Salen; Florencia Álvarez

Instituciones: Área Infanto Juvenil, Dirección Gral. de Salud Mental, Ministerio de Salud; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: gastoncottino@hotmail.com

Introducción

La detección y el diagnóstico de psicopatología en sujetos durante la primera infancia implica altos grados de complejidad, además los cuadros graves (léase psicosis, autismo, etc.) presentan dificultades propias que obstaculizan muchas veces el reconocimiento y el diagnóstico diferencial. La simplificación de las causas en este terreno implica consecuencias en la planificación de los abordajes terapéuticos.

Se decidió realizar el presente estudio a fin de vislumbrar la situación real del “recorrido” por las distintas instituciones del sistema sanitario de los niños de Lavalle. Para ello, consideramos necesario aplicar un modelo de investigación cualitativa y cuantitativa que permita conocer y comprender las vivencias de los participantes involucrados en un entorno específico. El resultado de la indagación permitió efectuar propuestas para mejorar las prácticas clínicas de salud mental así como la inclusión de niños y niñas con psicopatologías graves.

Objetivo general de la investigación: conocer las trayectorias dentro del sistema sanitario y analizar las distintas respuestas que este sistema brinda, en sus distintos niveles, a los niños/as de Lavalle, con indicadores compatibles a los criterios de psicopatología graves de la constitución subjetiva.

Método

La investigación se llevó a cabo mediante una metodología cuanti-cualitativa que considera un estudio aplicado de carácter observacional, descriptivo.

Resultados

A continuación se muestran algunos de los resultados obtenidos en la fase cuantitativa de la investigación.

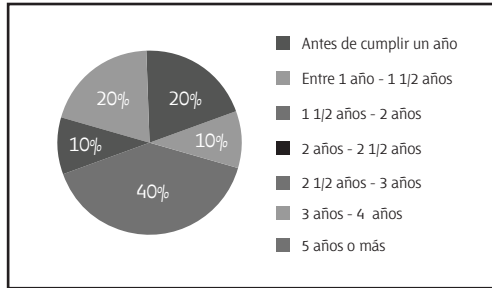


Gráfico 1. Edad de detección de primeros signos de alarma según la Perspectiva de los padres

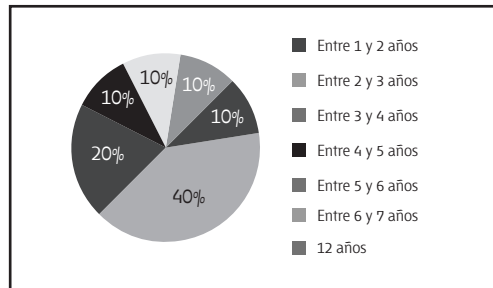


Gráfico 2: Edad de la primera consulta al Centro Infanto Juvenil Salud Mental

Este gráfico evidencia una demora de dos años al menos entre la detección y la consulta a un Centro Infanto Juvenil de Salud Mental, efector en el cual se le puede dar respuesta a la situación.

Los resultados incluyeron además la localización de los obstáculos a nivel económico y geográfico para acceder sobre todo a los centros de atención de nivel 3; así como barreras de tipo principalmente burocrático en el nivel 3 y en menor medida en el 1. La subjetividad de los padres también puede ser un obstáculo a la hora de reconocer

el signo de alarma. También se evidenciaron, aunque de menor relevancia, barreras culturales como por ejemplo, creencias en torno al concepto de salud/enfermedad.

Uno de los hallazgos fue que la escuela es uno de los principales derivadores cuando la detección en el sistema de salud falla; allí se utiliza un sintagma, referido casi en todos los casos, con el cual el profesional de la salud “tranquiliza” a los padres: “ya va a hablar”.

La mayoría de los padres de la muestra destacaron que los niños se benefician con el tratamiento, interdisciplinario (trabajo social, psiquiatría y psicología).

Los facilitadores en el acceso incluyen la comparación con hermanos para detección del signo de alarma, el uso de la red social y del sintagma “lavallino” para sortear barreras burocráticas y del contacto más cercano con profesionales de los niveles 1 y 2.

Los profesionales del Centro Infanto Juvenil de Lavalle, destacan el poco tiempo para las consultas en el nivel 1. En los tres niveles se destaca la necesidad de formación, la falta de articulación de la red y la necesidad de más lugares que puedan abordar a estos niños. Se evidenció también una gran proliferación de distintos diagnósticos en la trayectoria de cada niño.

El Certificado Único de Discapacidad reviste una complejidad importante entre la ayuda social, la burocracia y los posibles efectos de estigmatización.

Lo que llama de la atención de los padres en los primeros años, vinculado a lo que después será el cuadro detectado, se puede dividir en “rarezas” en las siguientes aéreas: lenguaje, relación con los otros, relación al cuerpo y psicomotricidad y sensopercepción. La mayoría de los profesionales coinciden en que los indicadores del área del lenguaje son los más reconocidos como signos de alarma, y que estos, con mayor frecuencia, pueden movilizar a los padres a una consulta.

Comentarios finales

Se constató la presencia de barreras de distinto tipo para la accesibilidad al sistema de salud. A su vez estas se pueden dividir en geográficas (transporte y distancias a los centros de atención), económicas (medios para costear transporte y estudios) y administrativas o burocráticas (dilación en turnos, consultas, dificultades para la obtención de los mismos). Esto genera demoras (2 años) en llegar al efector correspondiente, angustia a la familia y iatrogenia en el cuadro. Las numerosas instancias de evaluación no parecen condecirse con abordajes posteriores ni con acompañamiento a las familias.

Si bien estas dificultades pueden evidenciar la vulneración del derecho a la salud del niño con psicopatología grave, por otra parte existen otros factores que contrapesan lo anterior. Se trata de recursos de las mismas familias, y la relación con los profesionales del nivel 1 y 2.

Se comprobó también que los padres detectan los signos de alarma, aunque sin mencionarlos como tales y que es desde el sistema de salud que no se los precisa.

Si bien las familias refieren mejorías gracias al tratamiento interdisciplinario. Hay que destacar allí cierta contradicción en el tratamiento farmacológico, ya que los profesionales dicen no indicarlo mayormente en niños menores a 5 años y la mayoría de los niños medicados de la muestra comenzó este tratamiento entre los 2 y los 4 años, principalmente a instancias de un neurólogo.

Bibliografía

1. Convención Internacional de Derechos del Niño/a y Adolescentes.
2. Convención Internacional sobre las personas con Discapacidad.
3. Unicef. Convención Internacional de los derechos del niño (2004). Septiembre 2016, <http://www.unicef.org/argentina/spanish/7.-Convencionsobrelsderechos.pdf>
4. Ley Nacional de Salud Mental n° 26.657. (2011). Septiembre 2016, sitio <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/175000-179999/175977/norma.htm>.
5. Ley de Protección Integral de los Derechos de las Niñas, Niños y Adolescentes n° 26061. (2005). Septiembre 2016, Sitio web: <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/110000-114999/110778/norma.htm>

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESTRICCIÓN DEL CRECIMIENTO INTRAUTERINO EN LA EMBARAZADA ATENDIDA EN EL ÁREA DEPARTAMENTAL DE JUNÍN, MENDOZA, ARGENTINA

Equipo: Walther Alfredo Olivera; Elizabeth Cartechini; Sofía Vega

Instituciones: Área Departamental de Junín, Ministerio de Salud; Universidad del Aconcagua

Contacto: alfredoolivera1942@gmail.com

Introducción

En Salud Pública y específicamente en el área de la salud materna infantil se han identificado factores responsables de los sucesos de parto prematuro, pequeño para la edad gestacional a término y bajo peso al nacer, causa principal de mortalidad neonatal y de morbilidad neurológica a corto y largo plazo. (Egan 2008).

Durante el tiempo de evolución de la gestación se detectan factores causantes de restricción en el crecimiento intrauterino lo cual lleva a la situación de producir los sucesos.

Dentro del conjunto de factores que afectan la evolución de la gesta se encuentran los demográficos, sociales, económicos conductuales o hábitos pregestacionales biológicos y gestacionales los cuales pueden aparecer en determinados trimestres de la evolución y afectar desde el inicio la gestación.

El contexto propio que identifica a la población del departamento de Junín con zonas urbanas y rurales y particularmente a las mujeres residentes que se encuentran en edad reproductiva es una realidad que puede influenciar en modo particular los efectos que producen los factores de riesgo para determinar restricción en el crecimiento intrauterino.

El análisis de las situaciones pre- gestacionales y durante la evolución del embarazo en las gestantes, se realizó a través de cuestionario estructurado basado en las variables seleccionadas de factores de riesgo.

Esta toma como base a la historia clínica perinatal CLAPS / OMS.

Esta intervención de tipo sanitario se realizó en el Área departamental de Junín en embarazadas diagnosticadas por ecografía desde la adolescencia temprana y adultas. Participaron los Centros de Salud periféricos que conforman el área a través de derivaciones realizadas al Centro de Salud N°62 y al CIC N° 913 de La Colonia.

Objetivo general: Describir la distribución, frecuencias e interacción de factores de riesgos demográficos, sociales, económicos, biológicos, pregestacionales, gestacionales y ambientales asociados a la restricción del crecimiento intrauterino en las embarazadas en el departamento de Junín.

Método

El presente trabajo de investigación fue un estudio de intervención sanitaria con un diseño descriptivo de cohortes prospectivo.

Descripción del ámbito de estudio: La intervención se realizó en el Área Departamental de Junín, centro cabecera del departamento Área departamental Centro de Salud N°62 y CIC N° 913 de La Colonia y los siguientes Centros de Salud fueron: Centro de Salud Rodríguez Peña N° 65, CIC Los Barriales N° 921 , Centro de Salud Algarrobo Grande N° 64, Centro de Salud de Santos Lugares N° 78, Centro de Salud Phillips N° 71 y los CAPS Municipales, Otoyanes, El Topón, El Martillo y Alto Verde en la que participaron embarazadas de edades comprendidas entre los 14 hasta los 45 años residentes en el Departamento de Junín.

Población: Universo o población objetivo. Población de mujeres embarazadas residentes en el Departamento de Junín, Mendoza.

Unidad de análisis, criterios de inclusión y exclusión. Los criterios de inclusión fueron: Mujeres comprendidas entre los 14 a 45 años nulíparas o multíparas que comienzan un embarazo de evolución normal con consulta prenatal obstétrica ginecológica y odontológica desde su inicio en el Área Departamental de Junín.

Mujeres de edad de 14 a 45 años nulíparas o multíparas comienzan con embarazo con consulta prenatal médica desde su inicio y que adquieran en forma temprana una patología.

Mujeres de edad de 14 a 45 años nulíparas o multíparas que se incorporan en algún momento de los trimestres ya con patología detectada sin tratar o a detectar.

Los criterios de exclusión fueron: Mujeres menores de 14 años y mayores de 45. Mujeres con patologías tumorales, hemáticas, trastornos metabólicos, trasplantadas, o cualquier otro factor más allá de la capacidad resolutoria de APS. Mujeres con problemas confirmados a través de asistente social de violencia familiar, abortos ilegales diagnosticados en la sala de guardia del Área departamental Junín.

Historias clínicas en donde no figuren registros y ausencias de datos referidos al peso al nacer, en casos de BPN y de factores de riesgos maternos obviados que se encuentren archivadas en el Área departamental de Junín cuando se recurran para su consulta.

Población accesible: muestra. Se tomó la muestra utilizando el método aleatorio simple de embarazadas que concurrieron durante los meses de julio de 2014 hasta abril de 2015.

Selección y tamaño de la muestra.

Se hizo, en base a la población femenina en edad reproductiva, según datos estadísticos demográficos pertenecientes al departamento de Junín, de acuerdo con el CENSO poblacional 2010.

Se tuvo en cuenta los sesgos por pérdida de información y/o por falta de colaboración de la embarazada durante el llenado de la historia clínica.

Resultados

Del análisis de la investigación de factores de riesgo asociados a la restricción del crecimiento intrauterino en la embarazada atendida en el Área Departamental de Junín, Mendoza, se constató las edades de las embarazadas que asistieron al control prenatal (CPN) fueron 114, de las cuales el 1,75% corresponde a adolescente extremo; 10,52 % a adolescentes; 78,9% a adultas y 8,7 % a madres añosas. Si se determina la edad como factor de riesgo reproductivo el 20,9% de las embarazadas estuvieron en riesgo por ser adolescente extremo, adolescente y madre añosa.

Al analizar el estado civil se comprobó que el 19% de las embarazadas afrontaron el embarazo solas; es de destacar que se considera importante el acompañamiento de la embarazada no solo por el aporte económico si no por el estado psicológico de la madre. Se detectó que las embarazadas en unión estable y casada comprendieron el 80%.

Con respecto a la zona de residencia, las embarazadas con domicilio en zona rural

comprendieron un 25,4%, siendo una población de riesgo ya que en la zona rural existe contacto con fumigaciones, una planta purificadora de residuos cloacales, falta de tratamiento de residuos domiciliarios y el uso de agua de pozo, como así también el constante trabajo rural que realizan a pesar de su estado de gravidez. Las domiciliadas en zona urbana representaron un 25,4%. Es de destacar que por las características demográficas el departamento de Junín cuenta con la mayor superficie poblada en zona urbana y que aun estando en zona rural se cuenta con agua potable en los centros distritales.

Al medir el nivel de ingreso de la embarazada y del grupo familiar que la contiene, el 75,5% no superó los \$5.000, siendo el 29,4% quienes viven con menos de \$2.900.

Al evaluar tabaquismo se observó que el 45,2% de las embarazadas están expuestas, ya sea por ser fumadoras o por serlo pasivamente.

Riesgo absoluto en población con factor de riesgo presente: 0,06, con tasa de riesgo = 6% .

Riesgo absoluto en población sin factor de riesgo: 0,04, con tasa de riesgo =4,4%, Riesgo relativo =1,5

Con respecto a consultas obstétricas solo el 37,55% de la muestra realizó la primera precozmente. El 50,3% en algún momento del Segundo Trimestre. El 12% lo realizó en forma tardía. El 62,3% de las embarazadas se encontró expuesta a riesgo.

Al considerar como óptimo que se realicen dos controles en primer trimestre, dos en el segundo trimestre y tres controles en el tercer trimestre de embarazo (OPS, 2011), se detectó que en el primer trimestre el 64,9% de las embarazadas no concurren a los controles. A medida que avanzaron los trimestres este porcentaje disminuyó cumpliendo con los dos o más controles propuestos.

El control prenatal al inicio del embarazo fue insuficiente. La captación precoz y el número de controles se encontraron por debajo de lo esperado.

Se detectó que el 54,4% de las embarazadas se encontraron sobre el IMC/EG normal, situación que aumenta el riesgo de hipertensión gestacional. El 12,5% en condiciones de enflaquecidas con un probable aumento en el riesgo de restricción y sólo el 32% con peso normal.

Se determinó que el 30% de las embarazadas fueron derivadas por interconsulta o por alto riesgo obstétrico. Destacándose que las de alto riesgo como amenaza de aborto o amenaza de parto pre- término representaron el 5,96% y no regresaron a las consultas.

Los datos de UNICEF (2013) de prevalencia de bajo peso al nacer, definida como el número de nacidos vivos con menos de 2500 gramos, establecen para Argentina la media de 7,3% de los nacimientos. La restricción tomando como base la AU/EG al final del embarazo resultó el 5,4% en el departamento de Junín por debajo de la media nacional.

Se detectó que según el peso de recién nacidos/edad gestacional por grupos de embarazadas residentes en el Departamento de Junín desde agosto 2014-abril 2015 (Lubchenco), de los 132 nacimientos, 120 niños lo hicieron a término y con peso adecuado representando el 90% ; por parto prematuro con bajo peso nacieron 5 niños que son el 0,78%; por prematuro de alto peso 1 niño y representó 0,75%. Es de destacar que 4 niños nacieron pos-término con alto peso y representaron el 3%.

Se destaca que no todo niño cuyo peso se encuentra por debajo del percentil 10 tiene restricción. Así mismo un niño cuyo peso se encuentra por arriba del percentil 10 puede tener restricción. (Fescina, R.H. y col. 2011)

De los pesos de los recién nacido se estimó para Junín $3,4$; ($n=42$) ; ($s= 0,51$) ; ($V= 15\%$). La Colonia $3,24$; ($n=61$); ($s=0,42$); ($V= 12,9\%$). Los Barriales $3,1$; ($n= 16$); ($s= 0,5$); ($V = 16,1\%$). $p= 0,05$.

La pérdida de información fue condicionante para la lectura de datos y para la obtención de resultados específicos. Si bien se confeccionó y entregó una encuesta única por paciente se pudo detectar que: derivaciones tempranas sin contrarreferencia, cambio a otro centro asistencial privado o estatal, negligencia materna especialmente en las obesas, y por último la falta de completamiento de datos aún durante la evolución del embarazo en las encuestas, condicionaron el análisis estadístico.

Se destacó que en ninguna de las historias clínicas figuró el peso del recién nacido, por tal circunstancia se tuvo que recurrir a bioestadística del Hospital Alfredo I. Perrupato, e ir personalmente a las pacientes para averiguar los datos.

Comentarios finales

El conjunto de recomendaciones que surgen de los resultados de la investigación y podrían mejorar las prácticas, intervenciones y políticas sanitarias.

Aunque para la mayor parte de las mujeres el embarazo evolucionó normalmente, en algunos casos surgieron dificultades que expusieron un embarazo a riesgo. Esto requirió de controles adecuados por parte del profesional.

Es necesario crear una historia clínica única oficializada y obligatoria por paciente y para toda el área departamental, ya que se detectó varias historias clínicas para una

misma paciente y al mismo tiempo se propone reunir a los profesionales para acordar criterios para la confección de las historias clínicas .

La interdisciplinariedad debe ser un modelo prioritario para la atención de la embarazada.

Bibliografía

1. Aguilar Barojas, S. (2005) Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. Salud en Tabasco Vol 11(1-2); 333-338.
2. Álvaro Ruiz M, Morillo Z. (2004). Epidemiología clínica: investigación clínica aplicada. Bogotá: Editorial Medica Internacional.
3. Bortman M.(1998) Factores de riesgo de bajo peso al nacer. Revista. Panamerica. Salud Pública, Vol 3(5); 314-321.
4. Couceiro M. Passamai M. Contreras N. (2009) Variables biológicas y sociales de embarazadas y peso al nacer de sus hijos, controladas por el primer nivel de atención(Salta, Argentina). Antropo, Vol 19;7-21. Septiembre 2016 Sitio web: www.didac.ehu.es/antropo
5. Díaz A, Sanhueza P. (2002) Riesgos obstétricos en el embarazo adolescente: estudio comparativo de resultados obstétricos y perinatales con pacientes embarazadas adultas. Revista chilena de obstetricia y ginecología Vol. 67(6): 481-487

INVESTIGACIONES EN SALUD

2015



DESARROLLO DE UNA TÉCNICA MOLECULAR PARA INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES APLICABLE A CÁNCER DE COLON

Equipo: Sandra Furfuro; Jorge Bufaliza; Carla Binia, Miguel Marino; Laura Locano

Instituciones: Hospital Lagomaggiore, Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: sfurfuro@hotmail.com

Introducción

El Cáncer Colorrectal (CCR) es la segunda causa de muerte por cáncer en Argentina, con una incidencia estimada de más de 11.000 nuevos casos por año.

La patogénesis del CCR es extremadamente compleja, diversa y es influenciada por múltiples factores, algunos de los cuales se encuentran relacionados a la dieta y estilo de vida y otros se relacionan a la predisposición genética.

Alrededor del 75% de los casos de CCR son esporádicos, es decir que se desarrollan en personas que no presentan antecedentes personales ni familiares de la enfermedad. El 25% restante se produce en personas con riesgo adicional debido a situaciones tales como antecedentes de adenomas únicos o múltiples, enfermedad inflamatoria intestinal y antecedentes familiares de cáncer colorrectal o adenomas. A su vez, entre el 3% y el 8% de los casos son producidos por mutaciones heredables en genes puntuales y constituyen los distintos síndromes de cáncer colorrectal hereditario. El más común de ellos es el Síndrome de Lynch o Cáncer Colorrectal Hereditario no Polipósico (CCHNP). Los pacientes afectados tienen un riesgo superior al 80% de desarrollar cáncer de colon y en mujeres, el riesgo de desarrollar cáncer de endometrio es de 60%. También se encuentra incrementado el riesgo de padecer cáncer de estómago, de ovario, de intestino delgado, de vías biliares y de riñón.

La patogénesis del Síndrome de Lynch se relaciona con fallas en el sistema de repa-

ración del ADN o DNA MisMatch Repair (MMR). Dicho sistema es responsable de la producción de proteínas que reconocen y reparan los errores cometidos en la incorporación de bases en el ADN durante la replicación y que escapan al control inicial de la ADN polimerasa. Los genes descritos que dan origen a estas enzimas son: MLH1, MSH2, MLH3, MSH6, PMS1 y PMS2; habiéndose detectado mutaciones en todos ellos que llevan a su inactivación. Las mutaciones en MLH1 y MSH2 representan el 80 - 90% de las mutaciones encontradas en pacientes con Síndrome de Lynch.

Las alteraciones en el sistema de reparación del ADN llevan a la acumulación acelerada de mutaciones de nucleótido único y cambios en la longitud de secuencias repetitivas o microsatélites, fenómeno conocido como Inestabilidad de Microsatélites (MSI).

La evaluación de la presencia o ausencia de Inestabilidad de Microsatélites (MSI) y del tipo de inestabilidad (alta o baja), en tumores colorrectales al momento del diagnóstico de CCR, tiene un potencial significativo para el buen manejo del paciente y el asesoramiento familiar.

Alta Inestabilidad de microsatélites (MSI-High) se encuentra presente en más del 85% de los CCR que ocurren en familias con CCHNP. Además, puede detectarse en el 10 al 15% de los casos de CCR no asociados a CCHNP, que pierden la función MMR debido a silenciamiento por metilación de los genes de reparación del ADN.

Los tumores colorrectales con MSI tienen características definidas, entre ellas, predominio de afectación del colon proximal, infiltrado linfocitario y apariencia poco diferenciada, mucinosa o en anillo de sello. Por otro lado, presentan un mejor pronóstico que los tumores sin MSI y tienen diferente respuesta a la quimioterapia. Varios estudios han demostrado que los tumores MSI-H no responden a la terapia con fluoropirimidinas, tales como 5-Fluorouracilo y Capecitabina. No obstante esto, pueden ser sensibles a Irinotecan y Mitomicina C. El descubrimiento de la MSI en CCR ha incrementado el conocimiento de la diversidad de los cánceres colorrectales y ha mejorado sus implicancias en el tratamiento de los pacientes.

La identificación de los casos de cáncer familiar y hereditario permite estratificar a la población de acuerdo al riesgo de desarrollar la enfermedad y establecer estrategias de prevención efectivas. El asesoramiento genético, la valoración del riesgo y el seguimiento clínico de estas familias, requiere el accionar de grupos interdisciplinarios y es considerado una parte esencial del manejo clínico oncológico.

El objetivo del trabajo fue diseñar una técnica molecular para el análisis de Inestabilidad de Microsatélites (MSI) que permita reducir los costos de esta prueba y adecuar los algoritmos para mejorar el diagnóstico de Síndrome de Lynch.

Método

Estudio no experimental, observacional, descriptivo.

Se incorporaron al estudio 33 pacientes con cáncer colorrectal de hasta 70 años, con al menos, un familiar de primer grado con cáncer de colon (sin criterio etario) o un familiar con cáncer de colon menor de 50 años (2º grado o más), derivados al Laboratorio de Análisis de ADN por médicos gastroenterólogos, cirujanos o genetistas. Se solicitó la firma del consentimiento informado previo a la extracción de sangre y recepción de muestras de biopsia intestinal. Se registraron los datos personales, antecedentes de la enfermedad, antecedentes familiares, resultados anatomopatológicos y de inmunohistoquímica.

Las muestras recibidas consistieron en sangre periférica y taco de biopsia de colon o muestras en fresco de mucosa de colon sana y tumoral.

Se extrajo ADN desde sangre periférica utilizando el método de salting-out. El ADN de las muestras en fresco de mucosa colónica o las biopsias incluidas en parafina se obtuvo mediante digestión proteolítica con proteinasa K y buffer TEC/SDS 2% con posterior purificación utilizando fenol-cloroformo y precipitación alcohólica. En las muestras parafinadas, además, se realizó purificación del ADN utilizando columnas Microcon Y-100. Las muestras de ADN fueron cuantificadas mediante Quantifiler Human DNA Quantification kit Thermo Fisher Scientific o Quanti Fluorids DNASystem Promega Corp.

Se seleccionaron los marcadores microsatélites recomendados por el Consenso de Bethesda 2004: D2S123, D5S346, D17S250, BAT-25 y BAT-26 y se agregaron los marcadores NR-21, NR-22 y NR-24. Se enviaron a sintetizar los 16 primers, seleccionando los tamaños y marcas fluorescentes de manera que permitieran la detección simultánea por electroforesis capilar. Las secuencias de los primers y sus marcas fluorescentes son listados en la Tabla 1. Se realizaron las pruebas de cada par de primers en reacciones de PCR individuales con muestras de ADN de referencia. Una vez que se determinó el funcionamiento de cada reacción de PCR, se combinaron en una reacción de PCR multiplex adecuando la composición de primers en la mezcla. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 12,5ul conteniendo 1x Multiplex Master Mix Qiagen, 0,4 uM de cada primer, excepto para D2S123 y D17S250 que requirieron 0,8 uM y 1 ul de ADN a 1ng/ul. Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: desnaturalización 94°C por 5 minutos, 35 ciclos de 94°C 30 segundos, 55°C 30 segundos, 72°C 30 segundos y

extensión final de 72°C 7 minutos.

La corrida electroforética se realizó en un secuenciador ABI3130 AppliedBiosystems y los resultados se interpretaron mediante el empleo del software GeneMapper ID v.3.2. Se obtuvieron los perfiles genéticos de las muestras de sangre periférica o mucosa colónica sana y mucosa tumoral para cada paciente y se compararon entre sí para determinar el grado de MSI. Se considera MSI-High cuando más del 40% de los microsatélites analizados presentan corrimiento en el tamaño de los picos del electroferograma correspondiente a la muestra tumoral. Si todos los marcadores son idénticos en la muestra de referencia y la tumoral se informa MSS (microsatélites estables).

La información de cada paciente y sus resultados fueron registrados en una tabla Excel para su posterior análisis.

Tabla 1. Secuencias de los primers utilizados en este trabajo y los tamaños alélicos esperados.

Marcador	Primer forward (5' → 3')	Primer reverse (5' → 3')	Tamaño del alelo (pb)
D2S123	FAM- AAA CAG GAT GCC TGC CTT TA	GGA CTT TCC ACCTAT GGG AC	202-220
D5S346	FAM-ACT CAC TCT AGT GAT AAA TCG	AGC AGA TAA GAC AGT ATT ACT AGT T	102-125
D17S250	VIC- GGA AGA ATC AAA TAG ACA AT	GCT GGC CAT ATA TAT ATT TAA ACC	144-162
BAT-25	v VIC- TCG CCT CCA AGA ATG TAA GT	TCT GCA TTT TAA CTA TGG CTC	119-121
BAT-26	NED- TGA CTA CTT TTG ACT TCA GCC	AAC CAT TCA ACA TTT TTA ACC C	114-115
NR-21	TAA ATG TAT GTC TCC CCT GG	VIC- ATT CCT ACT CCG CAT TCA CA	98-99
NR-22	GAG GCT TGT CAA GGA CAT AA	FAM- AAT TCG GAT GCC ATC CAG TT	138-140
NR-24	CCA TTG CTG AAT TTT ACC TC	NED- ATT GTG CCA TTG CAT TCC AA	134-136

Fuente: Hedge M, Ferber M, Mao R, Samowitz W, Ganguly A. ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial, adenomatous polyposis, and MYH- associated polyposis). *Genetics in Medicine* 2014;16 (1): 101-116.

Resultados

Se estudiaron 33 pacientes de los cuales, 24 fueron estables en los 8 microsatélites estudiados y 9 (27%) tuvieron alta inestabilidad de microsatélites (MSI-High) (Tabla 2).

Tabla 2. Listado de pacientes con Inestabilidad de microsatélites (MSI-H) analizados en el presente trabajo y marcadores detectados con inestabilidad.

Paciente	IHQ	MSI	Marcadores Inestables
1	4 proteínas presentes	MSI-H 7/8	BAT-26, BAT-25, NR-21, NR-22, NR-24, D2S123, D17S250
2	MLH1(-/+), PMS2(-/+)	MSI-H 6/8	BAT-26, BAT-25, NR-21, NR-22, NR-24, D2S123
3	4 proteínas presentes	MSI-H 2/5	BAT-26, BAT-25 (D2S123, D17S250, NR-22 no detectados por la calidad de la muestra)
4	MSH2 (-/+), MSH6 (-/+)	MSI-H 4/8	BAT-26, BAT-25, NR-21, D2S123
5	No realizado	MSI-H 3/8	BAT-26, BAT-25, NR-24
6	PMS2 (-/+)	MSI-H 4/8	NR21, D2S123, D5S346, D17S250
7	Pendiente	MSI-H 5/8	BAT-26, BAT-25, NR24, NR21, D5S346
8	Pendiente	MSI-H 8/8	BAT-25, BAT-26, NR21, NR24, NR-22, D2S123, D5S346, D17S250
9	PMS2 (-/+)	MSI-H 5/8	BAT-25, BAT-26, NR21, D2S123, D17S250

Fuente: Resultados obtenidos en el Laboratorio de Análisis de ADN- Facultad de Ciencias Médicas- UNCuyo. Período: 2015-2016.

Del total de pacientes con MSI-H, un paciente presentó 3/8 marcadores inestables, dos pacientes tuvieron 4/8 marcadores inestables, dos pacientes 5/8 microsatélites inestables y tres pacientes, presentaron 6/8, 7/8 y 8/8 microsatélites inestables respectivamente. En un paciente, debido a la mala calidad de muestra, sólo fue posible amplificar cinco marcadores, resultando, dos de ellos inestables.

Teniendo en cuenta los resultados de Inmunohistoquímica y MSI, todos los pacientes analizados con ambas técnicas mostraron correlación en los resultados: 9/9 (100%) pacientes con resultado MSS (microsatélites estables) presentaron expresión conservada de las proteínas de reparación y 4/6 (67%) pacientes con MSI-H presentaron alteración en la expresión de algunas de las cuatro proteínas reparadoras del ADN (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)

De los nueve pacientes con MSI-H, sólo tres casos tenían antecedentes familiares de

tumores asociados a Síndrome de Lynch (cáncer de colon y ovario). Uno de estos casos tenía una mutación identificada en MLH1 en un familiar de primer grado.

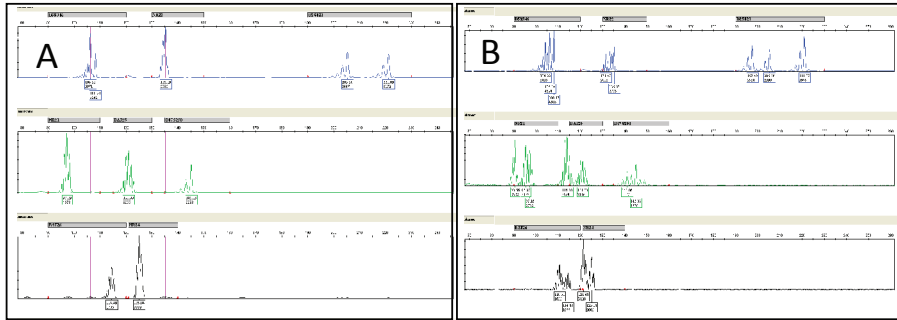
Cuando se evaluó cada marcador para la presencia de Inestabilidad se detectó que los marcadores más sensibles fueron BAT-25 y BAT-26 con 8/9 (88,9%) resultados positivos, le siguen NR-21 con 7/8, D2S123 con 6/8, NR-24 con 5/8, D17S250 con 5/8 y D5S346 con 4/8. El marcador NR-22 resultó el menos sensible en la detección de inestabilidad con solo 3/9 (37,5%) pacientes donde se lo encontró inestable. (Tabla 3). Cabe remarcar que en todos los casos se detectaron tres o más microsatélites inestables confirmando el resultado de alta inestabilidad de microsatélites (MSI-High). Figura 2.

Tabla 3. Listado de microsatélites inestables detectados en el presente trabajo y porcentaje de positividad de cada marcador

Paciente	IHQ	BAT-26	NR-21	NR-24	NR-22	D2S123	D5S346	D17S250	
1									7/8
2									6/8
3					n/d	n/d		n/d	2/5
4									4/8
5									3/8
6									4/8
7									5/8
8									8/8
9									5/8
Inestabilidad por marcador	8	8	7	5	3	5	4	4	
% Positividad	88,9%	88,9%	77,8%	55,6%	37,5%	62,5%	44,4%	50,0%	

Fuente: Resultados obtenidos en el Laboratorio de Análisis de ADN- Facultad de Ciencias Médicas- UNCuyo. Período: 2015-2016.

Figura 2. Electroferogramas obtenidos a partir de la PCR multiplex con los 8 microsatélites evaluados corridos en el secuenciador automático ABI3130. A. Muestra de mucosa sana. B. Muestra de mucosa tumoral perteneciente al mismo paciente con inestabilidad en los ocho marcadores (MSI-H).



Fuente: Resultados obtenidos en el Laboratorio de Análisis de ADN- Facultad de Ciencias Médicas- UNCuyo año 2016.

Comentarios finales

En el presente trabajo se planteó el desarrollo de una PCR multiplex con detección por electroforesis capilar para Inestabilidad de microsatélites. Para ello se eligieron los 5 marcadores seleccionados por el Consenso de Bethesda (D2S123, D5S346, D17S250, BAT-25 y BAT-26), junto a otros tres microsatélites: NR-21, NR-22 y NR24. Estos tres últimos, junto a BAT-25 y BAT-26, son marcadores mononucleotídicos y cuasimonómorficos que han probado ser altamente sensibles y, en algunas etnias, se demostró que al ser monómorficos puede prescindirse de la comparación con la muestra de referencia (sangre o mucosa sana).

Luego de la puesta a punto de la reacción multiplex con el análisis de muestras controles de ADN para evaluar el comportamiento de la técnica, fue posible analizar muestras de referencia y tumorales de 33 pacientes con diagnóstico de cáncer de colon. En todos los casos, los resultados fueron comparables a los hallados previamente con el reactivo comercial MSI Analysis System v.1.2 Promega Corp. Además, se debe destacar que la reacción desarrollada demostró una mayor sensibilidad que el reactivo comercial en los casos de muestras complejas o escasas, como las obtenidas a partir de tejidos fijados e incluidos en parafina. Esto se debe a la composición de la mezcla de reacción y la Taq polimerasa utilizada en la PCR.

Se observó una buena correlación entre inmunohistoquímica y MSI, primeros eslabones en el algoritmo diagnóstico de CCHNP. En todos los casos que, por inmunohistoquí-

mica, se observaron las cuatro proteínas correspondientes a las enzimas de reparación del ADN (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) los pacientes fueron estables en todos los microsatélites evaluados. Mientras que los casos con ausencia de algunas de las proteínas, resultaron MSI-H. En dos casos se obtuvo MSI-H con las cuatro proteínas presentes, hecho que puede estar relacionado a defectos en MSH6 o a mutaciones missense que afectan la función de la proteína pero que igualmente puede ser detectada por inmunohistoquímica.

Utilizando los resultados de los pacientes con MSI-H, se determinó la sensibilidad de cada marcador para detectar Inestabilidad. Los marcadores BAT-25 y BAT-26 fueron los más sensibles, mientras que NR-22 resultó el sistema menos sensible en el grupo de pacientes analizados, resultados que están en línea con los detectados por otros investigadores.

La determinación de MSI es un estudio que debe realizarse de rutina en los pacientes afectados de cáncer colorrectal como prueba de screening para Síndrome de Lynch o Cáncer Colorrectal Hereditario no polipósico (CCHNP). La metodología desarrollada en este trabajo representa una técnica innovadora, altamente sensible y específica para la detección de MSI y podrá ser aplicada a bajos costos debido a que no será necesaria la compra de un reactivo comercial importado. Esto aumentará las posibilidades de que un mayor número de pacientes pueda acceder a este estudio.

Bibliografía

1. Boland R y Goel A. (2010) Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. Vol 138(6);2073-2087. e3.
2. Piñol V, Castells A, Andreu M, Castellvi-Bel S, Alenda C, Llor X, Xicola R, Rodríguez-Moranta F, Payá A y Jover R, Bessa X. (2005) Accuracy of Revised Bethesda Guidelines, Microsatellite Instability, and Immunohistochemistry for the Identification of Patients With Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. *JAMA*, Vol 293(16);1986-1994.
3. Umar A, Boland CR, Terdiman JP et al. (2004) Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. *J Natl Cancer*. Vol 96; 261-68.
4. Boland CR, Thibodeau SN y Hamilton SR et al. (1998) A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for Cancer Detection and Familial Predisposition: Development of International Criteria for the Determination of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Cancer Research*. Vol 58;5248-5257.
5. Drobinskaya I, Gabbert H, Moellein G y Mueller W. A (2005) New Method for Optimizing Multiplex DNA Microsatellite Analysis in Low Quality Archival Specimens. *Anticancer Research* vol25; 3251-3258.

EVALUACIÓN DE LA INGESTA DIETARIA DE MADRES EN PERÍODO DE LACTANCIA Y LA COMPOSICIÓN DE SU LECHE DONADA AL SERVICIO BANCO DE LECHE HUMANA DEL HOSPITAL LAGOMAGGIORE

Equipo: Luis Argés; Jéssica L. Díaz; Paula Denise Sosa; Florencia Gómez; Natalia R. Lombardo; Estela Dos Santos

Instituciones: Hospital Lagomaggiore; Universidad J.A. Maza; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: luisarges@hotmail.com

Introducción

La evidencia científica de las últimas décadas muestra los beneficios de la leche humana en la alimentación de los bebés recién nacidos normales de término, los prematuros (RNPT) y de muy bajo peso al nacer (de alto riesgo), lo que influye en los resultados de salud, no sólo a corto plazo, sino también a largo plazo en el desarrollo neurológico, metabólico y en el crecimiento. La leche de la propia madre es la primera opción para todos los recién nacidos, incluidos los prematuros y todos los recién nacidos de alto riesgo internados; cuando no está disponible o es escasa, la leche de donante pasteurizada en un Banco de Leche Humana (BLH), ofrece una alternativa similar, segura y es considerada la segunda mejor opción. Los ácidos grasos esenciales, proteínas, inmunoglobulinas, vitaminas, minerales y antioxidantes de la Leche Humana (LH) intervienen directamente en la nutrición, crecimiento, desarrollo y morbimortalidad neonatal. Esto puede verse modificado por factores maternos y por los procesos térmicos que se aplican a la Leche Humana. Dentro de los primeros se destacan el estado nutricional y la alimentación de madre. En los segundos, el proceso de refrigeración, congelación y de pasteurización que se realizan en los BLH a la leche donada para que pueda ser administrada a los recién nacidos internados en Neonatología, que no afectaría la calidad inmunológica y nutricional global de la misma, pero sí de determinados nutrientes.

Durante el último trimestre del embarazo se produce la mayor acreción fetal de Ácido Docosahexanoico (DHA), alcanzando aproximadamente 50–60 mg de DHA /kg/día. El AA y el DHA aumentan casi 30 veces en la zona frontal del cerebro humano durante la vida fetal y los primeros 6 meses de vida posnatal. La ingesta materna elevada de DHA durante la gestación puede ser directamente responsable de importantes beneficios para el desarrollo psicomotor y cognitivo, teniendo en cuenta principalmente que a las 40 semanas de edad gestacional alrededor de una cuarta parte de DHA se encuentra en tejido cerebral (26%). La ingesta de proteínas desempeña un papel importante en la acumulación de masa libre de grasa, la neurogénesis y la diferenciación neuronal y la LH aporta una proteína homóloga y adaptada a las necesidades de cada RN.

El objetivo del trabajo es determinar la influencia de la ingesta dietaria de madres en período de lactancia sobre la composición su leche donada al Servicio Banco de Leche Humana.

Método

Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal, descriptivo.

Las madres donantes se extrajeron leche humana por medio de un sacaleche manual o bomba eléctrica, en la sala de extracción del banco de leche humana, especialmente diseñada y acondicionada para este procedimiento. Se tomaron tres muestras: una alícuota de 5 ml al momento de la extracción, otra luego de su congelación previo a ser pasteurizada, y una tercera después de su pasteurización. Esas muestras fueron procesadas en el INTI y la Universidad MAZA, manteniendo las condiciones apropiadas de la cadena de frío y transportadas en un vehículo especialmente alistado con el que cuenta el Servicio banco de leche humano para el transporte de la leche donada. Por otro lado, cada una de las madres que participó del estudio respondió un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos para conocer la ingesta diaria de nutrientes.

Población: Madres donantes de leche humana en el banco de leche humana del Hospital Lagomaggiore.

Muestra: Leche de todas las madres donantes que cumplieran los criterios de inclusión y que acepten participar del estudio.

Selección y tamaño de muestra: la muestra se realiza de forma intencional o no probabilística, por conveniencia. El tamaño será una muestra de 40 madres.

Selección de técnica e instrumento de recolección de datos:

Obtención de la muestra de leche de las donantes: las madres donantes realizaron la

extracción de su leche por medio de un sacaleche manual o bomba eléctrica. Se tomó una alícuota de 5 ml al momento de la extracción, otra luego de su congelación previo a ser pasteurizada, y una tercera después de su pasteurización.

Fuentes primarias:

1-Encuestas alimentarias: a las madres donantes se les aplicaron encuestas alimentarias que constaron de un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos. Los resultados se procesaron en una base de datos en el programa informático excel.

2- Análisis químicos de la leche humana: se determinó el perfil de ácidos grasos (saturados, monoin -saturados, poliinsaturados y trans) y vitaminas por cromatografía gaseosa, minerales a través de espectrofotometría de absorción atómica, y proteínas a través del método oficial de laboratorio (Método de Kyeldahl).

Análisis de datos: Una vez obtenidos todos los datos se relacionaron estadísticamente entre sí mediante el programa SPSS, a fin de poder contestar las diferentes hipótesis planteadas. Para cada variable de estudio se tomaron las medias y desvíos estándar. Se utilizaron medidas de tendencia central con IC del 95% y además se usó la correlación bivariada de Pearson y diferencia de medias con T de Student para muestras independientes.

Consideraciones Éticas de la Investigación: Se utilizó el registro “Aceptación de Medidas de Seguridad para Convertirse y Mantenerse como Donante Apta del banco de leche humana. Consentimiento Informado” que se aplica en forma sistemática a las madres donantes del Banco de Leche Humana del Hospital Lagomaggiore, donde en el punto N° 7 cada donante otorga su autorización para que su leche donada además de que ‘sea empleada en la alimentación de los bebés prematuros o de alto riesgo que se encuentran hospitalizados en el Servicio de Neonatología del Hospital Lagomaggiore o para un paciente similar que se encuentre hospitalizado en otra institución’, también pueda ser destinada a actividades de investigación científica, una vez cumplida dicha premisa. (Punto N° 4)

Resultado

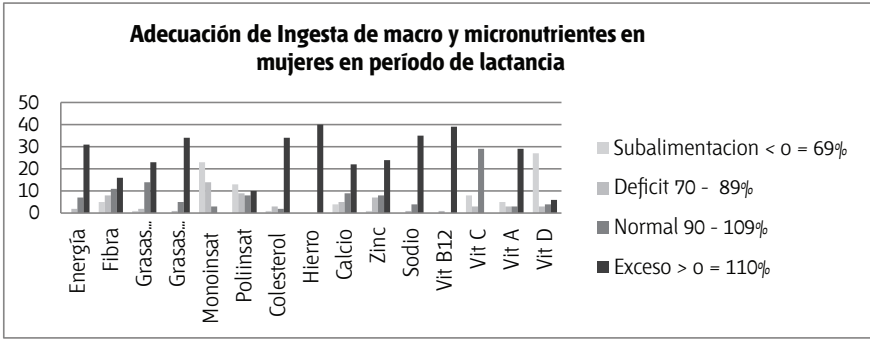
Respecto a la ingesta materna: se incluyeron 40 mujeres en período de lactancia, donantes del Banco de Leche Humana. El consumo energético fue de $3096,63 \pm 604,16$ cal/d, donde el 77,5% (IC95% 64,6-90,4) presentó un consumo excesivo de energía. El 57,5% (IC 95% 42,2-72,8) presentó una ingesta excesiva de grasas totales y el 85% (IC 95% 73,9-96,1) presentó exceso de grasas saturadas. El 85% (IC95% 73,9-96,1) superó el con-

sumo recomendado de colesterol. El 55% (IC95% 37-68) presentó una adecuación baja a la ingesta de AGPI y el 92,5% (IC95% 79,4-98,1) de ácidos grasos monoinsaturados. La media de consumo de sodio fue 2440,13 \pm 672,95mg/día, donde se evidencia que el 87,5% (IC95% 77,3-97,7) supera ampliamente las recomendaciones para esta población (Tabla 1 y Gráfico 1). Mediante la aplicación de correlación bivariada de Pearson se encontró correlación estadísticamente significativa entre el consumo de grasas totales y el consumo de grasas saturadas ($R=0,808$, $p=0,01$) y entre el consumo de energía y el de grasas totales ($R=0,829$, $p=0,01$) (Gráficos 2 y 3). El mayor déficit de micronutrientes se manifestó en el consumo de vitamina D, donde el 75% (IC95% 59,6-86) no alcanzó a cubrir las recomendaciones diarias.

TABLA 1. VARIABLES EN ALIMENTACIÓN MATERNA

Nutriente	Media +- DE	DE
Calcio (mg)	1294,85	572,30
Carotenoides (mg)	4332,75	2255,71
Colesterol (mg)	507,73	198,26
Energía (kcal)	3096,63	604,16
Fibra (g)	25,30	6,89
Grasas Totales (g)	138,13	34,23
Hidratos de Carbono(g)	326,90	75,67
Hierro (mg)	25,90	9,66
AG Monoinsaturados (mg)	47,85	12,31
AG Poliinsaturados (mg)	33,58	14,02
Proteínas (g)	119,80	33,77
Grasas Saturadas (g)	48,30	14,22
Sodio (mg)	2440,13	672,95
Vitamina A (ug)	4573,53	5100,65
Vitamina B12 (ug)	18,33	18,33
Vitamina C (mg)	147,25	68,55
Vitamina D (ug)	3,60	2,36
Vitamina E (mg)	8,12	2,45
Zinc (mg)	15,32	5,02

Fuente: Datos propios. Encuesta alimentaria de madres donantes, BLH, HLL, 2015



Fuente: Datos propios. Encuesta alimentaria de madres donantes, BLH, HLL, 2015

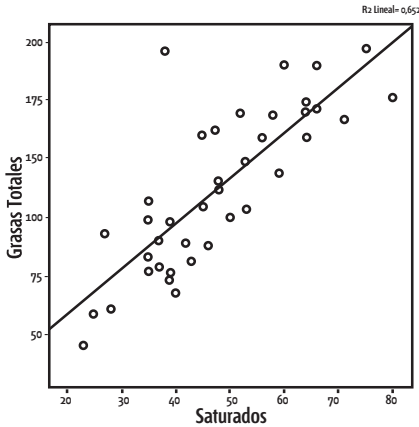


Gráfico 2. Correlación estadísticamente significativa entre consumo de grasas totales y consumo de grasas saturadas ($R=0,808$, $p=0,01$). Fuente: Datos propios. Encuesta alimentaria, BLH, HLL, 2015

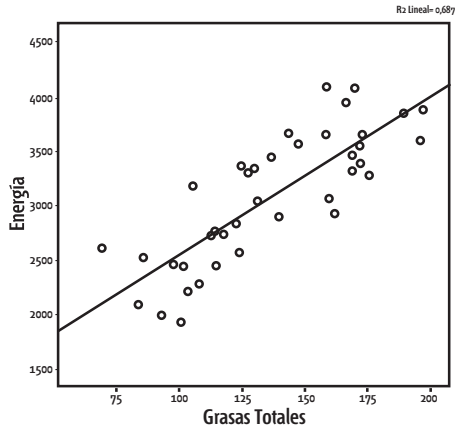


Gráfico 3. Correlación estadísticamente significativa entre el consumo de energía y el de grasas totales ($R=0,829$, $p=0,01$). Fuente: Datos propios. Encuesta alimentaria, BLH, HLL, 2015

Respecto a la composición de la leche humana: Se analizaron 35 muestras de leche humana de madres donantes del Banco de Leche Humana. Las características de la leche materna se muestran en la tabla 2; los gramos de grasa de leche humana tuvieron como promedio un $3,03 \pm 1,1g$, y la grasa de leche materna es mayoritariamente saturada (42,4%). Los ácidos grasos que se presentan en mayor proporción, son el ácido oleico (33,7%), ácido palmítico (20,7%), ácido linoleico (14,4%) y ácido esteárico (8%), por el contrario el DHA y EPA muestran una baja concentración (0,05% y 0,02% respectivamente). La relación DHA/EPA fue de 2,5. Los ácidos grasos trans de origen industrial correspondieron al 1,3% del total de ácidos grasos, siendo los principales los trans del ácido oleico (0,9%). El contenido medio de proteínas en la leche humana fue de 1,42

$\pm 0,55$ g/dl. La correlación estadística en la ingesta dietaria de ácidos grasos y proteínas con su presencia en la leche humana no fue significativa.

TABLA 2. COMPOSICIÓN DE LA LH		
Cromatografía de ácidos grasos; % ésteres metílicos	Media +- DE	DE
Araquídico	0,23	0,12
Behénico	0,05	0,13
DHA	0,05	0,10
EPA	0,02	0,03
Estearico	8,04	1,18
Heptadecanoico	0,51	0,09
Láurico	5,25	2,35
Linoleico	14,42	2,55
Linolénico	0,50	0,19
Mirístico	6,70	1,99
Oleico	33,64	3,04
Palmítico	20,75	2,23
Palmitoleico	2,39	0,49
Nutriente (g/100ml)	Media +- DE	DE
Proteína	1,42	0,55
Determinación de Isómeros trans;	Media +- DE	DE
g% sobre ácidos grasos totales		
Translinoleicos y translinolénicos	1,42	0,38
Transoleicos	0,91	0,54

Fuente: Datos propios. Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa y proteínas por método Kjeldhal (INTI, 2015)

Comentarios finales

El presente trabajo se desarrolló en un ámbito relativamente novedoso en el país: un Banco de Leche Humana, uno de los 5 existentes en el país pero que, además,

desarrolla una actividad integral más allá de las misiones asignadas a estos nuevos emprendimientos, que son: 1. Fomentar, difundir y capacitar en lactancia materna y 2. Manipular adecuadamente hasta pasteurizar la leche humana donada solidariamente para que pueda ser administrada de manera segura a los recién nacidos de alto riesgo, internados en los servicios de Neonatología.

El Banco de Leche Humana (BLH) del Hospital Lagomaggiore también es responsable de fraccionar diariamente la leche humana cruda y donada pasteurizada, después de consensuar la prescripción médico-nutricional con los profesionales de Neonatología para distribuirla después a cada paciente internado. Y además, es el centro estratégico de la Red de Leche Humana, en la entrega de leche pasteurizada congelada a otras unidades de internación neonatal o de bebés de alto riesgo como cardiópatas o postquirúrgicos de la provincia.

Este trabajo es uno de los pocos realizados en la Argentina que han relacionado la ingesta de las madres que se encuentran en período de lactancia y las características de la leche que producen, tanto fresca o 'cruda' como la donada y pasteurizada en el BLH. En la bibliografía consultada, la evidencia científica, se ocupa del tema atendiendo las inquietudes y preocupaciones, pero no lo hace vinculando estas dos alternativas, que para nuestro equipo interdisciplinario, constituye una actividad cotidiana.

Algunos de los datos relevantes observados en nuestro estudio, como la excesiva cantidad de energía calórica consumida, el excesivo consumo de grasas saturadas y trans, el excesivo consumo de sal y de colesterol en la dieta habitual de las madres donantes, eran expectativas posibles de hallar, dadas las características de las dietas habituales y cotidianas en nuestro medio, tanto el local como el de nuestro país. Esta situación, además está decir, es muy preocupante por el riesgo cardiovascular que conlleva para la salud.

Sin embargo, no se pudo evidenciar, en laboratorio, un incremento del DHA en la Leche Humana con el objetivo de mejorar la transferencia del ácido esencial a los bebés que la reciben, a pesar de la dieta especialmente realizada con huevos enriquecidos con DHA en un grupo de madres donantes durante dos semanas, comparado con las madres a las que siguieron con la dieta habitual, evidenciada a través de las encuestas de alimentación. Estimamos que el número reducido de muestras, quizás, haya atentado para obtener datos objetivos. Aunque también se deberá tener en cuenta la posibilidad de que podría haber habido una menor cantidad del ácido esencial en cada huevo que lo que se había estimado, o el tiempo de consumo de 15 días podría haber resultado escaso. También es necesario considerar, a pesar de la capacidad e idoneidad de los investigadores, que se posee poca experiencia en la manipulación de las muestras de

leche humana.

Un dato interesante de destacar, es el promedio incrementado de proteínas en gramos por decilitro en la leche de las madres donante, que expresan las características de la leche de nuestra especie en el momento de extracción (calostro, primera semana en cuanto a las madres donantes de bebés de término) y las primeras tres semanas ('tipo calostrál') de la leche que se extrajeron las madres de recién nacidos de pretérmino, a las que la naturaleza dotó con un mejor tenor de proteínas como 'compensación biológica' al nacimiento prematuro de riesgo.

Es importante aclarar aquí que en los dos últimos objetivos específicos propuestos (verificar las modificaciones cuantitativas y cualitativas de la leche humana después del tratamiento por congelación y pasteurización y determinar el contenido proteico de la leche humana luego del proceso de pasteurización) sólo se poseen datos muy importantes pero por ahora los consideramos parciales y por ello se decidió no presentarlos; es necesario más tiempo de observación para poder mostrar resultados apropiados y abordados estadísticamente.

Las respuestas que se obtengan de las investigaciones mencionadas específicamente más arriba, serán de enorme utilidad para la actividad y resultados de todos los Bancos de Leche Humana, puesto que hasta la actualidad, todos los procedimientos que se realizan para manipular la leche humana adecuadamente y proporcionar una leche donada pasteurizada y segura a los bebés más vulnerables, son los que actualmente se siguen en todo el mundo: estricto mantenimiento de la cadena de frío y pasteurización con el método Holder.

Bibliografía

1. Meyer WH, et al. (2004) Soft tissue sarcomas of childhood. *Cancer Treatment Reviews* Vol 30: 269-280
2. Parham DM, et al. (2013) Classification of rhabdomyosarcoma and its molecular basis. *Advances in anatomic Pathology* Vol. 20 (6); 387-397.
3. Malempati S, et al. (2012) Rhabdomyosarcoma: Review of the Children's Oncology Group (COG) Soft-Tissue Sarcoma Committee Experience and Rationale for Current COG Studies. *Pediatric Blood Cancer* Vol. 59 (1);5-10.
4. Williamson D, et al. (2010) Fusion Gene-Negative alveolar Rhabdomyosarcoma is clinically and molecularly indistinguishable from embryonal Rhabdomyosarcoma. *Journal of Clinical Oncology* Vol 28 (13);2151-2158.
5. Stegmaier et al. (2011) Prognostic value of PAX-FKHR fusion status in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the cooperative soft tissue sarcoma study group (CWS). *Pediatric Blood Cancer* Vol. 57 (3);406-414.

MARCADORES MOLECULARES EN RABDOMIOSARCOMA PEDIÁTRICO: DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR A LA APLICACIÓN CLÍNICA

Equipo: M. Clara Pot Godoy; Myriam Laconi; Renzo Lo Presti; Gonzalo Nalda; María E. Sarabia; Edith Casas

Instituciones: Hospital Notti; Universidad de Mendoza; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: cpottgodoy@gmail.com

Introducción

El rhabdomiosarcoma (RMS) es el sarcoma de partes blandas más común en la infancia (1,2). Es un tumor maligno de origen músculo-esquelético. Los dos subtipos histológicos principales son: Embrionario (RMSe) y Alveolar (RMSa) (13). Factores clínicos como la edad, el sitio de localización primario, tamaño del tumor, compromiso ganglionar, presencia de metástasis, entre otros, son utilizados para estratificar a los pacientes con el fin de alcanzar la mayor sobrevida global con la menor toxicidad para los mismos (1,2,3).

Para el RMSa se han descrito las translocaciones cromosómicas (intercambio de fragmentos de ADN entre dos cromosomas que pueden dar lugar a fusiones entre dos genes) entre los genes PAX3 o PAX 7 y FOXO1 en aproximadamente el 80% de los casos. La proteína de fusión generada conserva el sitio de unión al ADN de PAX, lo que le permite comportarse como un activador de transcripción muy potente y regular el crecimiento, proliferación, apoptosis y diferenciación celular. Por otro lado, no se han descrito hasta el momento translocaciones específicas para el RMSe (4-7,14-16).

Está ampliamente aceptado que el subtipo embrionario tiene mejor pronóstico que el alveolar, por eso la importancia de su correcta identificación. Diversos estudios han evaluado la asociación entre la presencia de la translocación cromosómica con un fenotipo más agresivo aunque el valor pronóstico del gen de fusión PAX/FOXO1 es aún controversial (6). En un estudio de los casos del Intergroup Rhabdomyosarcoma Study

Group (IRSG), el resultado en pacientes con rhabdomyosarcoma alveolar con translocación negativa fue mejor que los observados en los casos con traslocaciones positivas y similar a los vistos en pacientes con rhabdomyosarcoma embrionario, indicando que la presencia del gen de fusión es un factor crítico para la estratificación de riesgo en el rhabdomyosarcoma pediátrico (4, 14,16). Sin embargo, un estudio alemán no encontró diferencia significativa alguna en cuanto a la sobrevida libre de eventos a 5 años entre los pacientes que eran positivos para PAX/FOXO1 en comparación con aquellos negativos para la translocación (5).

Por otro lado, en la dos últimas décadas se han hecho avances muy importantes en el entendimiento de la apoptosis en diferentes cánceres humanos así como también se han desarrollado diversas estrategias con fines terapéuticos teniendo como blanco la apoptosis. Estas estrategias buscan inducir la apoptosis estimulando la vía proapoptótica directamente, o inhibiendo las moléculas antiapoptóticas (18). Un estudio reciente ha observado un aumento en la expresión de la proteína proapoptótica NOXA en los RMSa (17). Dicho estudio se realizó en varias líneas celulares en cultivo observándose un incremento tanto de NOXA a nivel de mensajero como de la proteína. Este aumento de NOXA implicaría una sensibilización de las células de los RMSa hacia la apoptosis bajo la acción de drogas proapoptóticas. Marshall y col. observaron un aumento significativo de las caspasas (proteasas esenciales en el proceso de apoptosis) efectoras (caspasa 3 y 7) luego del tratamiento con drogas que inducen la apoptosis comparado con los controles (17). Por lo tanto, este aumento en la expresión de NOXA abriría una ventana terapéutica para la inducción de apoptosis en los RMSa de comprobarse los mismos hallazgos en el tejido tumoral.

El Servicio de Oncología del Hospital Pediátrico "Dr. Humberto J. Notti", Centro Regional de Referencia del Oeste Argentino, registra alrededor de 65 nuevos pacientes por año de los cuales un 10% corresponde a Rhabdomyosarcoma (12).

El objetivo general de este estudio fue estudiar la asociación entre la presencia de los marcadores moleculares (PAX3/FOXO1 y PAX7/FOXO1) y caspasa efectora 3 con la estratificación de riesgo y respuesta al tratamiento en pacientes pediátricos con RMS.

Método

Se realizó un estudio prospectivo de pacientes menores de 15 años afectados de RMS, en todos los estadios, que fueron diagnosticados y tratados en el Hospital Pediátrico "Dr. Humberto J. Notti" desde Junio 2015 hasta Julio 2016. Todos los pacientes fueron tratados según los protocolos terapéuticos vigentes en el Servicio de Oncología del Hospital Notti, y corresponden a su vez a protocolos de la EpSSG (European paediatric-

Softtissue sarcoma StudyGroup).

Muestras tumorales: Un fragmento del tejido fue analizado microscópicamente y reservado para posterior detección de caspasa 3. Otro fragmento fue congelado en nitrógeno líquido (-195,8°C) y luego resuspendido en Trizol para la obtención de RNA. Se obtendrá ADNC a partir de 1 µg de ARN según protocolos estandarizados, utilizando M-MLV como transcriptasa reversa y la presencia de hexámeros al azar, en un volumen final de 20 ul. Alícuotas de cDNA sintetizado fueron amplificadas utilizando primers consenso PAX3/7 que discriminan transcriptos RMSa de otros tumores no RMSa, pero no distinguen entre los dos tipos de fusiones (PAX3 ó PAX7). Además se utilizaron cebadores para amplificar un gen control ABL, de expresión ubicua, que permite controlar la integridad del RNA y la eficiencia de la RT-PCR. En caso de identificarse alguno de los transcriptos (PAX 3 o PAX7), se procedió a realizar una PCR con cebadores específicos para cada gen de fusión (PAX3-FOXO1 y PAX7-FOXO1). Los productos de PCR obtenidos fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio. Los mismos fueron visualizados bajo luz UV en el documentador de geles BioDoc-it de UVP

Inmunohistoquímica para caspasa 3: Se realizaron cortes histológicos de 3-4 µm y se los colocó en portaobjetos con carga positiva o xilanizados. Se los dejó secar en estufa a 58°- 60° durante 1 hora. Luego se procedió a desparafinar e hidratar los cortes con concentraciones decrecientes de alcohol. Posteriormente se comenzó con la recuperación antigénica (desenmascaramiento de antígenos nucleares). Para esto, se colocó los portaobjetos en buffer citrato 0,01M a pH 6 y se los colocó en baño de agua hirviendo por 45 minutos. Posteriormente se procedió a bloquear las peroxididas endógenas con una solución de peróxido de hidrógeno y azida sódica. Luego se procedió a bloquear los sitios inespecíficos con una solución de albúmina bovina durante 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se incubó con el anticuerpo primario anti caspasa 3, se lo dejó en incubación a 4°C durante toda la noche, luego se enjuagó y se incubó durante 2 horas con el anticuerpo secundario. Previamente a la aplicación del sistema de detección (LSAB/Polímero), se enjuagó y se bloqueó con avidina. Se reveló con diaminobencidina (DAB). Finalmente se contrastó con hematoxilina y se montó con bálsamo.

Cuantificación de las células caspasa 3 positivas: Se analizaron las IHQ de los diferentes cortes histológicos y se obtuvo un índice que se calculó de la siguiente manera.

Índice de positividad para caspasa 3 = N° de células positivas x 100 / Total de Células

Consideraciones éticas: Se solicitó la firma de los consentimientos informados a los padres de los pacientes enrolados en este estudio.

Las muestras utilizadas fueron sólo las indicadas en protocolos para el diagnóstico, estadificación y tratamiento de los pacientes.

Características clínicas de los pacientes:

Los pacientes evaluados fueron cuatro (4), tres (3) de sexo masculino y uno femenino, con edades comprendidas entre 4 y 8 años (media 6,5 años). Tres pacientes tenían tumores clasificados en estadio III y un solo paciente en estadio IV. Histológicamente 3 pacientes tenían RMSe mientras que un paciente presentó RMSa.

Los sitios de localización fueron la región parotídea, el antebrazo derecho, la zona paratesticular y el miembro inferior izquierdo.

RIESGO	ESTADIO	GRUPO	LOCALIZACIÓN	TIPO HISTOLÓGICO	TRATAMIENTO	EDAD
Alto	III	G	Región Parotídea	Embriionario	EPSS RMS 2005	7 a
Alto	III	G	Antebrazo der	Alveolar	EPSS RMS 2005	8 a
Alto	IV	G	Miembro Inferior Izq	Embriionario	EPSS RMS 2005	4 a
Bajo	III	A	Paratesticular	Embriionario	EPSS RMS 2005	7 a

Tabla I. Características clínico-patológicas de los pacientes

Caspasa 3 Activada: La inmunohistoquímica contra caspasa 3 mostró ausencia de marcación en todos los cortes histológicos analizados. Se observó ausencia de expresión de caspasa 3 activada en la contratinción con hematoxilina – eosina (Foto 1 A y B).

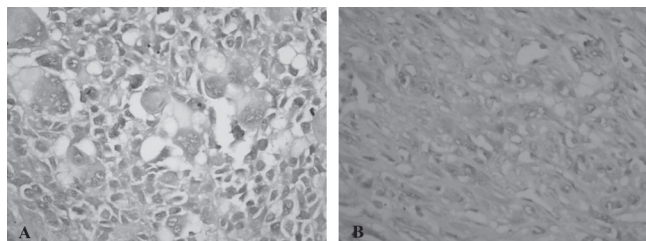


Foto1 AyB. Fotos representat de inmunohistoquímica cont caspasa 3 activada en los cor pertenecientes a los fragmen tumorales analizados. Obsérv la ausencia de marca para la caspasa 3. Contratinción hematoxilinaeosina. Magnificación: 40x.

Se utilizaron cortes de ovario como control positivo de activación de caspasa 3 (Foto 2). Se evidenció la presencia de señal citoplasmática en las células provenientes de tejido ovárico.

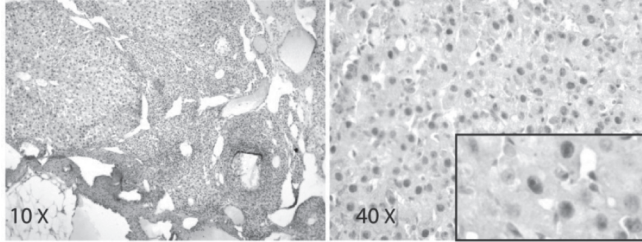


Foto 2. Fotos representativas una inmunohistoquímica cor caspasa 3 en cortes de ovaric aprecia la presencia de expre de caspasa 3 en el citoplasm. las células.
Magnificación: 10x y 40x.

De lo mencionado anteriormente, se puede inferir que no habría activación de la vía proapoptótica en los tumores de los pacientes con RMS.

Detección de los transcritos de fusión PAX3 – FOXO1 y PAX7-FOXO1: Se analizaron las muestras tumorales de los RMS, mediante RT-PCR, con el fin de determinar la presencia de los transcritos de fusión en las muestras provenientes de los pacientes.

En la figura siguiente se muestra el resultado de la amplificación de dos líneas celulares que expresan los transcritos de fusión mencionados anteriormente.

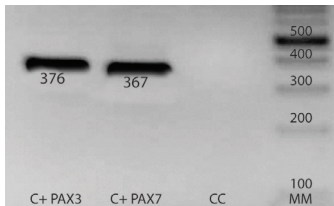


Foto representativa de una corrida electroforética en gel de agarosa al 3%

Se muestran los productos de PCR obtenidos luego de la amplificación con cebadores consenso para PAX3 y PAX7.

- Calle 1: Control Positivo para PAX3
- Calle 2: Control Positivo para PAX7
- Calle 3: Control de Contaminación
- Calle 4: Marcador de Peso Molecular

En caso de identificarse alguno de los transcritos (PAX 3 o PAX7), se procedió a realizar una PCR con cebadores específicos para cada gen de fusión (PAX3-FOXO1 y PAX7-FOXO1).

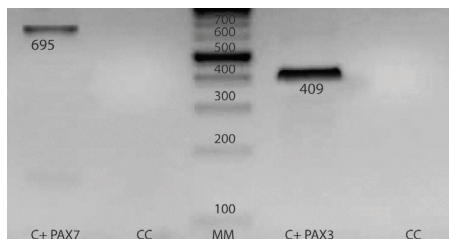


Foto representativa de una corrida electroforética en gel de agarosa al 3%.

Se muestran los productos de PCR obtenidos luego de la amplificación con cebadores específicos para PAX3 y PAX7.

Calle 1: Control Positivo para PAX7

Calle 2: Control de Contaminación

Calle 3: Marcador de Peso Molecular

Calle 4: Control Positivo para PAX3

Calle 5: Control de Contaminación

De las cuatro muestras de RMS, una muestra resultó positiva para el transcrito de fusión PAX7. Este paciente presentó un RMS alveolar con localización en el antebrazo derecho. El resto de los pacientes no presentó ningún transcrito de fusión coincidiendo con el tipo histológico del RMS hallado.

Hasta el momento no se realizó la detección de la Enfermedad Mínima Residual en el paciente con RMSa debido a que no ha finalizado los ciclos de quimioterapia previo a la punción de médula ósea.

Resultados

El conocimiento creciente en el campo de la Biología Molecular de los sarcomas pediátricos, acumulado principalmente durante las dos últimas décadas, ha abierto la posibilidad de incorporar en la medicina, técnicas de diagnóstico molecular basadas en evidencias biológicas de los tumores. En RMS, el descubrimiento de los productos de fusión específicos, ha posibilitado el diagnóstico molecular mediante RT-PCR. Así también, el creciente conocimiento sobre la biología de estas proteínas aberrantes y su significación clínica está aportando nuevos criterios diagnósticos para el RMS.

A diferencia de los estudios realizados en líneas celulares que han demostrado una sensibilización hacia la viaproapoptótica, en nuestros estudios no observamos activación de caspasa 3 en los cortes histológicos de las muestras tumorales. Estas diferencias pueden deberse a la imposibilidad de realizar el tratamiento antineoplásico de manera intratumoral o a la dosis utilizada en nuestros pacientes que es menor que aquella utilizada en los experimentos in vitro. El tratamiento sistémico requiere la administración de drogas dentro de márgenes terapéuticos establecidos debido a la gran toxicidad de los fármacos antineoplásicos. Mayor cantidad de estudios deberán realizarse in vitro e in vivo para ver el compromiso de la vía proapoptótica en los pacientes con RMS.

En resumen, el aporte de la biología molecular a los hallazgos clínicos, histológicos e imagenológicos; tanto al diagnóstico como durante el seguimiento cobra cada vez

más valor; permitiendo diagnósticos más certeros y estratificando a cada paciente de manera de brindar un pronóstico y tratamiento más individualizado.

Comentarios Finales

El conocimiento de la biología de los tumores ha permitido desarrollar herramientas que contribuyen a establecer con precisión el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y seguimiento de estos pacientes. La correcta utilización e interpretación de estas técnicas se ve beneficiada por la estrecha colaboración entre el plantel médico y el personal del laboratorio. Además, tanto el trabajo clínico como el diagnóstico molecular, se ven enriquecidos cuando ambos equipos, además de llevar a cabo su trabajo asistencial, generan conocimiento nuevo mediante proyectos de investigación. Así también, la ejecución de este proyecto, complementó el desarrollo sostenido del Laboratorio de Biología Molecular, potenciando estrategias de intervención tanto a nivel diagnóstico como de seguimiento y tratamiento.

Por lo expuesto anteriormente surge que, el fortalecimiento de los recursos diagnósticos en Oncopediatría en el Hospital Pediátrico "Dr. Humberto J. Notti", dado por la inclusión de diferentes técnicas complementarias de biología molecular, ha posibilitado el desarrollo de un programa de atención integral a los pacientes afectados de RMS.

Bibliografía

1. Meyer WH, et al.(2004) Soft tissue sarcomas of childhood. *Cancer Treatment Reviews* Vol 30; 269-280
2. Parham DM, et al.(2013) Classification of rhabdomyosarcoma and its molecular basis. *Advances in anatomic Pathology* Vol 20(6); 387-397.
3. Malempati S, et al. (2012) Rhabdomyosarcoma: Review of the Children's Oncology Group (COG) Soft-Tissue Sarcoma Committee Experience and Rationale for Current COG Studies. *Pediatric Blood Cancer* Vol. 59 (1);5-10.
4. Williamson D, et al (2010) Fusion Gene-Negative alveolar Rhabdomyosarcoma is clinically and molecularly indistinguishable from embryonal Rhabdomyosarcoma. *Journal of Clinical Oncology* Vol. 28 (13);2151-2158
5. Stegmaier et al.(2011) Prognostic value of PAX-FKHR fusion status in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the cooperative soft tissue sarcoma satudy group (CWS). *Pediatric Blood Cancer* Vol. 57 (3);406-414

EVALUACIÓN INTEGRAL DE LA MUERTE MATERNA EN MENDOZA 2003-2013: CAUSAS, CONTEXTOS E IMPLICANCIAS PARA LA POLÍTICA SANITARIA

Equipo: María Gabriela Torres; Jorgelina Álvarez; Nancy Barrera; Vanina Ruiz

Instituciones: Ministerio de Salud Mendoza; Universidad Juan A. Maza; Universidad de Mendoza

Contacto: gtorresneo@yahoo.com.ar

Introducción

La Muerte Materna (MM) es considerada uno de los indicadores clave para evaluar el nivel de equidad y desarrollo humano de una sociedad (ONU, 1999). Es un hecho poco frecuente pero de alto impacto en las políticas sanitarias, sociales de un país en vías de desarrollo como la Argentina. Tiene implicancias individuales como es la pérdida de una mujer joven y sana, sociales relacionadas a pérdida de la mujer – madre como activo social y aquellas que hacen al desarrollo temprano de los niños que sobreviven a la tragedia. Se estima que por cada mujer que muere por complicaciones relacionadas al embarazo, parto o puerperio hay entre 30 y 100 mujeres que sufrieron situaciones similares y no fallecieron, esto es llamado en la literatura “Near Miss” o Complicación Obstétrica Grave y representa un indicador de la calidad de los servicios de Obstetricia (CEDES, 2006).

La reducción de la MM es un compromiso internacional asumido en el Plan de Acción de la OPS-ONU-ODM 2015, y Mendoza debe sumar acciones en este sentido. La tendencia de la Razón de Mortalidad Materna (RMM) para el año 2015 en Argentina, es 3,3 veces superior a la meta comprometida. Esto justifica ampliamente el análisis de la temática en las provincias argentinas y particularmente en Mendoza, la que se encuentra por encima de la media nacional en materia de MM. (Speranzaycol, 2011)

En el contexto socio-sanitario del período de observación de este estudio, 2003 – 2013,

se han producido algunos cambios por ejemplo el nivel educativo alcanzado por las jóvenes mujeres, mientras otros cambios del ámbito socioeconómico, como la Asignación Universal por Hijo (AUH), alcanzan especialmente a la maternidad y sus contextos. (Ramos, Romero y col, 2014). La inter-sectorialidad de la salud ha sido justificada desde el año 2010, con un nuevo enfoque: el abordaje social, económico y político para alcanzar el mejor grado de salud posible, y la MM no debe permanecer ajena a tal proceso. (OSSyR, 2013). Es por ello que se utilizó como marco teórico conceptual para la evaluación de la muerte materna el modelo propuesto por UNICEF y MainemcCarthy que analizan las causas desde un enfoque con matices en la realidad social y sanitaria de la MM.

Objetivo: Describir y determinar patrones de mortalidad materna en la provincia de Mendoza durante el período 2003-2013, analizando sus causas y relaciones multifactoriales, con el propósito de ser utilizado como herramienta de planificación y de mejorar la salud materna mendocina. Identificar las intervenciones en salud materna en el período de observación y su impacto en el sistema de salud mendocino.

Método

Se trató de una investigación de tipo descriptiva de datos ecológicos y corte transversal, retrospectivo. El estudio incluyó la recolección de todas las muertes maternas ocurridas en la provincia de Mendoza durante el período 2003-2013 y los nacidos vivos de igual período, mediante el análisis de variables sociales, variables sanitarias y variables clínico-asistenciales. Se consideró MM a aquella ocurrida en mujeres durante el embarazo, el parto o hasta los 42 días de producido el nacimiento. Quedan excluidas aquellas defunciones con diagnósticos de MM por causas violentas (homicidios, suicidios y accidentes viales); y MM tardías (ocurridas después de 42 días de parto). Se elaboró una base de datos con la totalidad de MM de residentes en Mendoza ocurridas entre el 2003 y 2013. Para calcular la Razón de Mortalidad Materna (N° Muertes maternas/ N° Nacidos vivos en igual período) se utilizó el N° de nacidos vivos registrados. En el diseño de la base de datos se consultaron el Sistema Infosalud (Informe Estadístico de Defunción, de Hospitalización y de Nacidos Vivos) datos de la Dirección de Maternidad e Infancia y del Departamento de Bioestadística (Certificados de Defunción). Se definieron variables sociales, sanitarias y clínico-asistenciales:

1. Variables Sociales:

Incluyó lugar de residencia, se tomó la clasificación por Departamentos de Mendoza.

Nivel de instrucción de la madre (Alcanzó Educación Formal: que abarca el Nivel Se-

cundario Completo y niveles superiores. No alcanzó Educación Formal: aquellos casos sin instrucción y hasta el Nivel Secundario sin completar).

La variable situación laboral: trabaja o está de licencia (ocupada), no trabaja y busca trabajo (desocupada), no trabaja y no busca trabajo (inactiva).

La variable ocupación de la mujer al producirse la MM se consideró si trabaja o no trabaja. La variable edad de la madre fue agrupada en grupos etarios. La variable cobertura de salud solo se pudo obtener para las MM. No se dispone del dato acerca de la cobertura de salud de los nacidos vivos, por lo tanto no se construyó la RMM según cobertura.

1-VARIABLES Sanitarias, tales como Acceso a Servicios de Salud Sexual y Reproductiva; Controles de embarazo de las muertes maternas y Lugar de ocurrencia de la muerte materna que fue agrupada en establecimiento público, establecimiento privado, obra social, vivienda particular y otro lugar (vía pública, transporte)

2-VARIABLES clínico-asistenciales: Los diagnósticos se clasificaron según la recomendación de la CIE-10 (Solis, P. y Gerner, A., 2014) para Muerte Materna, que además es la Guía de la OMS para la aplicación a las muertes ocurridas durante el embarazo, parto y puerperio. Los diagnósticos fueron agrupados en:

Muerte materna directa: aborto, hemorragia obstétrica, infecciones/sepsia, trastornos hipertensivos, complicaciones imprevistas del manejo (dinámica del trabajo de parto) y otras complicaciones obstétricas.

Muerte materna indirecta: aquella muerte que ocurre en el contexto de una enfermedad no relacionada con el embarazo, parto o puerperio. Esto es una mujer enferma que se embaraza.

Resultados

En el período observado se registraron 138 muertes maternas y un total de 361.498 nacidos vivos en la provincia de Mendoza. La Razón de Mortalidad Materna (RMM) para el período 2003 – 2013 arrojó un valor promedio de 3,83 muertes maternas (MM) cada 10.000 Nacidos Vivos (NV).

Figura N°1. Evolución Razón de Mortalidad Materna (RMM) Mendoza 2003-2013.

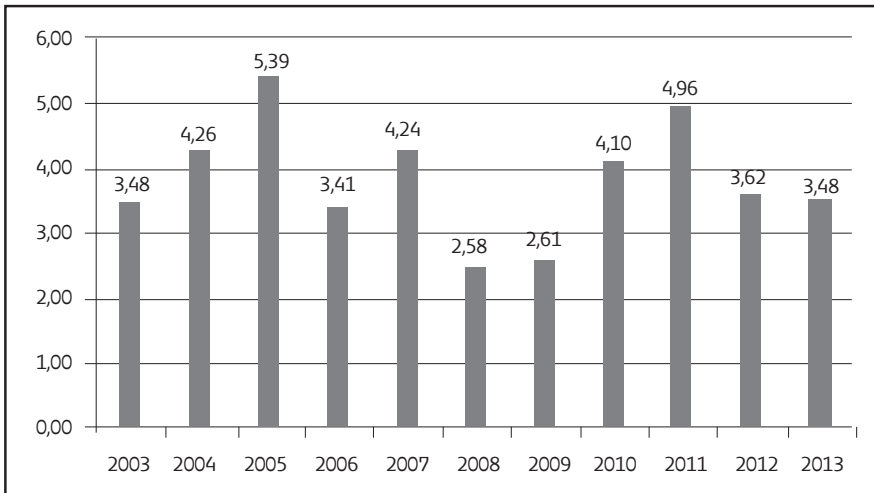


Tabla N° 1 Evolución RMM. Mendoza 2003-2013.

AÑO	N° MM	RMM
2003	10	3,48
2004	13	4,26
2005	17	5,39
2006	11	3,41
2007	14	4,24
2008	9	2,58
2009	9	2,61
2010	14	4,10
2011	17	4,96
2012	12	3,62
2013	12	3,48
Total Gral.	138	3,83

La RMM calculada para la provincia de Mendoza para el período 2003 a 2013, tiene un promedio de 3,83 muertes maternas cada 10.000 nacidos vivos (NV) con una desviación estándar de 0,88 (valor mínimo de 2,58 y máximo de 5,39) el coeficiente de variación es de 23%. Este último valor indica una moderada variabilidad de la RMM en el período considerado.

Evolución histórica de la RMM para la provincia de Mendoza

A fin de estudiar la evolución temporal de la RMM, se ajustó uno modelo de regresión lineal simple para modelar la tendencia de la serie de datos.

Figura N° 2. Evolución de la RMM Mendoza 2003-2013

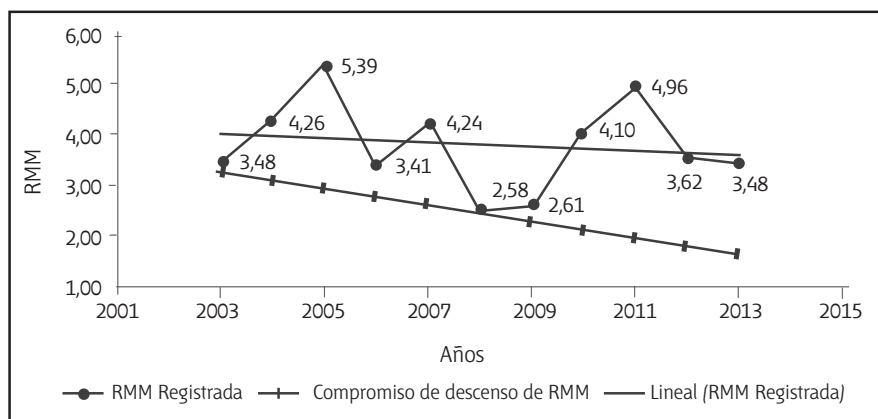


Figura 2: Evolución histórica de la RMM para la provincia de Mendoza. Valores de RMM observados (azul), tendencia de descenso lineal ajustada por regresión (verde) y compromiso de descenso (rojo).

La pendiente de la recta de ajuste (en verde) es $-0,0374$ MM/10.000NV por año. El signo negativo de este valor indicaría una tendencia al descenso de la RMM. Su valor podría interpretarse como una disminución promedio de 3,74 muertes maternas cada 1.000.000 de NV (millón de NV). Este valor estimado de la pendiente, sin embargo, no resulta estadísticamente distinto de cero (valor- $p=0,678$), lo cual sugiere una tendencia estable o estancamiento en la evolución de la RMM durante el período 2003-2013.

La recta en rojo está trazada por valores ideales que representan el compromiso de descenso promedio de la RMM asumido ante la ONU. La pendiente de esta recta es $-0,164$ MM/10.000NV. Esta recta ideal representaría una disminución de 16 muertes

maternas cada 1.000.000NV. Esto significa que, para cumplir con el compromiso asumido, la disminución anual de la RMM (pendiente de la recta verde, -0,0374) debería haber sido 4 veces más grande: debería haberse observado una disminución 400% mayor de la que se observó en los registros de salud.

La RMM según Variables Sociales, señala que la RMM según lugar de residencia presenta una gran variabilidad a nivel provincial. El coeficiente de variación toma un valor de 190%, lo cual sugiere que el fenómeno de la mortalidad materna presenta un comportamiento muy dispar tanto en los diferentes Departamentos de la provincia como a través de los años. Los resultados sugieren que no existen diferencia estadística entre los departamentos y que las diferencias detectadas son espurias y debidas a la influencia de los ceros correspondientes a San Carlos y Santa Rosa (test de ANOVA). La RMM según Nivel de Instrucción es mayor en mujeres que no concluyeron la educación formal. Según situación laboral la Mortalidad Materna es aproximadamente 50 veces mayor en las mujeres inactivas comparadas con las mujeres ocupadas. Al momento de producirse la muerte materna el 84% de las mujeres no trabajaba, 116 casos. La RMM según Edad sugiere que en los grupos etarios de 40 a 44, 45 a 49 y las menores de 15 años tienen RMM atípicamente más altas que el promedio general. En cuanto a la Cobertura de salud, el 57,5% de las MM corresponden a mujeres sin cobertura. La RMM según Variables Sanitarias, la muerte materna ocurrió en su mayoría en centro público (60,9%).

Entre las Variables Clínico-Asistenciales casos y según la clasificación de la CIE-10 para Muerte Materna, se observa que el 79% (n=109) de las MM corresponden a causas directas y el 21% a causas indirectas.

Tabla N° 13. N° MM por causa de muerte. Mendoza (2003-2013)

TIPO	NOMBRE DEL GRUPO	N° MM	%
MM Directa	Aborto	27	19,6
	Otras complicaciones obstétricas	26	18,8
	Hemorragia obstétrica	20	14,5
	Infecciones/ sepsis	19	13,8
	Trastornos Hipertensivos	14	10,1
	Complicaciones imprevistas del manejo	3	2,2
MM Indirecta	Complicaciones no obstétricas	29	21,0
Total general		138	100

La principal causa de MM por causa directa es el aborto 24,8%. Para este punto se desagregó el aborto, llegándose a la conclusión de que la RMM según aborto se concentra en los rangos etarios que se corresponden con el embarazo adolescente (menores de 19 años) y con el embarazo de riesgo (mayores de 40 años). La muertes por aborto son además en su mayoría muertes sin cobertura de salud.

Comentarios Finales

En el período de análisis hemos asistido a cambios del sistema de salud en relación a la atención de las mujeres embarazadas, sobre el que han impactado la crisis socioeconómica y las variaciones en los niveles educativos de la población.

¿Qué relación tiene el valor del indicador RMM con el desempeño del sistema de salud, en el contexto social y económico de la década?

Si bien se han planteados distintos enfoques según la dinámica del problema y a su vez se abrieron distintos programas destinados a enfrentar la multicausalidad del tema; estos no han tenido los resultados esperados.

¿Es la implementación de los mismos en donde encontramos la falta de resultados?

La RMM entre los departamentos muestra grandes diferencias. Lavalle tiene una RMM de 19,9 en 2011 muy por encima de la media provincial; mientras que Guaymallén presenta una RMM de 1,8 para igual periodo. Esto es que una mujer en Lavalle tiene 10 veces más riesgo de morir a lo largo de su vida reproductiva por causas relacionadas con el embarazo, el parto y el puerperio que una mujer que reside en Guaymallén.

¿La RMM se relaciona con factores del sistema de salud, del contexto o es necesario incorporar otra perspectiva e integrarla efectivamente? Estas diferencias observadas se traducen en ¿desigualdades o inequidades en salud?

Desde el año 2003 al 2011 las oscilaciones se explicarían por la falta de institucionalización de los partos, la calidad y cantidad de servicios de maternidad en la provincia, junto al fuerte impacto de la crisis social del 2001. A partir del año 2011, con la implementación de las Condiciones Obstétricas y Neonatales Esenciales (CONE), conjunto de medidas seguras con las que deben contar las instituciones que atienden parto y/o complicaciones de abortos; el sistema de salud mejora en su prestación con el paquete de parto seguro. Esta mejora se implementa en los establecimientos públicos, pero no se controla el cumplimiento del paquete de parto seguro en los privados. En nuestra hipótesis de trabajo, el período que va desde 2003 a 2011, se caracterizaría por un avance progresivo en la seguridad y calidad de la atención del parto seguro. La MM es

un problema cuyos determinantes trascienden los factores exclusivamente asistenciales. Ha sido reconocida como un problema social en la medida que su ocurrencia está ampliamente relacionada con el entorno político y económico, así como factores sociales macro-estructurales (Ramos y col. 2004). La multiplicidad de factores asociados a las MM, complejiza las acciones del sector salud dirigidas a reducirlas y también dificulta la obtención de resultados esperados.

Bibliografía

1. Bianco M y Moore S.(2012). Mortalidad materna: un indicador de desigualdades transversales. Fundación para Estudio e Investigación de la Mujer. Septiembre 2016. Sitio web: <http://www.feim.org.ar/publicaciones.html>
2. Gil-González D, Carrasco-Portiño M y Ruiz MT (2006). Knowledge gaps in scientific literature on maternal mortality: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization* Vol 84(11);903-9.
3. Graham WJ, Cairns J, Bhattacharya S, Bullough CHW, Quayyum Z y Rogo K. (2006). *Maternal and Perinatal Conditions. En: Disease Control Priorities in Developing Countries. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 499-530.*
4. Maine D, Akalin MZ, Ward V y Kamara A. (1997) *Diseño y evaluación de programas para mortalidad materna.* Nueva York: Centro para la población y la salud familiar. Universidad de Columbia.
5. McCarthy J. y Maine D. A (1992) *Framework for analyzing the determinants of maternal mortality.* *Stud Fam Plann* Vol. 23(1);23-33.

EL ROL DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO

Equipo: Patricia G. de Vallés , Mariana G. Luna , María Victoria Bocanegra, Ana Sarcotik

Instituciones: Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti; Universidad Nacional de Cuyo

Contacto: vallespatricia@yahoo.com.ar

Introducción

El Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) es la principal causa de fallo renal aguda en pacientes pediátricos en Argentina. Las manifestaciones clínicas en el período agudo de la enfermedad incluyen anemia, trombocitopenia y fallo renal agudo. La respuesta inflamatoria del huésped a la toxina Shiga (Stx) y al lipopolisacárido (LPS) de *Escherichiacoli* está involucrada en la fisiopatología de SUH. La Stx es capaz de activar la vía alterna del complemento in vitro. No obstante, se desconoce si la activación del sistema de complemento está involucrado en el desarrollo de SUH asociado a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). En este trabajo estudiamos si la activación de la vía del complemento es parte de la patogénesis del SUH asociado a EHEC; y si existe asociación con la alteración genética de este sistema en la severidad de la respuesta clínica inicial de la enfermedad.

En Argentina, el SUH, es una enfermedad endémica presentando el registro más alto de todo el mundo. El estudio de esta patología es de vital importancia para la comunidad pediátrica de nuestra provincia y del país.

Método

El trabajo se realizó en tres escenarios. La obtención de muestras, estudio de laboratorio inicial, estudio microbiológico y aislamiento de ADN se desarrolló en el Laboratorio de Bioquímica Clínica y Hematología, Bacteriología y Biología Molecular respectiva-

mente, del Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti de Mendoza, Argentina; nosocomio de mayor complejidad infantil en la provincia. El Servicio de Nefrología del Hospital Notti es centro de referencia en el oeste de Argentina. El estudio genético del ADN de los pacientes en el Centro de Investigación Biológicas de Madrid, España. El estudio cuantitativo del complemento en el Área de Fisiopatología de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.NCuyo, Mendoza, Argentina.

La población a estudiar son aquellos pacientes menores de 15 años que consultan en la guardia del Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti por síntomas compatibles con SUH y/o criterios de laboratorio con SUH. Se conformaron tres grupos Grupo A pacientes con clínica y/o laboratorio de SHU típico, Grupo B diarrea enteroinvasiva (DEI), EHEC positivos y Grupo C control. Se obtuvo muestras de sangre entera en:

- 1- Caso A en las primeras 72 hs y a los 10 días de evolución de la enfermedad.
- 2- Caso B al inicio de los síntomas.
- 3- Caso control sano.

El traslado de las muestras se realizó según normas de IATA, aprobando los exámenes por parte de las investigadoras participantes, para el traslado al exterior de muestras biológicas (*Transporting Dangerous Goods*), evaluado por Mayo Medical Laboratories. Se solicitó la aprobación por el Comité de Ética del Hospital Humberto Notti y de la Provincia de Mendoza (COPEIS). Se solicitó autorización de exportación e importación de las muestras por ambos países, en Argentina a la Dirección Nacional de Registros, Fiscalización y Sanidad de Fronteras del Ministerio de Salud. En España al Ministerio de Sanidad, Servicio Social e Igualdad.

La activación del complemento se evaluó mediante la detección de C5adesArg en suero por ELISA (kit de ELISA, BD OptEIA Human C5a).

El estudio de ADN se realizó con técnicas de amplificación y secuenciación evaluando haplotipos de riesgo y protección. Se estudió los polimorfismos en los genes del complemento CFH (haplotipos H1, H2, H3, H4), C3 (R102G), FB (R32Q/W), MCP (haplotipoggaac), que se han asociado con variaciones cuantitativas o funcionales en las proteínas que codifican y han mostrado alguna asociación con patologías relacionadas con desregulación del complemento. Los resultados se evaluaron mediante análisis unidireccional de varianza para comparar los grupos. Las diferencias entre grupos se estimaron siguiendo el Post-Test de Bonferroni.

Resultados

Desde el 1 de diciembre del 2014 hasta el 30 de marzo del 2015 consultaron 633 niños. Desde el 1 de Enero del 2016 al 30 de Marzo del 2016, 357 pacientes. En el primer período 208 coprocultivos fueron procesados con los siguientes resultados fueron 127 con Flora intestinal habitual (FIH), 59 positivos para Shigella, 14 E. colienterohemorrágica (EHEC), 8 Salmonella. Segundo período 123 coprocultivos fueron procesados con los siguientes resultados 83 con FIH, 29 Shigella, 4 Salmonella, 4 EHEC, 3Campylobacter. Luego de aislar y tipificar EHEC se realizó la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), a partir de las colonias aisladas y de la zona de confluencia del SMAC, para la amplificación de un fragmento de la secuencia genética de Stx1 y Stx2. Se descartaron las muestras con coprocultivos positivos para Salmonella, Shigella y Campylobacter, ya que no son los gérmenes motivos de este estudio.

Luego de obtener la confirmación bacteriológica se pudo dividir los dos grupos A y B a estudiar. Considerando los dos períodos un total de 62 pacientes fueron incluidos en este estudio. Un total de 25 pacientes formaron el grupo A al desarrollar síntomas compatibles con SUH, de los cuales 9 presentaron coprocultivo positivo para EHEC y 16FIH. El grupo B formado por 10 pacientes los cuales desarrollaron diarrea enteroinvasiva, sin signos de hemólisis en el laboratorio y sin clínica evidente de SUH con coprocultivos positivo para EHEC. El grupo C control fue constituido por 27 pacientes sanos con coprocultivos con FIH.

Tabla: Pacientes incluidos en el estudio durante ambos períodos. Fuente: El Rol del Sistema de Complemento en SUH típico. Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti. Mendoza 2016.

Período	Total DEI	Coprocultivos	SUH (grupo A)	DEI (grupo B)	Control (grupo C)
2014-2015	633	208	15	7	7
2015-2016	357	123	10	3	20
Total	990	331	25	10	27

El Grupo A formado por 25 pacientes de los cuales 17 fueron niñas y 8 niños. Grupo B 4 niñas, 6 niños. Grupo C 8 niñas, 19 niños. Entre los dos períodos el promedio de edad en desvió estándar fue de Grupo A 18,30 meses, Grupo B 30,88 meses y Grupo C 28,08.

Del Grupo A los datos epidemiológicos relevantes fueron que 9 pacientes provenían del departamento de Guaymallén, 5 de Las Heras, 2 de Luján de Cuyo, 3 de Maipú, 2

de San Martín, 2 de Godoy Cruz y 2 de Capital. Las vías de probable contagio fueron en 15 pacientes ingesta por alimentos mal cocidos o incorrectamente conservados (hamburguesas, panchos, jugos congelados, lácteos), 7 pacientes por nadar en piletas no cloradas y 3 pacientes desconocían la vía de contagio.

Tabla: Datos de Laboratorio de los pacientes del grupo A durante 2015-2016. Fuente: El Rol del Sistema de Complemento en SUH típico. Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti. Mendoza 2016.

Período	Hb	Plaquetas	GB	Neutrófilos	Uremia	Creatinina	LDH	Hematuria
2015	9,19	72675	29689	61,25	1,42	2,8	4151,1	6
2016	9,63	161695	18007	53,7	1,15	1,14	3422	5

Figura: Evolución clínica de los pacientes del grupo A. Fuente: El Rol del Sistema de Complemento en SUH típico. Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti. Mendoza 2016.

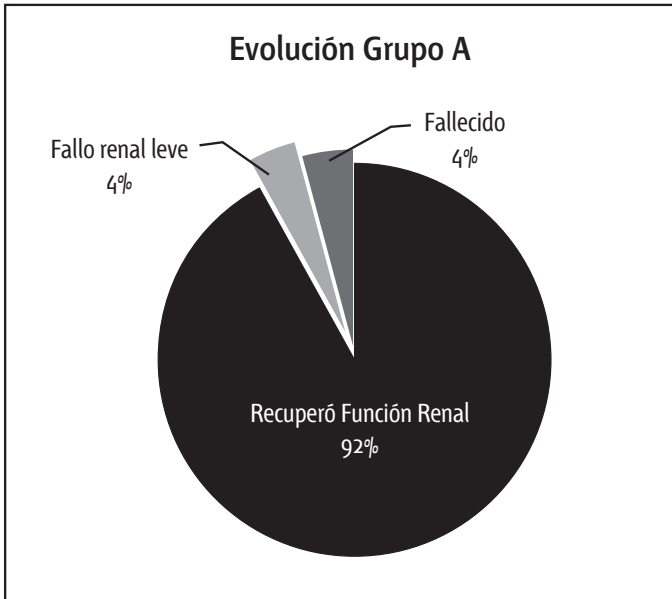
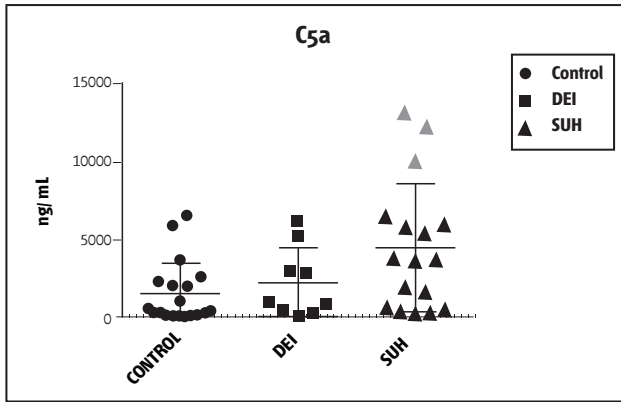


Figura: Determinación de la activación de la cascada de complemento en pacientes con SUH. Se cuantificó por método de ELISA la activación de C5a a través de la cuantificación de C5a-desArg. Los valores se expresan en ng/mL.



Se observa un aumento en la fracción del C5a-desArg en el grupo SUH con respecto al grupo C y al grupo B. Las muestras señalizadas en color rojo del grupo A (SUH) corresponden a pacientes en los que el valor del C5a-desArg está incrementada con el resto del grupo SUH. Así mismo, se analizó la cuantificación de C5a en muestras tempranas y tardías de 4 pacientes, donde se observa una disminución en la activación del factor a los 10 días.

Figura: Actividad de C5a en los días 1 y 10. Fuente: El Rol del Sistema de Complemento en SUH típico. Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti. FCM UNCuyo. Mendoza 2016.

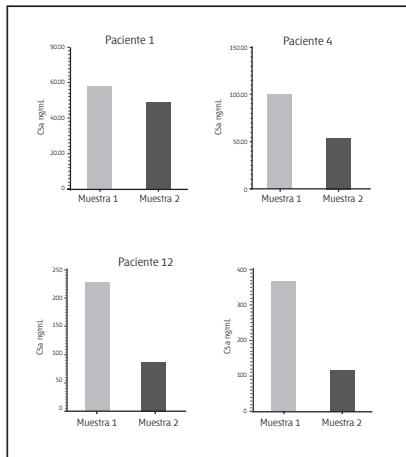
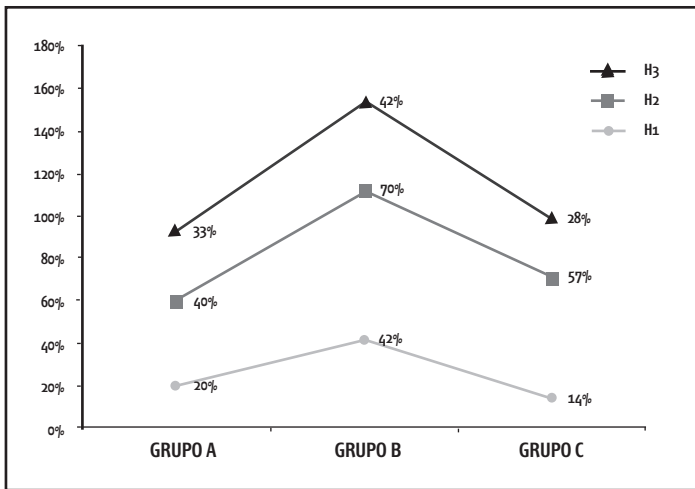


Figura: Haplotipos Factor H del grupo A,B y C. Fuente: El Rol del Sistema de Complemento en SUH típico. Hospital Pediátrico Dr. Humberto Notti. Centro de Investigaciones Biológicas Madrid- Mendoza 2016



No se ha puesto de manifiesto la presencia concomitante de los haplotipos de riesgo CFH-H3 y MCPggaac en ninguna de las muestras.

Cabe destacar que el análisis del estudio genético del total de las muestras se completará al finalizar envío y procesamiento de las muestras del segundo período, dado que los resultados son más representativos al aumentar el número total de muestras del estudio.

Comentarios Finales

El rol del sistema de complemento en el SUH típico aún no ha sido demostrado. En este trabajo se estudió si la activación de la vía del complemento está involucrada en la patogénesis del SUH asociado a EHEC, comprobándose mediante la detección de C5adesArg en muestras de suero por ELISA, que aquellos pacientes que desarrollaron la enfermedad presentan un aumento de la actividad del C5a. También se estudió si existe asociación con la alteración genética de este sistema en la severidad de la respuesta clínica inicial de la enfermedad. Se realizó a partir del estudio del ADN de los pacientes, con técnicas de amplificación y secuenciación de los genes, evaluando los polimorfismos o mutaciones que se han asociado con variaciones cuantitativas o funcionales en las proteínas que codifican y han mostrado alguna asociación con patologías relacionadas con desregulación del complemento, que pudieran poner de manifiesto,

predisposición a infección por EHEC, a desarrollar SHU o mala evolución del SHU. Uno de los polimorfismos de riesgo más relevante para SUHa, el CFH-H3 se observó en un paciente con mala evolución clínica. Mientras que el haplotipo CFH- H2 que incluye el polimorfismo Val62Ile asociado a menor riesgo de SHUa, se observó en aumento en aquellos pacientes que teniendo coprocultivos positivos para EHEC no manifestaron la enfermedad. Hasta el momento nuestros resultados muestran un aumento en la frecuencia del haplotipo H2 de protección en el total de la población estudiada. Es necesario incrementar el número total de muestras a fin de poder correlacionarlo con los datos clínicos y de laboratorio, por lo cual continuaremos este estudio.

Bibliografía

1. Janeway CA Jr, Travers P y Walport M. (2001).The complement system and innate immunity.Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th ed. New York USA.Garland Science.
2. Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Espinosa M, Grinyó JM, Macía M, Mendizábal S, Praga M, Román E, Torra R, Valdés F, Vilalta R y Rodríguez de Córdoba S. (2015)Actualización en Síndrome Hemolítico Urémico atípico: diagnóstico y tratamiento. Documento de consenso.NefrologíaVol. 35(5);421-447.
3. Valles PG, Pesle S, Piovano L, Davila E, Peralta M, Principi I y Lo Giudice P.(2005) Postdiarrheal Shiga toxin-mediatedhemolyticuremicsyndrome similar to septic shock. Medicina (B Aires). Vol. 65(5):395-401.
4. Milford DV, Staten J, MacGreggor I, Taylor CM y Hill FG (1991). Prognostic markers in diarrhoea-associated haemolytic-uraemic syndrome: initial neutrophil count, human neutrophil elastase and von Willebrand factor antigen. Nephrol Dial Transplant. Vol. 6:232-237.
5. Proulx F, Toledano B, Phan V, Clermont MJ, Mariscalco MM y Seidman EG.(2002) Circulating granulocyte colony-stimulating factor, C-X-C, and C-C chemokines in children with Escherichia coli O157:H7 associated hemolytic uremic syndrome. Pediatr Res. Vol. 52:928-934.

BURNOUT Y CALIDAD DE VIDA PERCIBIDA EN PROFESIONALES RESIDENTES EN ÁREA MATERNO-INFANTIL

Equipo: Luis Hernán Llano López; Leandro Casari; Narela Torres; Pablo Nosal; Emilia Moreno; Laura Piera

Instituciones: Hospital Humberto Notti. Pontificia Universidad Católica Argentina

Contacto: luishernanllano@hotmail.com

Introducción

El síndrome de burnout es un trastorno tridimensional resultante del estrés relacionado con el trabajo que se caracteriza por Cansancio Emocional (AE): el trabajador siente que sus recursos afectivos han sido superados por el estrés producido por el contacto diario con las personas que reciben directamente su servicio, despersonalización (DP): cuando el trabajador desarrolla sentimientos negativos hacia las personas con quienes trabaja, que se traducen en comportamientos y actitudes acordes a esos sentimientos y baja realización personal (RP) que se evidencia cuando el trabajador evalúa de forma negativa su labor, lo cual afecta su autoestima y las relaciones con los demás. (Maslach & Jackson 1981); todo esto, observado especialmente en trabajos que involucran el contacto con las personas y sus necesidades (Pantalaioni et al., 2014) y particularmente en instituciones dedicadas a la prestación de un servicio (establecimientos educativos y sanitarios y sus trabajadores médicos, enfermeros, docentes) (Hernández et al., 2003).

En los últimos años, el síndrome de desgaste profesional ha adquirido importancia por la repercusión directa que tiene sobre la asistencia sanitaria, el ausentismo laboral, la disminución del nivel de satisfacción tanto de los profesionales como de los pacientes, el riesgo de conductas adictivas, la excesiva movilidad laboral, las alteraciones de la dinámica familiar y, en el caso de la asistencia materno-infantil, el riesgo de que los pacientes reciban cuidados de una calidad inferior a la deseable, así como errores

en la prescripción médica, con las repercusiones negativas que ello puede condicionar (Jiménez et al. 2014; López Franco et al., 2005)

Entre los profesionales médicos, los residentes constituyen una población especialmente vulnerable, dadas las altas exigencias asistenciales, intelectuales y emocionales inherentes al sistema de residencias, asociado a la reciente inserción en el medio laboral y por lo tanto a la inexperiencia en el ejercicio profesional. Se ha observado que es durante el primer año de residencia cuando se presenta la mayor incidencia del síndrome de burnout o sus componentes, sin cambios significativos en años subsiguientes (Pantaleoni et al., 2014). Esto cobra especial importancia al tener en cuenta que este síndrome se presenta en los primeros años de ejercicio profesional, periodo crítico en el cual se producen los procesos claves de adaptación y ajuste a las nuevas tareas que han de desarrollarse en la vida laboral (Deckard et al., 1994)

Objetivo general es Indagar el impacto del sistema de residencias médicas sobre el nivel de burnout y la calidad de vida percibida, en profesionales abocados a la salud de la madre y el niño durante el primer año de residencia.

Método

Diseño longitudinal, de tipo descriptivo – correlacional (Hernández Sampieri, Fernández Collado & Baptista Lucio, 2014). Muestra probabilística, intencional.

Población - Universo o población objetivo: Residentes de clínica pediátrica, medicina de familia y gineco-obstetricia de la provincia de Mendoza, que hayan ingresado en el año 2015.

Unidad de análisis: Cada profesional médico residente del primer año de formación de las especialidades de medicina de familia, pediatría y gineco-obstetricia. Como criterio de exclusión se tuvo en cuenta si el encuestado se encontraba atravesando una situación de duelo (en cuyo caso se lo contactó luego de 15 días) y/o haya realizado una guardia el día previo (en donde se le solicitó al sujeto que complete el protocolo al día siguiente cuando no haya realizado una guardia la noche anterior).

Población accesible: De acuerdo a la Resolución n° 423/15 del Ministerio de Salud de la provincia de Mendoza, que establece las vacantes disponibles por especialidades e institución en el sistema de residencias médicas, el N que se estimó para la investigación fue de 90 sujetos. Las plazas que efectivamente fueron tomadas, alcanzaron el número de 76. Una vez que se obtuvo el listado definitivo de residentes que tomaron las respectivas plazas en cada institución, se procedió a contactar

a cada uno de ellos y solicitar su colaboración voluntaria. Se trabajó con la población total de acuerdo a los criterios seleccionados. En total, se recolectaron 39 protocolos en la primera toma (entre el primer y segundo mes de trabajo), y 32 sujetos que conformaron la muestra final completaron la segunda evaluación

Instrumentos y técnicas:

- 1) Maslach Burnout Inventory (MBI) (Maslach & Jackson, 1981, adaptación argentina de Hein, 2005).
- 2) Inventario de Calidad de Vida Percibida (Mikulik (2006)
- 3) Preguntas Ad Hoc

Resultados

En primer lugar se exponen las características de la muestra que participó del estudio. En relación a variables socio demográficas, en su mayoría son mujeres (78,1 %) con una edad promedio de 26,06 (DE: 1,80). Con respecto al estado civil, 84,4 % son solteros y el porcentaje restante están casados o en unión convivencial (15,6 %). Y por último, casi la totalidad de los participantes, no tienen hijos (96,9 %). Luego se exponen variables socioprofesionales. De acuerdo a la institución, los residentes pertenecen a los siguientes hospitales: Notti (87,5 %). Saporiti (3 %), Italiano (6,3 %) y Paroissien (3,1 %). En relación a la especialidad que se encuentran cursando, los porcentajes son: clínica pediátrica (68,8 %), Kinesiología pediátrica (6,3 %), Cirugía pediátrica (3,1 %), Odontopediatría (3,1 %), Bioquímica (6,3 %), Medicina de Familia (3,1 %), Gineco obstetricia (3,1 %) y Nutrición (6,3 %). Por último, la mayoría de los residentes manifestó realizar ocho guardias mensuales (90,6 %).

A continuación se presenta la cantidad de sujetos que cumplirían con los criterios de Síndrome de Burnout, en los dos momentos de evaluación.

Tabla 1

Cantidad de residentes con indicadores y en riesgo de BurnOut

	Primera toma (n=39)		Segunda toma (n=32)	
	F	%	F	%
Con indicadores de BurnOut	1	2,6	1	3,1
En riesgo de BurnOut	9	23,1	7	21,9
Sin riesgo	29	74,4	24	75

Comentarios finales

En primer lugar, se debe mencionar que debido a la ausencia de baremos locales sobre el test empleado (MBI), la estimación del diagnóstico de Burnout se realiza en base al cálculo de percentiles para la muestra tomando como valores altos (a partir de 75) y bajos (25 o menos). Esta modalidad de corrección, que si bien es estadísticamente apropiada, presenta como contrapartida la dificultad para cumplir con todos los criterios señalados como indicadores de BurnOut, ya que se trataría de sujetos con percentiles superiores o iguales a 75 en CE y DP, y percentiles inferiores o iguales a 25 en RP.

Y otra complicación, es que al tratarse de un estudio longitudinal existió pérdida de sujetos: profesionales que no completaron la segunda fase de la evaluación, evento característico en este tipo de estudios (Hernández Sampieri et al., 2014; Moretti&Basler, 2011). Por lo que los percentiles que se fijaron para cada momento de la evaluación variaron. En el caso de CE, el percentil 25 se mantuvo similar en su valor (24), pero el percentil señalado como alto disminuyó (de 37 a 35).

En el caso de DP, los valores tendieron a aumentar ampliando el rango (disminuyó el percentil 25 en su valor, y aumentó el 75). Y en el caso de RP, disminuyó el rango de valores en los percentiles. El análisis de la cantidad de sujetos con BurnOut aumentó levemente en porcentaje, pero la cantidad de sujetos con los indicadores fueron los mismos (n= 1). Esto sería consecuencia de la disminución en el n de la segunda toma (n= 32). Mientras que el porcentaje de sujetos en riesgo (aquellos que cumplen dos de los tres criterios señalados por Maslach & Jackson, 1981) disminuyó en frecuencia y porcentaje. Debido al tamaño de la muestra y la frecuencia

de casos por celdas a analizar, no se pudo efectuar un análisis estadístico de asociación de variables nominales (Chi Cuadrado).

Esta baja prevalencia no condice con los descripto por Panteoloni et al (2014) que señala que el primer año es de alto riesgo para el desarrollo del SBO. Aunque en la misma definición del BO se establece que es un proceso paulatino que se desarrolla con el transcurrir de los años, como respuesta al estrés crónico (Maslach & Jackson, 1981) y en esta investigación se trabajó con sujetos que están transitando su primer año de residencia. Por lo que sería importante continuar con la evaluación de estos profesionales a lo largo de los años, ya que explicaría el bajo porcentaje encontrado en la muestra.

Bibliografía

1. Arias A & Barrón A. (2008) El apoyo social en la predicción a corto y medio plazo de la permanencia del voluntariado socioasistencial. *Psicothema* Vol.20; 97-103
2. Abreu Santos, A.; Andrade, T.; Grosseman, S. y Oliva Costa, E. (2011). Burnout síndrome among internship medical students. *Medical Educación*, Vol 11;1131-1162.
3. Beltrán, C.A. Montero, B. Z., Moreno, M. P. y Flores, J E S (2011). Síndrome de Burnout, Variables Sociodemográficas y laborales en médicos especialistas del Hospital Valentín Gómez Farías, México. *Revista Colombiana de Salud Ocupacional*, Vol. 1(1); 13-17.
4. Betto, F. C (2014). Síndrome de burnout en profesionales residentes de salud mental. Tesis de Licenciatura en Psicología (inédita). Facultad de Psicología, Universidad del Aconcagua.
5. Bragalut, E., Fonseca, M., Hernández, C., Miró, O., Sanclemente, G. y Visiedo, C (2010). Residentes, guardias y síndrome de Burnout. *Revista Clínica española*, Vol 5;209-215.

EFFECTOS DE UN PROGRAMA DE ESTIMULACIÓN COGNITIVA GRUPAL EN DETERIORO COGNITIVO LEVE

Equipo: Joanna Lombardo; Graciela Maggioni; Soledad Poy; Johana Rodríguez; Natalia Retamales

Instituciones: Fundación San Andrés, Universidad J. A. Maza, Universidad del Aconcagua

Contacto: lombardojoanna@gmail.com

Introducción

Los programas de estimulación cognitiva son un tratamiento no invasivo de estimulación cerebral, basados en la aplicación de técnicas neurológicas, con el fin de mejorar, mantener o recuperar la actividad cerebral. Estos tratamientos son aplicados a personas que reciban un diagnóstico de disfunción cognitiva.

El proyecto se presenta desde un enfoque neuropsicológico e implica evaluar funciones cognitivas específicas como la atención, la memoria de trabajo, la planificación y el control inhibitorio en los adultos participantes, para luego implementar un tratamiento que posibilite mejorar dichas funciones.

Se busca evidenciar cómo, a través de la estimulación del psiquismo, en pacientes con Deterioro Cognitivo Leve, se producen cambios estructurales en el cerebro, protectores de patologías.

Para lograr este fin se obtendrá una línea base del rendimiento de cada participante a partir de una evaluación inicial, para conocer los déficits cognitivo, empleando como instrumentos para ello, los modelos teóricos, test, entrevistas, cuestionarios y escalas, que provienen de diferentes áreas de la psicología y neuropsicología. Este será el punto de partida para incorporarlo a los grupos de estimulación cognitiva. Una vez obtenido el perfil neuropsicológico, se comienza la etapa de estimulación propiamente dicha, de tres meses de duración.

A los 6 meses de haber terminado el programa de estimulación, se realiza un retest de la evaluación inicial, evitando, de esta manera, el aprendizaje de la técnica, a fin de

corroborar si los cambios cognitivos obtenidos se han sostenido en el tiempo.

Este proyecto pretende aportar evidencia científica sobre los efectos del tratamiento en relación con el funcionamiento cognitivo en adultos con deterioro cognitivo leve. Lo cual no ha sido investigado en la región Cuyo.

Los principales beneficiarios fueron los participantes de dicha investigación y la comunidad científica, con los resultados obtenidos al finalizar la presente investigación.

Método

La presente investigación se realizara en el Centro Integrador Comunitario N° 1, Ciudad de Mendoza, Área Adulto Mayor (CIC N°1), dependiente del Área de Acción Social de la Municipalidad de la Ciudad de Mendoza y en el Centro de Rehabilitación Integral San Andrés.

Los actores involucrados fue el personal especializado en neuropsicología, quienes evaluaron el rendimiento cognitivo de pacientes en un rango etario de 55-65 años para detectar la presencia de deterioro cognitivo leve. Además participaron de la muestra personas voluntarias de la comunidad general, convocadas a través de aviso en el diario Los Andes y folleteria distribuida en consultorios, mutuales y comercios de la ciudad.

Se realizó un estudio cuantitativo, exploratorio, con un diseño pre-postprueba, sin grupo control y de corte transversal (Hernández Sampieri, Fernández Collado & Baptista Lucio, 2010).

La muestra fue no probabilística de tipo intencional con participantes voluntarios tomando como criterio de inclusión a adultos entre los 55 y 65 años de edad, de ambos sexos, con deterioro cognitivo leve.

Las pruebas a utilizar son de fuentes primarias, estructuradas y estandarizadas:

- Entrevista neuropsicológica semiestructurada: Modelo desarrollado en el departamento de neuropsicología del Centro de Rehabilitación Integral San Andrés. Realiza una anamnesis completa del paciente: datos de filiación, motivo de consulta, antecedentes personales y sociales, antecedentes médicos, funcionamiento cognitivo del paciente y observaciones del entrevistador.
- Escala de valoración funcional: Instrumental Activities of Daily Living (IADL): Evaluar las capacidades funcionales de los ancianos según diferentes niveles de competencia, en particular la autonomía física e instrumental en actividades de la vida diaria. Consta

de 8 ítems que valoran las siguientes ABVD: Utilizar el teléfono, realizar las compras, preparar comida, realizar tareas domésticas, utilizar el transporte, manejo del dinero, y administración responsable de medicamentos. El tiempo e administración es 5 minutos. Autor: Lawton MP, Brody EM. (1969). Assessment of older people: Self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontology*, 9; 179-86.

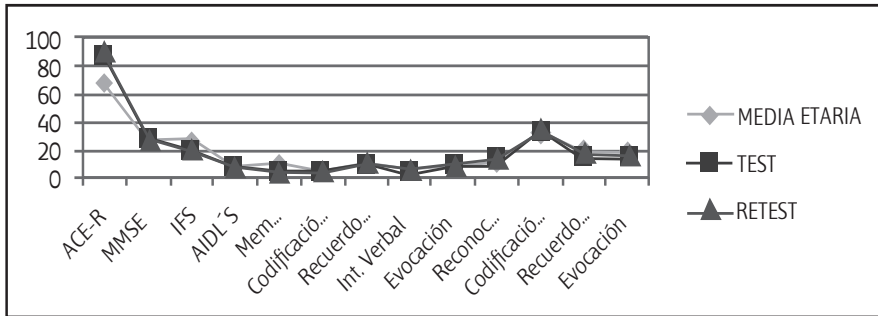
- Addenbrooke's cognitive examination (ACE-R): Test abreviado y sensible para los estadios tempranos de la demencia, con capacidad de diferenciar entre los diferentes subtipos de demencia: Enfermedad de Alzheimer, Demencia Frontotemporal. Su administración tiene una duración de 15 a 20 minutos. Evalúa 6 dominios cognitivos: orientación, atención, memoria, fluencia verbal, lenguaje y habilidades visuoespaciales. Autor: Sarasola, D; Calcagno, M; Sabe, L; Caballero, C; Manes, M. (2004) Utilidad del Addenbrooke's Cognitive Examination en Español para el Diagnóstico de Demencia y para la diferenciación entre la Enfermedad de Alzheimer y la Demencia Frontotemporal. *Revista Argentina de Neuropsicología*, Vol. 4, p. 1-11.

- Ineco frontal screening (IFS): Es una herramienta de screening breve que evalúa las disfunciones ejecutivas. Su administración no supera los 10 minutos. Está compuesto por 8 subtest: Series motoras, instrucciones conflictivas, Go-No Go, dígitos en orden inverso, memoria de trabajo verbal y espacial, capacidad de abstracción y control inhibitorio verbal. Autor: Torralva, T., Roca, M., Gleichgerricht, E, López, P, Manes, F. (2009). INECO Frontal Screening (IFS): A brief, sensitive, and specific tool to assess executive functions in dementia. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 1-10.

- Test de copia y reproducción de memoria de figuras geométricas complejas de Rey: Evalúa la actividad perceptiva, habilidades visuomotrices y visuoespaciales. Permite detectar trastornos neurológicos, relacionado con problemas perceptivos o motrices y, por ende, el grado de desarrollo y maduración de la actividad gráfica. Permite ver la capacidad de planeamiento. Requiere de 4 etapas: copia de la figura, recuerdo inmediato (a los 3" de realizada la copia), recuerdo diferido (a los 30" de realizada la copia) y una etapa de reconocimiento. Autor: Meyers, J.E; Meyers, K.R. (1995) Rey complex figure test and recognition trial. *Psychological Assessment Resources*, Inc.

-Test de aprendizaje auditivo verbal de Rey: Evalúa el aprendizaje verbal por medio de la lectura de una lista de 15 palabras no relacionadas entre sí. Consta de 4 etapas: primero, la repetición de la lista 5 veces seguidas, luego la lectura de una lista nueva, distractora, se le solicita la repetición de la primera lista (impacto de la interferencia), a los 30" se le solicita nuevamente dicha lista (recuerdo libre) y por último, se realiza una etapa de reconocimiento. Autor: Lezak, M; Howieson, D; Lorin, D. "Neuropsychological assessment". New York: Oxford, University Press, 2004.

Resultados



A partir de la pregunta inicial formulada: ¿Un programa de estimulación cognitiva mejora el desarrollo de déficits cognitivos, generando modificaciones en el rendimiento cognitivo generalizables en la vida diaria?

De acuerdo a los datos de información teórica podemos afirmar que, los cambios cognitivos asociados con la edad se reflejan principalmente en una disminución en la velocidad y en la eficiencia del procesamiento intelectual, que se observa desde aproximadamente la quinta década de vida y que tiende a acentuarse en décadas posteriores. Estos cambios intelectuales pueden reflejar un envejecimiento normal (benigno) o un envejecimiento anormal (demencia).

Al analizar los resultados podemos concluir que la evaluación grupal inicial evidencia principalmente alteraciones en relación a funciones ejecutivas, memoria de trabajo y memoria visual. Surge la dificultad para manejar diversas variables en forma simultánea, dificultad en el control inhibitorio tanto motor como verbal, en la capacidad de abstracción, alteración en el recuerdo diferido de material visual, así como en la evocación del mismo.

Al finalizar los encuentros y al pasar el tiempo necesario, luego de los tres meses de aplicación del programa y tres meses posteriores de pausa (seis meses, mínimo, entre test y retest), se realiza la re-evaluación para detectar cambios o no, en el desempeño funcional a partir de la estimulación.

En el análisis de los datos obtenidos se puede observar una diferencia favorable de uno respecto del otro. Es decir, en la evaluación inicial, los puntajes de la media muestral están acordes a los puntajes esperables para el grupo de edad (media etaria); en los puntajes obtenidos en el retest, se observó avances en el desempeño grupal.

En el análisis individual (batería de test, aplicación del programa, seguimiento psicológico, retest), se puede observar que factores emocionales y de ansiedad, han tenido probablemente, una influencia significativa en los resultados. Algunos sujetos, cuyo estado emocional ha logrado estabilizarse, han tenido un mejor desempeño cognitivo respecto a la evaluación inicial. Y aquellas personas cuyo estado emocional ha empeorado, el rendimiento de sus funciones cognitivas se ha visto empobrecido.

Teniendo en cuenta la aplicación del programa de estimulación cognitiva, la ejercitación realizada por los participantes y los lineamientos teóricos que sustentan lo investigado, se puede inferir que la hipótesis inicial de este trabajo, se confirmaría, ya que la aplicación de un programa de entrenamiento (constante) cognitivo, favorecería el desempeño de las personas con deterioro cognitivo leve.

Comentarios Finales

Esta investigación tuvo como objetivo demostrar que el programa de ejercicios prácticos de estimulación cognitiva mejora el deterioro cognitivo en adultos mayores en las áreas de memoria, lenguaje, cálculo, atención, funciones ejecutivas y visuopercepción.

Garamendi Araujo, Delgado Ruiz y Amaya Alemán en su investigación "Programa de entrenamiento cognitivo en adultos mayores", estudiaron un total de 68 adultos mayores con deterioro cognitivo, con un rango de edad de 60 a 84 años. En la evaluación grupal se detectó al inicio un deterioro cognitivo grupal grado leve, con una mediana de 23 con la prueba de MEC al igual que con la prueba Neuropsi. Posteriormente se aplicó el programa de ejercicios prácticos de estimulación cognitiva durante 20 sesiones con una duración de 60 minutos por sesión, las cuales se impartieron 2 veces por semana, donde se manejó ejercicios de memoria, lenguaje, cálculo, praxias y orientación. Luego de la intervención con el programa de ejercicios prácticos de estimulación cognitiva, la evaluación grupal final mostró una mejoría a limítrofe en la prueba de MEC y a la normalidad en la prueba de Neuropsi. El deterioro cognitivo mejora con la aplicación del programa de ejercicios prácticos de estimulación cognitiva en adultos mayores. En nuestra investigación, si bien nuestra muestra fue sustancialmente menor, y el rango etario comprendía entre 55-65 años, se observaron mejoras en las puntuaciones de las técnicas de evaluación aplicadas. Nuestras conclusiones coinciden con las de Garamendi Araujo y colaboradores en relación a que un programa de ejercicios prácticos de estimulación cognitiva mejora las áreas cognitivas.

Bentosela, M y Mustaca, A, en su review titulado "Efectos cognitivos y emocionales del envejecimiento: aportes de investigaciones básicas para las estrategias de rehabilitación", postulan que el envejecimiento normal produce una serie de cambios que

se presentan asociados a una declinación general de las funciones fisiológicas. Como consecuencia surge un conjunto de déficit conductuales, cognitivos y emocionales. Sus resultados muestran un deterioro de los procesos cognitivos, especialmente de la memoria y las funciones ejecutivas, una persistencia en las respuestas previamente aprendidas y una desregulación frente a situaciones de estrés. Revelan una disminución de la plasticidad neuronal. Estos resultados se observaron en nuestra investigación, en la que se presenta la dificultad para manejar diversas variables en forma simultánea, dificultad en el control inhibitorio tanto motor como verbal, en la capacidad de abstracción, alteración en el recuerdo diferido de material visual, así como en la evocación del mismo. Las mismas autoras remarcan la importancia de los aspectos emocionales en el envejecimiento, donde plantean la presencia de anhedonia, desinterés y dificultad para el procesamiento de la información emocional. En nuestra investigación esta variable no fue contemplada, observando que durante el transcurso de la misma, esta variable ha tenido injerencia en el desempeño funcional de las participantes.

Bibliografía

1. Allegri RF, Bagnati, PM, Brucki S y Nitriti R.(2013) South America's AD Clinical Trials Experience: Lessons Learned from Argentina and Brazil. *Dementia Clinical trials*.; 218- 230.
2. Alverdi Sodupe, J; Taboada, O; Castro Deno, C. y Vazquez Ventoso, C. (2015) Depresión. Guías clínicas (internet), 2006 (consultado el 6 de Enero de 2015). Disponible en <http://www.mundonets.com/normas-apa/>
3. Amor Andrés, S y Martín Correa, E. (2006) Deterioro cognitivo leve. En *Tratado de Geriatria para residentes* Cap. 16;169-172. Septiembre 2016. Sitio web: <http://www.anme.com.mx/libros/Tratado%20de%20Geriatr%EDA%20para%20Residentes.pdf>
4. Ardilla, A y Rosselli, M. (2007) *Neuropsicología clínica*. Editorial Manual Moderno, Mexico.
5. Bentosela, M y Mustaca, A. (2005) Efectos cognitivos y emocionales del envejecimiento: aportes de investigaciones básicas para las estrategias de rehabilitación. *Interdisciplinaria*, Vol. 22 (2); 211-235.

INDAGACIÓN DE FACTORES LABORALES ESTRESORES Y PROTECTORES PERCIBIDOS POR LOS TRABAJADORES DE LA SALUD DE TRES HOSPITALES PÚBLICOS DE MENDOZA.

Equipo: Claudia Motta; Shirley Espósito; Patricia Castro; Gladys García

Instituciones: Dirección de Salud Mental y Adicciones. Ministerio de Salud

Contacto: claudiamottaw@yahoo.com.ar

Programa Incentivo institucional

Introducción

Nuestro objetivo principal fue indagar qué factores estresores y qué factores protectores, asociados al ámbito del trabajo, son percibidos por los trabajadores de la salud pública en las siguientes instituciones dependientes del Ministerio de Salud de Mendoza: Hospital Scaravelli (Tunuyán), Hospital Sícoli (Lavalle) y Hospital Central (Ciudad Mendoza). Con el propósito de facilitar, a posteriori, la construcción participativa de políticas más específicas, pertinentes y amplias para el cuidado del recurso humano en el ámbito de la salud pública de la provincia.

Método

Estudio Cualitativo, Exploratorio y Descriptivo. Las técnicas de recolección de datos que utilizamos, propias del estudio cualitativo, fueron las Entrevistas en Profundidad y los Grupos Focales. Con el criterio de búsqueda de la saturación de información, la cantidad de grupos focales y la cantidad de entrevistas a realizar, dependió del tamaño del efector, de la diversidad que proporciona la estructura formal y del nivel de complejidad de los Hospitales. La muestra inicial, fue intencional y dirigida. Estuvieron invitados a participar de la muestra, todo personal de planta perteneciente a los Hospitales Scaravelli, Sícoli y Central de todos los servicios.

Resultados

Hospital Scaravelli

La población de la investigación que participó fue de diversos servicios y áreas: Salud Mental, Pediatría, Lavandería, Costurería, Enfermería de distintos servicios, Mantenimiento, Trabajo Social, Medicina Laboral, Recursos Humanos, el Directorio.

Los principales factores estresores percibidos por los participantes de la muestra, se manifiestan principalmente en los siguientes items: Falta de protocolos tanto de funciones como de procedimientos, lo cual involucra a la falta de comunicación formal.

- Falta de competencias en liderazgo, percibido por los colaboradores hacia el superior, lo que genera falta de confianza para resolver situaciones, desmotivación hacia la tarea y escasa cooperación.
- Percepción de falta de receptividad hacia las no conformidades de los trabajadores.

Por el contrario, los principales factores protectores percibidos por los participantes de la muestra, se manifiestan principalmente en los siguientes items:

- Poseer los protocolos necesarios para llevar a cabo la tarea.
- Valoración positiva del líder con un estilo de mando que desarrolla confianza hacia éste y que propicia un clima laboral favorable hacia la cooperación entre pares y con otros servicios.
- Posibilidad de contar con un servicio activo (Medicina Laboral) en relación al cuidado del personal.

Hospital Sícoli:

Participaron personas pertenecientes a distintos servicios y áreas: Limpieza, Nutrición, Enfermería de distintos servicios, Directorio, Odontología, Farmacia, Cardiología, Trabajo social.

Los factores estresores más importantes a los cuales hicieron referencia fueron:

- Intenso malestar relacionado con el cambio constante de directores, con la incertidumbre que ello ocasiona.
- Fisura entre la Organización propiamente tal y los Equipos que la componen. Se observan compartimentos estancos, con las pérdidas de posibilidades de mejoras que ello conlleva, al perderse la oportunidad de la retroalimentación.
- La percepción de la falta de competencias de las personas que ocupan puestos rela-

cionados con tomas de decisiones.

- Falta de protocolos de funciones y procedimientos, lo que ocasiona desorden y por lo tanto sobrecarga de tareas, relaciones interpersonales problemáticas, falta de cooperación.
- Sufrimiento en relación a los recursos físicos. Refieren sentirse afectados por la falta de habilitación; equipamiento e insumos, inservibles o inexistentes.

El factor protector más relevante, se encuentra en las relaciones informales:

- Reuniones informales para las descompresiones (catarsis), aunque no signifique resolución del problema.

Hospital Central

Participaron personas de distintos servicios y áreas: Otorrinolaringología, Fonoaudiología, Directorio, Admisión, Capacitación, Kinesiología. Es muy importante advertir que no participaron servicios considerados críticos (por ejemplo la Unidad de Terapia Intensiva, Guardia, Unidad Coronaria, etc.) ni otros servicios de apoyo (como la Administración, Limpieza, etc.).

Los factores estresores más recurrentemente referidos fueron:

- Falta de protocolos de procedimientos alineados a la Planificación Estratégica.
- Falta de autocuidado de algunos trabajadores en relación a la falta de registro temprano de malestares ocasionados por la tarea.
- Falta de insumos necesarios para dar respuesta a los usuarios.

Los factores protectores más recurrentemente referidos fueron:

- Protocolos de procedimientos certificados.
- Sentido de pertenencia otorgado por el status a través de la valoración positiva de la sociedad al Hospital Central.
- Confianza en el liderazgo del superior, en relación a la resolución de situaciones problemáticas del trabajo.

Comentarios Finales

ChristopheDejours, en 1993, abrió paso al marcado interés por el análisis de los proce-

son implicados en la lucha de los sujetos por mantener su equilibrio mental a pesar de las presiones patógenas ejercidas por la organización del trabajo, bajo el nombre de “psicodinámica del trabajo”.

Nos servimos de los escritos de Dejours (2009) para realizar un recorte en aquellos factores que pueden ser parte de los procesos peligrosos y que por ello, derivan en distintas patologías (elementos patógenos). Tal como plantea Dejours en sus investigaciones, en el estudio recientemente realizado, intentamos descubrir aquello que, en el enfrentamiento del sujeto con su tarea, pone en peligro su salud mental y por lo tanto, genera sufrimiento en el trabajo, lo cual impacta negativamente en el usuario de salud. Desde la Dirección de Salud Mental y Adicciones, proponemos reflexionar, de forma participativa, políticas más específicas, pertinentes y amplias para el cuidado del recurso humano en el ámbito de la salud pública de Mendoza.

Bibliografía

1. Alles M (2008) Gestión por competencias El diccionario. Editorial Granica Bs As
 2. Betancourt O (1999) Texto para la enseñanza e investigación en Salud y seguridad en el trabajo. OPS/OMS_FUNSAID Quito Ecuador
 3. Chiavenato I (2004) Introducción a la Teoría General de la Administración. 7ª edición Ed Mc Graw Hill
 4. De Barbieri A (2008) La convivencia de diferentes generaciones Una ecuación difícil de resolver. Septiembre 2016. Sitio web: <https://www.ucema.edu.ar/rrhh2008/download/barbieri/pdf>
- Echeverría R(2006) Ontología del lenguaje . Ediciones Granica S.A

CANINOS COMO CENTINELAS DEL RIESGO DE EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS ANTICOLINESTERÁSICOS EN ZONAS URBANAS Y RURALES DE MENDOZA

Equipo: Daniela Ferre; Eliana Saldeña; Andrea Naser; Lazaro Albarracín; Marcelo Tornello; Aldo Saracco

Instituciones: Departamento de Toxicología, Ministerio de Salud; Universidad J.A Maza

Contacto: danitasol@hotmail.com

Introducción

Los caninos intoxicados son una realidad en los consultorios veterinarios, con ausencia de denuncia obligatoria profesional, y de registros habilitados a tal fin. Internacionalmente, la casuística de mortandad de animales domésticos debido a plaguicidas es elevada; y los animales domésticos como perros y gatos se consideran buenos centinelas del uso de venenos en el medio natural (Sánchez Barbudo et al., 2012; Berny et al., 2010). Estas intoxicaciones suelen producirse en forma accidental por un correcto uso del plaguicida en cultivos o jardines, o en forma intencional, donde no son respetadas las concentraciones e indicaciones de uso del producto. Los plaguicidas son motivo de preocupación en el mundo por haber sido y ser cuantificados como uno de los principales contaminantes ambientales, en diferentes ecosistemas acuáticos, aéreos y terrestres con repercusiones negativas para individuos, poblaciones y comunidades (Hoffman et al., 2003).

Los animales de compañía comparten un ambiente común con las personas y muchos tienen una movilidad geográfica limitada (William et al., 1999). En muchos casos tienen respuestas biológicas similares a los humanos pero con menores tiempos de latencia, varios modelos de cáncer de presentación natural en perros incluyendo cánceres asociados con exposición a plaguicidas proveen información a partir de animales. Estas condiciones permiten considerarlos como centinelas o indicadores del riesgo para la población respecto a la exposición a plaguicidas.

Los plaguicidas pueden producir toxicidad aguda, donde es necesario disponer de los métodos de diagnóstico bioquímicos o analíticos; y toxicidad crónica donde es impres-

cindible disponer de biomarcadores de genotoxicidad asociados con defectos genéticos en el mantenimiento del genoma, envejecimiento acelerado, daño genotóxico, algunas enfermedades degenerativas y cáncer (Holland et al., 2008, Ceppi et al., 2010). En ambos casos se pueden utilizar animales que pueden actuar como centinelas, definidos por Stahl (1997) como cualquier organismo no humano que puede reaccionar a un contaminante ambiental antes de que el contaminante impacte en el ser humano, que responde al contaminante ambiental en una forma particular.

El objetivo del trabajo fue investigar perros con signos de intoxicación por plaguicidas, con métodos bioquímicos y analíticos orientativos y confirmatorios del agente causal, y evaluar los efectos en la salud genética, para ser usados como centinelas del riesgo de los plaguicidas para la salud humana tanto en la intoxicación aguda como en la prevención de enfermedades crónicas.

Método

La población de estudio fue caninos de zonas urbanas y rurales que son llevados a consulta con signos de intoxicación. Se tomaron muestras de sangre y/o contenido estomacal de 11 caninos intoxicados (dos veterinarias de Bermejo y una de Los Corralitos, Guaymallén, durante Julio 2015-Abril 2016). Se realizó diagnóstico de intoxicación con plaguicidas por sintomatología a través del examen clínico general e inhibición de la actividad BChE en plasma por método cinético que se comparó con valores obtenidos de 12 caninos controles. Se identificaron los agentes causales por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y/o por Cromatografía en Placa Fina (TLC). Se evaluaron los datos indicados del CIAT. Se realizó el ensayo de Micronúcleos-citoma bucal (Thomas, et al., 2009) en células de mucosa bucal de 23 caninos de zonas rurales y se establecieron valores de referencia con caninos de zona urbana. Se relevaron los números y tipos de 103 casos de neoplasias caninas durante 2015-2016 en las veterinarias mencionadas a través de acceso a sus registros; y se compararon con los ocurridos en la población, según el Registro provincial de tumores quinquenio 2003-2007, Ministerio Salud, Mendoza. Para el análisis estadístico se utilizó el software GraphPadPrism 5.0. La actividad BChE en los grupos intoxicados vs grupo control fueron analizadas mediante test T. Las variables correspondientes al ensayo de Micronúcleoscitoma bucal fueron analizadas mediante el test ANOVA y post-test Bonferroni.

Resultados

Los caninos intoxicados fueron 5 hembras y 6 machos adultos; 8 mestizos y 3 de razas puras; 9 intoxicados vivos y 2 muertos; 9 de los casos se presentaron en la veterinaria de Bermejo en el mes de noviembre, todos en el transcurso de 5 días, 1 en el mes de

diciembre, y 1 en febrero 2016. Excepto un animal, todos habitaban en casas familiares con propietarios. Todos los animales presentaron sintomatología de intoxicación compatible con compuestos anticolinérgicos, plaguicidas carbamatos y/o organofosforados.

De los casos de intoxicaciones anteriormente citadas, se detectan dos plaguicidas causales: carbofuran y aldicarb. Carbofuranes, un carbamato de acción sistémica y de contacto, de uso insecticida y nematocida en agricultura. Está incluido en la lista de plaguicidas altamente peligrosos de la Pesticide Action Network (PAN, 2014) y en la clasificación de toxicidad aguda de la Organización Mundial de la Salud es categoría Ib, producto altamente tóxico (WHO, 2009). En Argentina el carbofuran está prohibido en peras y manzanas por decreto 2121/90, y cancelada la inscripción y la autorización de uso y comercialización por disposición 2367/2006 (SENASA). El aldicarb es un insecticida carbamato que se utiliza por su acción nematocida y acaricida. Los principales metabolitos biológicamente activos del aldicarb son plaguicidas sistémicos. La OMS ha clasificado toxicológicamente al aldicarb como extremadamente peligroso (OMS, 2004b y PAN List, 2011). Según la IARC (Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer) (1991) pertenece al grupo 3 en el cual el agente (mezcla o condición de exposición) no puede ser clasificado respecto a su carcinogenicidad para el ser humano. El aldicarb en nuestro país tiene estrictas restricciones para su uso (SENASA Decreto 2121/1990). Las mismas contemplan las dosis utilizadas, temperatura y humedad de la tierra, contenido de materia orgánica y precipitaciones anuales.

La media de los valores de referencia de actividad de BChE en sueros de caninos hembras y machos de la ciudad de Mendoza obtenidos fue $4390,69 \pm 1548,44$; mientras que la media de los animales intoxicados vivos fue $3086,66 \pm 774,15$ y la de los animales muertos $336,5 \pm 154,85$. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre la actividad de BChE del grupo control y el grupo de animales intoxicados con un valor de $p \leq 0,05$.

Las alteraciones nucleares presentes en 1000 células de epitelio bucal de caninos adultos sin exposición a plaguicidas y expuestos en forma crónica a plaguicidas, obtenidas a través del ensayo de micronucleo-citoma bucal con coloración de Giemsa, no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

El análisis del relevamiento de los casos de neoplasias caninas indicó que el grupo estuvo compuesto por 27 machos y 76 hembras; 52 perros mestizos y 51 de raza pura, una proporción muy similar en ambos grupos sin diferencias significativas. Las razas representadas en los caninos estudiados fueron catorce y los tipos de cánceres son: mama, piel, linfoma, bazo, vagina, boca, escroto, carcinomas y adenomas. Estos son los principales tipos de tumores histológicos en la población en estudio según la frecuencia de presentación: lipoma 14,3%, linfoma 14,3%, tumor venéreo transmisible 12,5%,

mastocitoma 12,5%, melanoma 10,7%, carcinoma 8,9%. Paralelamente, se analizaron los registros de 21911 casos de neoplasias en humanos registradas en Mendoza en el período de 2003- 2007. Se presenta la tasa de incidencia ajustada para los diez primeros sitios tumorales en Mendoza 2003-2007 (n = 10.551 varones) y (n= 11.360 mujeres): en varones próstata 40,9%, pulmón 24,4%, colon-recto 23,9%, vejiga 14%, estómago 12,7%. En mujeres mama 73,2%, colon-recto 17,6%, útero 14,1%.

En el análisis de los registros de intoxicaciones del Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico de Mendoza durante los años 2010 y 2015 fueron registradas 9628 intoxicaciones, de las cuales 1153 correspondieron al año 2010, 1445 al 2011, 1591 al 2012, 1699 al 2013, 1783 al 2014 y 1957 al año 2015. Los datos epidemiológicos analizados fueron: edad de los afectados, intencionalidad, época del año y agente causal. Los rangos etarios más afectados por intoxicaciones fueron de 1-9 años 57,54%, 10-19 años 9,32%, de 20-29 años 9,54%. El 78,5% de los casos fueron accidentales. En los meses de octubre, noviembre, diciembre y marzo se presentó el mayor número de casos. Los principales agentes de las intoxicaciones son los medicamentos 38,5%, plaguicidas 19,1%, productos del hogar 15,77% y productos industriales 13,74%. Los principales compuestos plaguicidas de uso doméstico que causaron las intoxicaciones fueron rodenticidas warfarínicos 37,17%, piretroides 23,58% y organofosforados 7,20%; mientras que los principales plaguicidas agrícolas fueron carbamatos 24,66%, organofosforados 24,12% y herbicidas 13,00%.

Comentarios Finales

Los casos de animales intoxicados estudiados en el presente trabajo permitieron exponer a dos plaguicidas agrícolas como agentes causales de las intoxicaciones de caninos, carbofuran y aldicarb. Estos datos imitan las principales causas a nivel internacional de intoxicación de animales (Soler et al, 2006; Vandenbroucke et al., 2010). El carbofurana nivel mundial, es uno de los insecticidas más utilizados para envenenar animales (Guitart et al., 1999, 2000; Sánchez Barbudo et al., 2012) y se han registrado intoxicaciones y muertes (accidentes laborales, suicidios, asesinatos) en varios países (Karunarathna y Udugampala, 2013). La mayoría de los casos de intoxicación en animales de compañía resulta de la exposición a insecticidas, si bien los rodenticidas poseen un riesgo significativo (Berny et al., 2010). El carbofuran se comercializa en diferentes formulaciones que rondan el 10-33% del principio activo y la DL50 en perros es de 19 mg/kg 8 (HSDB, 2014). El aldicarb es introducido al mercado con el nombre de Temik en 1962. Se presenta como cristales incoloros con olor sulfuroso. Es un plaguicida de uso agrícola pero ha estado presente en algunos países a la venta como plaguicida doméstico para el control de roedores con venta libre (Mariño-Gaviria y Patiño-Reyes, 2015). El aldicarb es uno de los insecticidas usados para envenenar fauna silvestre y doméstica, a través de

la preparación de cebos que nunca son selectivos y por lo tanto pueden acabar con la vida de cualquier especie animal, mamífero, aves, reptiles (García Fernández et al., 2006) y accidentalmente humana. La DL50 del aldicarb oral en ratas es de 0,93 mg/kg pv. (Risher et al., 18987)

A nivel mundial los caninos son los principales animales que sufren intoxicaciones (Berny et al., 2010). Los envenenamientos accidentales de animales debidos al uso legal y adecuado de plaguicidas son escasos, al igual que el uso inadecuado por concentraciones elevadas. La mayoría de las intoxicaciones se producen por la colocación de cebos envenenados con el fin de matar animales, como se presume que ocurrió con 9 de los casos presentados en el presente trabajo.

En las intoxicaciones con inhibidores de colinesterasa (ChE), como lo son carbofuran y aldicarb, un aporte diagnóstico importante es la determinación de la actividad de esta enzima en sangre y cerebro. Los signos clínicos son visibles cuando la actividad de la ChE cerebral está inhibida >70% y la BChE en plasma > 50% (Talcott y Peterson, 2006). En estos casos la determinación de la actividad BChE es utilizada para monitorizar en animales vivos la exposición y diagnosticar las intoxicaciones (Maia et al., 2012).

Los efectos genotóxicos en los organismos vivos pueden ser monitoreados mediante el empleo de biomarcadores como son los resultados del ensayo micronúcleo citoma bucal (Mudryy Carballo, 2006). Los resultados de nuestro estudio no demostraron que exista diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de células micronucleadas y otras anomalías nucleares entre el grupo de caninos controles y los caninos que habitaban zonas rurales donde habitualmente se aplican plaguicidas. Los animales de compañía comparten un ambiente común con las personas y muchos tienen una movilidad geográfica limitada (William et al., 1999), y en este caso el ambiente urbano que habitaban los caninos controles muestreados es el mismo que comparten con sus dueños. Por ello, debido a que los animales domésticos son expuestos a diferentes agentes que pueden contribuir a la permanencia del daño genético (Rubes et al., 1997; Šutiaková et al., 2004; Szczerbal et al., 2006); es importante obtener valores de referencia en cuanto a nivel de daño genético para que pueda evaluarse el efecto de posibles accidentes por genotóxicos químicos, físicos o biológicos.

El análisis de los casos de neoplasias en caninos relevados confirma que esta enfermedad se presenta en la últimas etapas de la vida del animal. El 30% de los cánceres humanos se originan en el tipo de dieta y cocción de los alimentos. En los animales los factores ambientales pueden interactuar con los procesos infecciosos y conducir a una estimulación del proceso carcinogénico (Anwar, 2003). En las últimas décadas se ha producido un creciente interés por la oncología comparada, en gran parte debido al aumento en la comprensión de la necesidad de disponer de sistemas biológicos

básicos de monitoreo ambiental. Cuando se comparan las estadísticas de cáncer en humanos y caninos es posible obtener información útil a los fines de la oncología comparada. Desafortunadamente en nuestro país no tenemos un Registro Nacional en ninguna de las dos especies. Los tipos de cánceres que surgen de nuestro estudio en esta primera exploración como compartidos por el hombre y canino son linfoma, mama y vagina. Esta es una aproximación al problema por cuanto no abarca toda la población canina de Mendoza, porque carecemos de registros unificados, y porque la población humana con registros disponibles corresponde al quinquenio 2003- 2007, pero es un sencillo ejemplo de cuánto se podría estudiar en oncología comparada en estas 2 especies, que comparten en gran proporción el ambiente cotidiano.

Bibliografía

1. Berny P, Colony F, Croubels S, Sachana M, Vandenbroucke V, Davanz F y Guitart R. (2010). Animal poisoning in Europe. Part 2: Companion animals. *Vet J* Vol.183; 255-259.
2. Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT), MENDOZA. Informe de los años 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 y 2015.
3. Guitart R, Mañosa S, Guerrero X y Mateo R. (1999). Animal poisonings: the 10-year experience of a veterinary analytical toxicology laboratory. *Vet Human Toxicol* Vol. 41;331-335.
4. Guitart R, Sachana M, Caloni F, Croubels S, Vandenbroucke V y Berny P. (2010). Animal poisoning in Europe. Part 3: Wildlife. *Vet J* Vol.183;260-265.
5. Hazardous Substances Data Bank (HSDB) (2014). Data base of National Library of Medicine's Toxnet System. Septiembre 2016. Sitio web: <http://toxnet.nlm.nih.gov>

BIOMARCADORES NO UTILIZADOS EN INSUFICIENCIA CARDÍACA. RELACIÓN CON HIPERTENSIÓN PULMONAR SECUNDARIA A INSUFICIENCIA CARDÍACA IZQUIERDA

Equipo: Roberto Jorge Bonafede; Julia María Fausti; María Paula

Instituciones: Servicio de Cardiología, Hospital Central; Universidad Nacional de Cuyo.

Contacto: bonaso2002@yahoo.com.ar

Introducción

Los biomarcadores se definen como variables biológicas que dan información sobre enfermedades concretas, en este trabajo se analizan posibles nuevos biomarcadores de insuficiencia cardíaca. Cada vez son más las estudiadas que reflejan distintos aspectos de la fisiopatología de la IC (insuficiencia cardíaca). Los sistemas neurohumorales evaluados hasta ahora en IC son los publicados por Richards y col. en 2009 y Braunwald. Los más utilizados actualmente y con éxito por su valor diagnóstico y predictivo en IC son entre los marcadores neurohumorales, los péptidos natriuréticos cardíacos de tipo B (BNP, NT-proBNP y proBNP).

Consideramos necesario abordar este tema porque la IC es la vía final común de afecciones miocárdicas de múltiples etiologías y de lo que se denomina en epidemiología cardiovascular enfermedad cardiovascular, en estrecha relación con condiciones socioeconómicas. Es la secuencia, también denominada "continuo cardiovascular", de hipertensión arterial, obesidad, diabetes, tabaquismo, dislipidemias, enfermedad coronaria aterosclerótica, infarto de miocardio, miocardiopatía e IC. La ECV (enfermedad cardiovascular) sigue siendo un problema mundial importante.

Un sistema con importante participación en el desarrollo del síndrome de IC como es el del óxido nítrico (ON) no evaluado suficientemente desde la perspectiva de los biomarcadores, es aún un tema pendiente de estudio. Si bien se han identificado recientemente, marcadores de señalamiento ON deteriorados la utilidad clínica es limitada porque las técnicas no son óptimas y no hay ensayos de gran tamaño.

El descenso en los niveles de ON es un factor fundamental en la vasoactividad y remodelación vascular pulmonar en los pacientes con HP (hipertensión pulmonar) secundaria a falla cardíaca izquierda que se suma a la congestión vascular. La importancia del ON radica entonces en que ejerce múltiples acciones sobre la función cardíaca, el

endotelio y la circulación pulmonar. El estudio de su biosíntesis y de la relación de uno o más productos de la misma con la evolución de la IC puede ser un nicho de investigación que aporte nuevos conocimientos sobre el diagnóstico, tratamiento y evolución de esta enfermedad.

El objetivo general es saber si los pacientes con ICC (insuficiencia cardíaca crónica) e HP tienen valores inferiores de nitrito/nitrato y SOD y superiores de ERO y NADPH oxidasa, en relación a los que no tienen HP.

La producción de anión superóxido conduciría a una inactivación de ON por su unión al mismo produciendo otra ERO llamada peroxinitrito que si bien menos tóxico que el anión superóxido, también es tóxico y entre otras acciones contribuye a la disfunción endotelial de varias maneras incluida la disminución de la accesibilidad del ON y por lo tanto de la vasodilatación. Nitratos/nitritos son los productos finales del ON, siendo medible solo el nitrito por ser más estable. La NADPH oxidasa es el sistema más eficiente produciendo especies reactivas de oxígeno en la IC en donde está estimulado el sistema renina-angiotensina como ocurre en la IC. La injuria celular por estrés oxidativo ocurre cuando las ERO se acumulan en exceso y superan a los mecanismos de defensa del huésped. La actividad de la NADPH oxidasa está altamente implicada en la inducción de la apoptosis y de la fibrosis porque produce anión superóxido. La enzima superóxidodismutasa (SOD), antiguamente hemocupreína y eritrocupreína, cataliza la dismutación de superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Debido a esto es una importante defensa antioxidante en la mayoría de las células expuestas al oxígeno.

Se quiere demostrar, entonces, la utilidad de nitritos/nitratos, ERO y NADPH oxidasa y SOD como biomarcadores predictores de evolución en ICC en relación al desarrollo o no de HP. El objetivo específico es determinar valores de nuevos biomarcadores con distintos métodos bioquímicos, evaluar parámetros clínicos, presión sistólica pulmonar, función ventricular izquierda y función ventricular derecha.

La hipótesis de este trabajo es que en todos los pacientes con IC los nitritos están disminuidos, NADPH oxidasa y ERO están aumentadas y SOD disminuida y que estos cambios son mas marcados en los pacientes que tienen HP secundaria a falla izquierda (grupo A).

Método

Es un estudio observacional, transversal con un número de enfermos según criterios de inclusión y exclusión que el diseño clínico y las condiciones operativas del centro permitieron hasta la fecha.

La población son pacientes que padecen ICC con FVI (función ventricular izquierda) disminuida y concurren a la Unidad de Insuficiencia Cardíaca del Hospital Central de Mendoza entre el 10/08/15 y el 30/05/16. De esa población fueron seleccionados los enfermos que cumplían los criterios de inclusión. Se incluyeron 13 pacientes, 2 mujeres (15%) y 11 hombres (85%), grupo A con HP (PSP \geq 40 mmHg) 7 (54%) y grupo B sin HP (PSP < 40 mmHg) (46%). El promedio de edad fue 53.84 ± 6.10 . Se separaron en dos grupos de similares características respecto a sexo, edad, estadio, tratamiento y clase funcional, grupo A: con HP, considerados de peor pronóstico y grupo B sin HP.

Criterios de inclusión

- 1) Consentimiento Informado escrito firmado.
- 2) Persona capaz de comprender y prestar consentimiento escrito en forma voluntaria.
- 3) Edad mayor o igual de 18 años, sin distinción de sexo y sin límite de edad superior.
- 4) Pacientes con diagnóstico de ICC de más de 3 meses anteriores a la inclusión con o sin HP, en tratamiento con IECA o ARAII, β bloqueantes y antialdosterónicos.
- 5) Pacientes que han llegado a estadios C (daño estructural con síntomas CF II disnea a esfuerzos habituales o III disnea a mínimos esfuerzos) o D (IC avanzada CF IV disnea de reposo), mejorados a estadio B (daño estructural sin síntomas) o C, es decir que han llegado a la etapa sintomática de la IC y que están al momento de la inclusión, en CF I (disnea a grandes esfuerzos) o II de la NYHA porque han evolucionado favorablemente con tratamiento médico, electrofisiológico (marcapaso definitivo, resincronizador o cardio desfibrilador implantable), hemodinámico (angioplastia con o sin implante de stent) o quirúrgico (cirugía de válvula mitral o revascularización).

Se recabaron datos clínicos mediante interrogatorio, examen físico y test de caminata de seis minutos. Se utilizó electrocardiograma CardiolaF®, ecocardiograma Sonosite®, equipo de rayos x, las imágenes se observaron en la red informática del hospital. Todos los instrumentos se estandarizaron según normas internacionales.

Para las determinaciones de biomarcadores investigados las técnicas fueron:

- 1) Determinación de nitritos y nitratos en plasma: método colorimétrico.
- 2) Determinación de ERO: espectro-fotometría a 515 nm.
- 3) NADPH Activity Assay: técnica de luminol
- 4) Superóxido dismutasa: autoxidación alcalina del 5, 6, 6a, 11 b-tetrahidro-3,9,10-trihidro Benzo (c) fluoreno (R1).

El instrumento de recolección de datos fue el "Formulario de Inclusión de Pacientes"

(FIP) luego se volcaron a una planilla Excel. El primer paso fue determinar si la PSP era medible por ecocardiograma doppler realizado recientemente o a realizar, una vez conocido su valor se le propuso a los pacientes ingresar al estudio tras explicación pertinente y si el paciente aceptaba se le entregaba el CI y una copia de la dieta pobre en precursores de ON para firmar y tomar la muestra de sangre en la próxima visita. En la misma se intentaba realizar en el mismo día ECG, Rx de torax, y test de caminata de seis minutos y se solicitaba laboratorio general si no se poseían datos recientes. A veces se lograba y otras, si el tiempo del paciente o las condiciones operativas del hospital no lo permitían, se hacía en distintos tiempos. Obtenida la muestra de sangre, se trasladaba en el mismo día manteniendo la cadena de frío al Área de Farmacología de la FCM de la UNCuyo para hacer las determinaciones de las sustancias investigadas. Los datos de la planilla Excel se trasladaron al programa GrahPadInsTat siendo analizados con t-test pareado. Los resultados se expresan como porcentajes para variables categóricas y como media con su desvío estándar para las continuas. Se consideró diferencia estadísticamente significativa $p < 0.05$.

En el diseño de este trabajo se han tenido en cuenta los principios básicos de la bioética, fue aprobado por el Comité de Etica en Investigación del Hospital Central. Previamente a la protocolización, se firmó el CI por duplicado, manteniendo la confidencialidad de los datos del estudio de acuerdo con la ley de Protección de Datos Personales aplicable en la República Argentina (ley 25326).

Resultados

Los datos más importantes se detallan en la tabla 1, en rojo se mencionan los anormales

N	Sexo	Edad	Etiología	CF	DDVI mm	Fey%	VD mm	EST mm	PSP mmHg	Nitritos	ERO	NADPH	SOD	6°%	DISN Borg
1	M	54	valvular	1	66	44 (SP)	18.4	No dis.	19	15	395	90	14	83	1
2	M	62	idiopática	2	78	22 (Teich)	53	12	48	14	393	85	13	47	3
3	M	53	valvular	2	87	15 (SP)	42	14	39	10	415	110	13	64	1
4	M	65	idiopática	1	76	26 (SP)	41.8	No dis.	30	15	390	90	12	78	4
5	M	42	viral	1	71	18 (SP)	48	14	56	14	400	100	10	68	2
6	F	54	idiopática	1	70	24 (SP)	34	14	39	16	395	95	14	83	1
7	F	50	idiopática	1	79	23(SP)	40	18	50	12	400	100	15	78	1
8	M	52	viral	1	67	18 (SP)	18	17	44	5	600	225	9	74	0
9	M	60	chagas	1	68	37 (SP)	43	No dis.	35	6	550	180	8	No dis.	
10	M	54	isquémica	1	77	36 (Teich)	No dis.	No dis.	25	5	610	210	8	No dis.	
11	M	56	HTA	2	77	27 (Teich)	43	No dis.	45	0	1000	400	5	65	2
12	M	47	HTA	1	65	26 (Teich)	No dis.	15	47	5	200	600	10	No dis.	
13	M	51	isquémica	2		36 (SP)	No dis.	17	46	0	1000	395	6	112	3
14	M	53	HTA				46								
15	M	84	HTA												

De estos datos se utilizaron para el análisis estadístico la PSP y los valores de nitrito, ERO, NADPH oxidasa y SOD que se expresan como UFR x mcg de proteína(VR 25±2), UFR x ml x min. incubación (VR 301,66±17,55) , UFR x min incubación (VR 61,66±12,58) U/ml (VR 17,66±2,51) respectivamente.. Los demás datos se registraron para ser usados en futuros subanálisis.

La diferencia respecto de nitritos entre los grupos A y B fue P=0.2390, no significativa; para ERO=0.7462, diferencia no significativa; para NADPH oxidasa P=0.1158, diferencia no significativa y para SOD la diferencia tampoco fue significativa (P=0.3421).

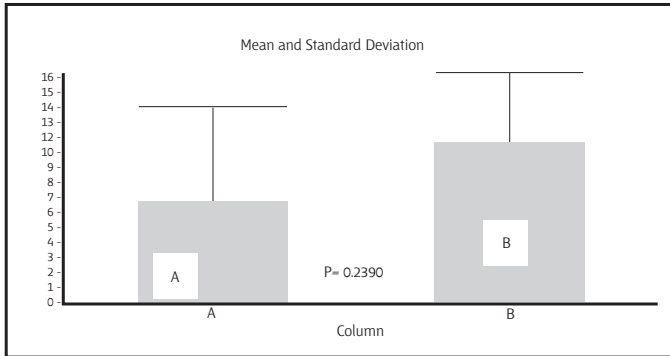


Gráfico 1 (nitritos)

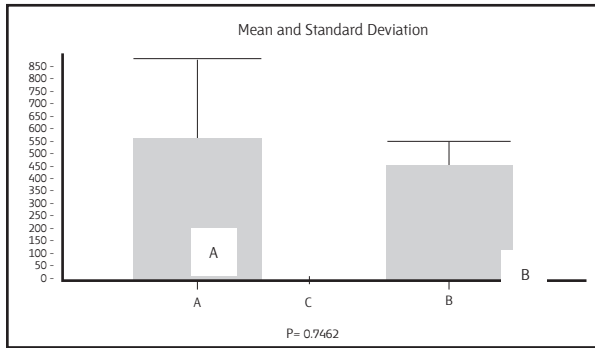


Gráfico 2 (ERO)

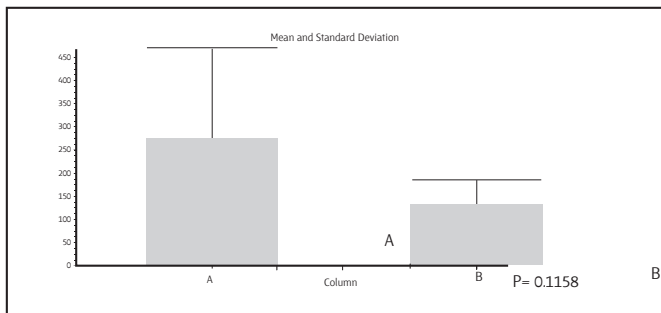


Gráfico 3 (NADPH oxidasa)

Comentarios finales

En la IC se encadenan varios cambios humorales y enzimáticos que tienen que ver con la mayor o menor PP: 1) aumenta la NADPH oxidasa, el sistema más eficiente produciendo ERO, principalmente anión superóxido que induce más apoptosis y fibrosis 3) la biodisponibilidad de ON disminuye porque la producción de anión superóxido conduce a su inactivación y además su síntesis está disminuida a partir de L-arginina, 4) el producto de la unión del anión superóxido con el ON, la ERO peroxinitrito también tóxico, contribuye a la disfunción endotelial de varias maneras incluida la disminución de la accesibilidad del ON y por lo tanto se deteriora el mecanismo de vasodilatación con consecuente mayor daño tisular, 5) la práctica ausencia de efectos sistémicos sobre la incapacidad del vaso para dilatarse como respuesta al incremento del flujo sanguíneo, parece deberse también a que el ON es rápidamente eliminado de la sangre, debido a la combinación con la hemoglobina para formar metahemoglobina con mayor disminución de su biodisponibilidad y por último 7) como un eslabón más de este encadenamiento de cambios bioquímicos, la acción antioxidante de la SOD (sobre la ERO anión superóxido) esta disminuida por disminución de esta enzima.

Existe abundante información teórica que sustenta el concepto de que el ON tiene acción selectiva sobre la circulación pulmonar lo que sustenta la hipótesis de este trabajo. Los resultados obtenidos mediante los métodos bioquímicos descriptos demuestran, hasta este punto de la investigación, que en todos los pacientes estudiados los productos finales del ON nitratos/nitritos están disminuidos, lo que podría ser expresión de la menor biodisponibilidad de ON en nuestros pacientes. Las ERO están aumentadas al igual que la NADPH oxidasa y la SOD está disminuida lo que indicaría mayor estrés oxidativo en los enfermos estudiados, lo mismo ocurre en los enfermos con HP (dos pacientes en este grupo tuvieron valores de nitritos no dosables informados como 0 cuando se los compara con los sin HP), lo que se relacionaría con mayor afección de la circulación pulmonar en estos enfermos por cierta selectividad de la acción del ON y de las ERO sobre la misma.

Este trabajo tiene limitaciones metodológicas y de diseño. Una es respecto de cómo medimos la PP. La HP se define como PPM > de 25 mmHg, dato que debería ser obtenido por registro directo mediante cateterismo derecho sin embargo por razones operativas se midió la PP midiendo en forma indirecta PSP por ecocardiograma doppler, definiendo HP como PSP > 40 mmHg. Indudablemente el registro directo de la PP es más real que el obtenido en forma indirecta pero el ecocardiogramadoppler es un método sensible para medir PSP y ventajoso por ser incruento. Mediciones no invasivas fueron comparadas con registros simultáneos o cercanos hechos es por cateterismo derecho. Las estimaciones de PSP fueran hechas en el 89% de los pacientes con alta seguridad ($r = 0.97$).⁷ Otra limitación fue que los ecocardiogramas no pudieron ser

hechos por el mismo operador por razones operativas del Hospital.

En cuanto al diseño hubiera sido preferible un seguimiento prospectivo longitudinal que permitiera evaluar el comportamiento de estos marcadores en el tiempo, tarea pendiente para nuestro grupo y otros en el futuro. El número de pacientes es pequeño por las limitaciones propias de un estudio clínico y las que implican estrictos criterios de inclusión; el aumento del tamaño de la muestra permitirá saber si las diferencias son significativas o no

Bibliografía

1. Richards AM (2009). What we may expect from biomarkers in heart failure. *Heart Fail Clin. N Engl J Med* Vol. 5;463-70
2. Braunwald E (2008). Biomarkers in Heart Failure. *N Engl J Med* Vol.358;2148-59.
3. Braunwald E (2013). *Tratado de Cardiología*, 9na edición, Barcelona, cap. 1, vol. 1; 19
4. Barry HT, Joshua M y Hare MD (2009). Biomarkers of Oxidative Stress in Heart Failure. *Heart Failure Clinics*, Vol.5(4);561-577.
5. Oxido Nítrico, protagonista de la enfermedad vascular, *Iladiba* (1998). Vol. 12(5); 35-38

BÚSQUEDA DE NUEVAS ESTRATEGIAS DIAGNÓSTICAS Y TERAPÉUTICAS PARA LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Equipo: Alicia B. Penissi; María L. Mariani; Elia del Carmen Martino; Laura Gisel Flores;

Instituciones: Hospital del Carmen (OSEP); IHEM CONICET, Universidad Nacional de Cuyo.

Contacto: apenissi@yahoo.com.ar

Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica, progresiva, degenerativa, inflamatoria y desmielinizante del sistema nervioso central (SNC) que afecta principalmente a adultos jóvenes. Es considerada una enfermedad autoinmune mediada por linfocitos CD4+ Th1 que atraviesan la barrera hematoencefálica. Las investigaciones científicas llevadas a cabo durante la última década, no sólo han incrementado sustancialmente los conocimientos acerca de la participación de las células T CD4+ en la patogénesis de la EM, sino también han demostrado la activa participación de otros componentes del sistema inmune, como los mastocitos, en la fisiopatología de la enfermedad.

Los mastocitos son células especializadas del tejido conectivo que liberan, en respuesta a la activación por estímulos externos, una gran variedad de mediadores biológicamente activos; juegan un rol central en la génesis y modulación de las respuestas inflamatorias celulares. Diversas evidencias experimentales demuestran que son componentes importantes de la inmunidad natural y adquirida. La estimulación de mastocitos conduce a una serie de mecanismos moleculares integrados denominados activación. Ésta provoca señales de membrana que inducen un aumento del calcio intracelular y la generación de tres respuestas diferentes: a) exocitosis de los gránulos secretorios que contienen moléculas bioactivas preformadas (proceso denominado degranulación), como histamina, -hexosaminidasa, triptasa, serotonina; b) síntesis "de novo" y secreción de mediadores lipídicos y c) síntesis "de novo" y secreción de citoquinas.

Se ha demostrado una clara correlación entre el número, la distribución y el estado de activación de los mastocitos de SNC de pacientes con EM. La lesión patológica más

característica de la EM es la placa de desmielinización, localizada principalmente en la sustancia blanca del SNC, especialmente en la región periventricular, el nervio óptico, el tallo cerebral, el cerebelo y la médula espinal. La distribución de los mastocitos dentro y alrededor de las placas de EM y los niveles incrementados de mediadores específicos de mastocitos encontrados en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con EM, como triptasa e histamina, sugieren que los mastocitos juegan un rol importante en la patogénesis de la EM. Además, se ha demostrado que los mastocitos pueden participar directamente en la destrucción de la vaina de mielina, a través de la secreción de enzimas proteolíticas, como la triptasa y la quimasa. Estas enzimas destruyen las proteínas que constituyen la mielina, como la proteína básica de la mielina (MBP) y la glicoproteína oligodendrocítica de la mielina (MOG). La MBP es una de las proteínas de la mielina más abundantes, se localiza en la superficie intracelular de las membranas de la mielina y participa en el mantenimiento de la estructura compacta de la vaina de mielina. La MOG es menos abundante que la MBP y se localiza en la superficie externa de la membrana de los oligodendrocitos. Por su posición estratégica, está directamente accesible a los anticuerpos y se cree que cumple un papel relevante como blanco de las respuestas inmunes celulares y humorales en esclerosis múltiple. Se sugiere así que la modulación de la activación de mastocitos podría proveer una nueva herramienta diagnóstica y terapéutica para el tratamiento de la EM.

En algunas provincias de nuestro país, como Mendoza, la EM constituye la segunda causa de discapacidad. Se considera que esta enfermedad aparece por la combinación de factores ambientales en personas genéticamente dispuestas a adquirirla. Sin embargo, la etiología es desconocida y hasta el momento no se dispone de terapias curativas o preventivas para la enfermedad. Los medicamentos existentes actualmente para tratar esta patología, tales como el interferón, son de muy alto costo. Se trata de una patología muy compleja que incluye numerosos procesos fisiopatológicos como inflamación, desmielinización, daño axonal y mecanismos de reparación, procesos que no se presentan uniformemente en las poblaciones de pacientes, sino que pueden predominar selectivamente en pacientes individuales. El desarrollo de terapias proceso-específicas sería imposible sin el uso de biomarcadores que reflejen el proceso blanco. Se necesitan nuevos marcadores de laboratorio que proporcionen mayor especificidad; en particular, marcadores relacionados con la desmielinización mediada por mastocitos.

En trabajos previos hemos demostrado que dehidroleucodina (DhL: lactona, insaturada purificada a partir de *Artemisia douglasiana*Besser) y xantatina (Xt: lactona, - insaturada purificada a partir de *Xanthiumcavanillesii*Schouw), poseen actividad antiulcerosa, antiinflamatoria e inhibidora de la activación de mastocitos inducida por estímulos

inmunológicos y no inmunológicos.

Considerando estos antecedentes, nuestras actuales hipótesis plantean que DhL y Xt inhiben la desmielinización inducida por activación de mastocitos en un modelo experimental de nervio óptico.

Objetivo general: Contribuir al desarrollo de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas para la esclerosis múltiple.

Método

Estudios clínicos

Se estudiaron 9 pacientes que ingresaron a la internación en el Servicio de Clínica Médica del Hospital del Carmen. Se determinaron los criterios de inclusión y exclusión. Se elaboró un riguroso protocolo diagnóstico y se solicitó consentimiento informado en todos los casos. Se analizó la distribución por sexo, zona geográfica, edad al diagnóstico, ocupación, residencia, historia familiar, características clínicas al inicio y durante el curso de la enfermedad y sistemas funcionales afectados. Se revisaron exámenes clínicos, exámenes de laboratorio, estudios electrofisiológicos, estudios por imágenes.

En el LCR utilizado para el diagnóstico se cuantificaron los niveles de la enzima mastocitaria -hexosaminidasa.

Se tomó como controles a pacientes con enfermedades no desmielinizantes.

Estudios básicos

Protocolo general (modelo "in vitro" de desmielinización inducida por activación de mastocitos).

Se utilizaron ratas machos adultas (Sprague-Dawley) ($n=24$), mantenidas bajo estricto control de alimentación, temperatura ($22\pm 1^\circ\text{C}$) y luz/oscuridad (luz 6:00 a 18:00 y oscuridad 18:00 a 6:00). Los animales fueron sacrificados y se disecaron los nervios ópticos, según el método de Wang y cols. (2008). El protocolo que se utilizó en el presente plan de trabajo se encuentra aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAL), Facultad Ciencias Médicas, U.N.Cuyo.

Los nervios obtenidos fueron incubados con:

1) buffer

2) compuesto 48/80 (secretagogo específico de mastocitos que induce liberación de mediadores mastocitarios del tejido conectivo del nervio óptico)

3) Dehidroleucodina + 48/80

4) xantatina + 48/80.

Las lactonas, DhL y Xt, fueron provistas por el Dr. Carlos Tonn (Depto. Química Orgánica, UN San Luis). Las dosis de las lactonas utilizadas se estableció por estudios dosis-respuesta previos (100 μ M) y el tiempo de incubación por estudios tiempo-respuesta (10min).

Cuantificación de serotonina

Se utilizó la serotonina como marcador de degranulación y se la cuantificó en el medio de incubación (serotonina liberada) y en el tejido (serotonina remanente) por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector electroquímico. Se calculó el porcentaje de liberación de serotonina.

Expresión de proteínas de la mielina

Se estudió la expresión de las proteínas de la mielina MBP y MOG por Western Blot en los nervios después de las incubaciones de los distintos grupos (Guo, 2010).

Las membranas de nitrocelulosa fueron incubadas con anticuerpo anti-actina (Sigma) como control de carga y los anticuerpos contra las proteínas de la mielina (MBP y MOG).

Después de lavados con buffer tris salino se incubaron con el segundo anticuerpo y a continuación, se revelaron por reactivos luminiscentes. El análisis de las bandas proteicas se realizó con el programa NIH Image.

Análisis morfológico

Se realizó microscopía electrónica de transmisión en los nervios sometidos a los distintos tratamientos para observar la morfología de la vaina de mielina.

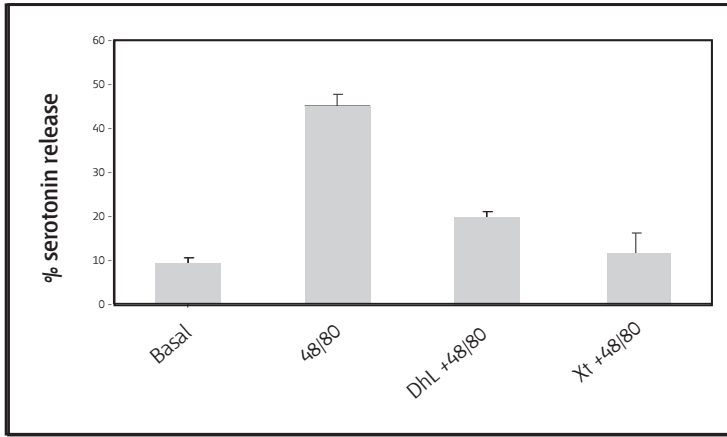
Tratamiento estadístico

Las diferencias entre los grupos fueron determinadas utilizando ANOVA-1/prueba de Tukey-Kramer. $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Resultados

Liberación de serotonina

El porcentaje de liberación de serotonina aumentó en los nervios ópticos incubados con el compuesto 48/80 respecto a los basales (nervios ópticos incubados con solución buffer: controles).



Western blot de MOG and MBP (1 y 2) de nervios ópticos controles

En las imágenes que se siguen a continuación se observa la expresión de MOG (Fig. 1) y de MBP 1 y MBP 2 (Fig. 2) en los nervios ópticos de las ratas controles.

Figura 1

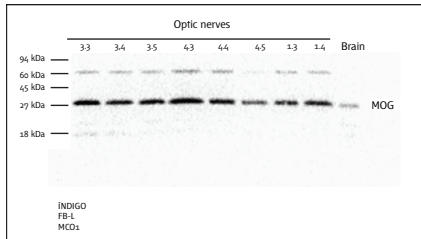
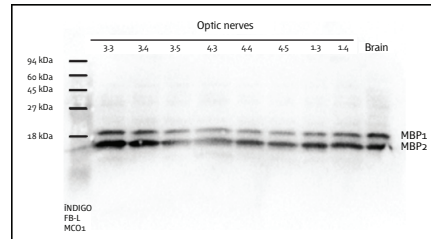


Figura 2



Western blot de MOG y MBP (1 y 2) en los grupos experimentales

Los nervios ópticos incubados con compuesto 48/80 (activador de la degranulación de mastocitos) mostraron una disminución de la expresión de MOG.

Cuando los nervios son incubados con DHL y XT más el compuesto 48/80, la expresión de MOG se restituye a los valores de los nervios incubados en condiciones basales ($P < 0,05$).

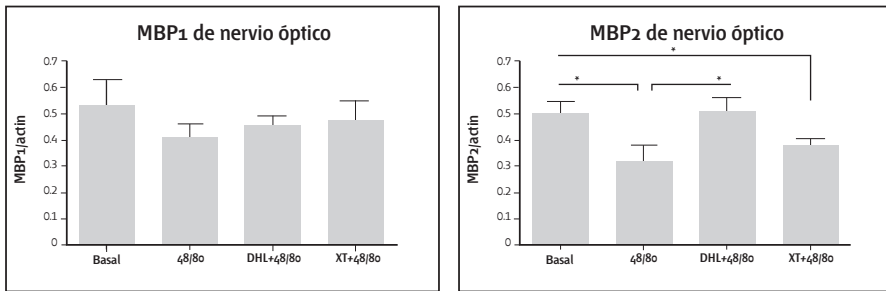
MOG de nervio óptico

La expresión de MBP1 no varía con los distintos tratamientos del nervio óptico.

La expresión de MBP2 disminuye en los nervios incubados con el compuesto 48/80 respecto a los basales. Esa disminución se revierte cuando los nervios son tratados con DhL alcanzando los valores de expresión de los basales.

Cuando los nervios son incubados con Xt, la expresión de MBP2 disminuye con respecto a los basales, adquiriendo valores similares a los de los incubados con el compuesto 48/80.

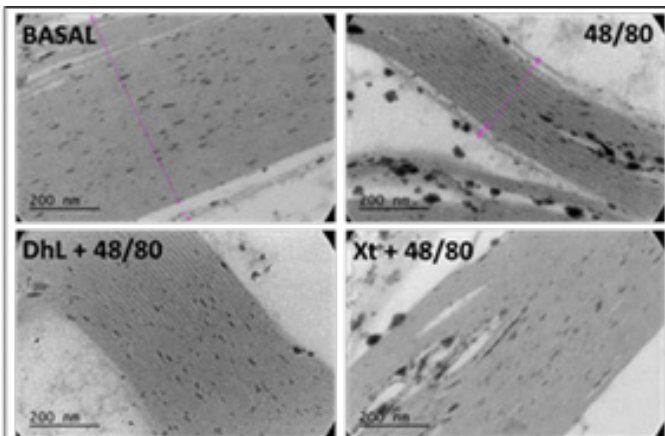
Estos resultados se muestran en los siguientes gráficos.



Microscopía electrónica de transmisión de los grupos experimentales

En las siguientes micrografías electrónicas se observa la vaina de mielina (M) de los nervios ópticos después de los distintos tratamientos.

En el grupo tratado con el compuesto 48/80 se observa una disminución del grosor de la mielina con respecto al grupo basal y a los grupos tratados con DhL y Xt.



Comentarios Finales

Si bien se considera que la esclerosis múltiple aparece por la combinación de factores ambientales en personas genéticamente dispuestas a adquirirla, se desconoce la etiología de la enfermedad y hasta el momento no se dispone de terapias curativas o preventivas.

En esta enfermedad, el análisis histopatológico muestra una acumulación de mastocitos en placas de EM. Además, la enzima específica de los mastocitos, la triptasa, fue elevada en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con la enfermedad. En nuestro trabajo, los pacientes con enfermedades desmielinizantes mostraron elevados niveles de otra enzima liberada por los mastocitos, la -hexosaminidasa en el plasma sanguíneo, versus aquellos pacientes que no padecían enfermedades desmielinizantes. A diferencia de la cuantificación en LCR, que requiere de un método invasivo; la medición de mediadores mastocitarios en el plasma sanguíneo aporta bases para un método menos invasivo para el diagnóstico de la enfermedad.

La esclerosis múltiple es una patología muy compleja que incluye numerosos procesos fisiopatológicos como inflamación, desmielinización, daño axonal y mecanismos de reparación. In vitro, proteínas de la mielina estimulan la degranulación de mastocitos y la liberación de proteasas por estas células, que a su vez, degradan la proteína básica de la mielina (MBP). En ratas, los mastocitos se pueden adherir a la mielina y liberar el contenido de sus gránulos a través de un mecanismo que implica a los "receptores scavengerA" expresados por los mastocitos. Además, estas células pueden fagocitar vesículas de mielina e interactuar con los oligodendrocitos. Nuestro trabajo contribuye al esclarecimiento sobre la participación de los mastocitos en la etiología de la enfermedad, dado que se pudo comprobar -en nuestro modelo in vitro- que la liberación de serotonina por los mastocitos está aumentada en los nervios tratados con el compuesto 48/80 (secretagogo de mastocitos del tejido conectivo) y que este efecto se revierte cuando los nervios son incubados conjuntamente con el secretagogo y los compuestos naturales.

Se conoce que la proteína básica de la mielina (MBP) presenta dos isoformas: una de mayor peso molecular (MBP1) y otra de menor peso molecular (MBP2). En cuanto a MBP1 de 21,5 kDa participa en la constitución estructural de la vaina de mielina y en la remielinización. Esta isoforma se sigue produciendo incluso por los oligodendrocitos altamente diferenciados y puede tener un papel protector en la inhibición de la apoptosis y el mantenimiento de rotación de la mielina.

El mismo esquema sigue el estudio de la expresión de las proteínas de la mielina.

Cuando los nervios ópticos son incubados con el compuesto 48/80, se encuentran disminuidas y este efecto se revierte al incubar los nervios con los compuestos naturales, además del 48/80.

Sólo hay una proteína, la MBP1 que no sigue el mismo patrón de comportamiento que la MOG y MBP2. Por otro lado, DhL parece tener un rol más protector que Xt cuando hablamos de la expresión de MBP2.

Esto hace necesario continuar los estudios para el esclarecimiento de los mecanismos de acción de los compuestos estudiados, al mismo tiempo que el comportamiento de las proteínas de la mielina MBP1 y 2.

Bibliografía

1. Bielekova B y Martin R(2004). Developments of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain* Vol.127;1463-1478.
2. Calvo A, Moglia C, Balma M y Chio A (2010): Involvement of immune response in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis: a therapeutic opportunity? *CNS & Neurological Disorders Drug Targets* Vol. 9;325-330.
3. Ebers GC (2008) Environmental factors and multiple sclerosis. *Lancet Neurol* Vol. 7;268-277.
4. Galli SJ, Grimaldeston M y Tsai M (2008) Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of immunity. *Nature* Vol 8;478-486.
5. Gandhi R, Laroni A y Weiner HL (2010) Role of the innate system in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* Vol. 221; 7-14.

MOTIVOS QUE FACILITAN U OBSTACULIZAN A LOS MÉDICOS DEL ÁREA DEPARTAMENTAL DE SALUD DE GODOY CRUZ, A REALIZAR EL EXAMEN DEL PIE EN PACIENTES CON DIABETES

Equipo: Irene Dávila; M. Candela Pizarro Casas; M. Daniela Sauma; Angel J. Suñer; Noelia Pizarro Molina; Alejandra A. Vergara Orihuela.

Instituciones: Centro de salud 204, Área departamental de Godoy Cruz.

Contacto: candepica@gmail.com

Programa Incentivo Institucional

Introducción

El examen de pie diabético es un ítem importante que puede influir en la evolución y calidad de vida del paciente. En la práctica diaria, los médicos se encuentran con factores motivacionales y limitantes para realizar el control sistemático de los pacientes. Si se generan omisiones en la revisión de los miembros inferiores del paciente diabético, no se recolectarían los datos necesarios para estadificar el riesgo del pie y podrían no tomarse las medidas adecuadas para prevenir las consecuencias que la enfermedad genera.

El objetivo de este trabajo es analizar si los médicos de atención primaria, que atienden a pacientes con diabetes, realizan el correcto examen de pie diabético, siguen las guías disponibles para la estandarización del examen, y si disponen del tiempo y los elementos necesarios para realizarlo. Otro objetivo fue crear un espacio donde los profesionales puedan expresar sus limitantes y nos cuenten sus representaciones sociales respecto al tema.

Método

Se trata de un diseño descriptivo cuanti-cualitativo, en etapas. La etapa 1 de tipo cuantitativo, se utilizó una encuesta semiestructurada anónima a 36 médicos de 13 CAPS, del área sanitaria de Godoy Cruz. En la etapa 2 (cualitativo, Grupos Focales, 3 reuniones) asistieron un total de 16 médicos.

Población: médicos de atención primaria del Área Departamental Godoy Cruz que

atienden a pacientes con diabetes mellitus.

Muestra: por selección intencionada o muestra de conveniencia

Resultados

A continuación el cuadro muestra los resultados que surgieron de la aplicación de ambos métodos.

GRUPOS FOCALES	ENCUESTAS
El profesional se encuentra con tiempo insuficiente para atención integral del paciente.	El 60% de los profesionales encuestados cuentan con menos de 15 minutos para la atención del paciente.
Existe una formación ineficiente en el manejo del paciente con diabetes por parte de los profesionales. Encontramos que algunos médicos realizan el examen del pie, solo si tienen heridas o si refieren dolor.	Así mismo el 58% refiere no haber realizado ninguna capacitación de postgrado en el tema. El 92% de los médicos refiere conocer la guía del manejo del pie diabético de la SAD, pero solo el 69% de los mismos la aplica.
El profesional se encuentra con tiempo insuficiente para atención integral del paciente.	El 60% de los profesionales manifestaron no tener monofilamento siendo uno de los elementos necesarios para un correcto examen de pie.

Llama la atención al analizar estas respuestas que si bien el 69% de los médicos dijeron si aplicar las guías, también un 69 % respondió no tener el monofilamento estandarizado, lo que nos lleva a pensar que la primera cifra no es certera, pues no se podría realizar el examen según las guía sin el mismo, o al menos, se realizará de forma incompleta.

Comentarios Finales

Varios estudios internacionales apoyan la importancia de realizar un examen físico completo en pacientes diabéticos.

La Sociedad Argentina de Diabetes confirma, en su apartado de pie diabético que, "La ausencia de síntomas no significa que los pies estén sanos"

En nuestro trabajo sin embargo se encontró que hay una formación ineficiente de los médicos.

Los centros médicos que cumplen protocolos de atención obtienen menor morbi mortalidad en sus pacientes, por lo que si lográramos incluir la estandarización en nuestra área, junto con centros de salud equipados, personal formado y sin sobrecarga de turnos podríamos alcanzar una mejora en la calidad de atención en pacientes con enfermedades crónicas.

Aconsejamos ampliar el tiempo de consulta en atención primaria para los pacientes crónico, equipar a los centro de salud con elementos indispensables para correcto examen de pie y fomentar a través de capacitación a los médicos de atención primaria de la salud.

Bibliografía

1. -Asociación latinoamericana de diabetes (2013). Guía ALAD sobre el diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia, (Ed 2013). Disponible en: http://www.issuu.com/alad-diabetes/docs/guias_alad_2013
2. -Curso básico de metodología y ética de la investigación. DICYT (Dirección de investigación, ciencia y técnica). 2014
3. - Dallatorre, J. (2004). La técnica de grupo de discusión y su importancia en la investigación social (Manuscrito no publicado). Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, Mendoza, Argentina.
4. -Dirección de prevención y promoción de la Salud. Programas Preventivos. Disponible en: http://www.diabetes.org.ar/wp-content/uploads/2014/05/jornadas_nacionales.pdf
5. -Farreras, P. & Rozman, C. (1929). Medicina interna (17ma Ed.). Madrid: ELSEVIER.

