



Sobre la Portada

La portada resume en palabras clave, la editorial de este número titulada “¿Vivimos en situación de desastre?” realizada por la Dra. Elia Figeira Petit, Médico Psiquiatra, invitada por el comité editorial de la revista, en ocasión de la crisis actual que se está viviendo Venezuela.

AVANCES EN BIOMEDICINA

Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica

Autoridades ULA

Dr. Mario Bonucci

Rector de la Universidad de los Andes

Dr. Patricia Rosenzweig Levy

Vicerrector Académico

Dr. Manuel Aranguren

Vicerrector Administrativo

Dr. José María Andréz

Secretaría

Dr. Gerardo Tovitto

Decano de la Facultad de Medicina

Dra. Siham Salmen Halabi

*Directora del Instituto de Inmunología
Clínica*

Consejo Editorial

Director Editorial

Siham Salmen Halabi

Editores Adjuntos

Lisbeth Berrueta Carrillo

Guillermo Terán-Ángel

Luisa Barboza Carrillo

Comité Editorial

Nubia H Silva

Rima C Bahsas Zaky

Leidith Berrueta Carrillo

Daniela Montes-Berrueta

Joselyn Rojas Quintero

Comisión de Arbitraje

Barbara E Bierer

Carmen Mazei de Dávila

Darrell L Peterson

Diego F Dávila Spinetti

Jesús Alfonso Osuna

José H Donis

Librado Ortiz-Ortiz

Masyelly D Rojas

Mercedes González Coira

Morella C Bouchard

Avances en Biomedicina es el órgano divulgativo oficial del Instituto de Inmunología Clínica – ULA. Esta publicación periódica busca la promoción, difusión y discusión del impacto de los trabajos realizados por los miembros de la comunidad científica regional, nacional e internacional. Pretende además fomentar la actividad científica de difusión de resultados en los investigadores noveles, tanto en el área de pregrado como de postgrado.

Es una revista científica online, que a partir del 2013 tendrá una periodicidad cuatrimestral y cuenta con las siguientes secciones: Revisiones, artículos originales, casos clínicos, cartas al editor, comunicaciones rápidas; y dos secciones destinadas a los investigadores noveles y a los pioneros en los diferentes campos de las ciencias de la medicina, biología y biotecnología. Esta revista cuenta con sistema de arbitraje, llevado a cabo por al menos dos revisores expertos en el área, seleccionados por el Consejo Editorial.

Avances en Biomedicina no se hace responsable del contenido, opiniones, aplicaciones o material que sea suministrado por los autores. Además, se asume que todas las publicaciones recibidas se rigen por las normas de honestidad científica y ética profesional, por lo que la revista no se hace responsable en el caso de que algún autor incurra en la infracción de las mismas.

Indizada en:

1. Repositorio Institucional de la Universidad de los Andes – SABER-ULA.
2. Índice Mexicano de Revistas Biomédicas Latinoamericanas (Inbiomed).
3. REVENCYT código: RV A040
4. Latindex
5. Index Copernicus International S.A.
6. SHERPA/RoMEO
7. DIALNET
8. eRevistas
9. Directory of Research Journal Indexing (DRJI)
10. Periódica (base de datos bibliográfica de revistas de ciencias y tecnología)
11. Sjournals Index
12. Redalyc

VOLUMEN 3, N°1, ENERO-ABRIL 2014

DEPÓSITO LEGAL: PPI201102ME3935

ISSN: 2244-7881

Red:

Correos electrónicos:

avanbiomed.idic@ula.ve, avanbiomed.idic@gmail.com

Acceso online:

<http://erevistas.saber.ula.ve/biomedicina>

<http://www.imbiomed.com.mx>

http://www.revencyt.ula.ve/rev_nuevas/principal.htm

<http://www.latindex.org/buscador/ficRev.html?folio=21053&opcion=1>

<http://journals.indexcopernicus.com/passport.php?id=7837>

<http://www.sherpa.ac.uk/romeo/search.php?title=avances+en+biomedicina&issn=&zetocpub=Universidad+de+Los+Andes%2C+Instituto+de+Inmunolog%EDa+Cl%EDnica&romeopub=Universidad+de+Los+Andes%2C+Instituto+de+Inmunolog%EDa+Cl%EDnica&flDnum=1&mode=simple&la=en&version=&source=journal&sourceid=23121>

<http://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=19470>

http://www.erevistas.csic.es/ficha_revista.php?oai_iden=oai_revista751

Agradecimiento:

Financiada parcialmente por **FUNDACITE MÉRIDA S12-3863**

Instituto de Inmunología Clínica:

Dirección: Edificio Luis Pasteur, al lado del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes. Av. 16 de Septiembre, Sector Campo de Oro. Mérida 5101. Venezuela.

Copyright:

Derechos reservados. Queda prohibida la reproducción total o parcial de todo el material contenido en la revista sin el consentimiento por escrito de los editores.

Tabla de contenido

EDITORIAL

- 1 **¿Vivimos en situación de desastre?**
Elia Figeira Petit

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 2-7 **Doppler obstétrico posterior al uso de Betametasona para la maduración pulmonar fetal**
Obstetric doppler after use of Betamethasone for fetal lung maturation
Keibis Jiménez-Castillejo, Yolima Ruiz-Lopez, Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Jhoan Aragón-Charris, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil
- 8-15 **Utilidad de la biopsia transbronquial en el diagnóstico de enfermedades pulmonares en pacientes VIH/SIDA**
Utility transbronchial biopsy in the diagnosis of pulmonary disease in patients HIV/AIDS
Carmen Elena Fuenmayor, Maryori García, Ivy Contreras, Jhoana Santeliz, Melisse Milano, Anna García, Antonio Faieta, Rafael Pérez
- 16-24 **Correlación entre niveles de ferritina sérica y unidades de transfusión recibidas por pacientes con anemias hereditarias hemolíticas en el estado de Zulia, Venezuela**
Correlations between ferritin levels and transfusion units received by patients with hereditary hemolytic anemia in the state of Zulia, Venezuela
Ana Gregoria Ruiz Medina, Olga Briceño, Melvis Arteaga-Vizcaíno, María Eugenia Vizcaíno, Zaida Plumacher, Jesús Quintero, Maczy González, Maribel Quintero1, José Urdaneta

REVISIONES Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

- 25-33 **PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización**
PCR and PCR-Multiplex: critical parameters and standardization protocol
Ana Maria Bolivar, Agustina Rojas, Pablo Garcia-Lugo

CASOS CLÍNICOS

- 34-37 **Bocio multinodular gigante deformante. Presentación de un caso sin síntomas obstructivos.**
Giant multinodular goiter. A case report with no obstructive symptoms
Paul Bogucki, César Labastida-Moreno, Anny Sánchez, José Tapia-González, Nelson Miliani
- 38-41 **Endometriosis Vulvar. Reporte de Caso**
Vulvar Endometriosis. Case Report
Duly Torres-Cepeda, Eduardo Reyna-Villasmil, Joel Santos-Bolívar



-
- 42-45 **Comportamiento inusual de Sarcoma de alto grado de malignidad en abdomen. Reporte de un caso.**
Unusual behavior of high-grade sarcoma malignancy in abdomen. A case report
Maryem Seco-Meza, María Araque-Marquina, Cesar Tapia-Martínez, Luis Tabares-Contreras, María Serrano-Camacho, Pedro Fargier-Becerra, Alejandro Sabino-Fernández, Henry Parra, Estrella Uzcátegui
- 46 **INSTRUCCIONES A LOS AUTORES**
- 47 **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**
- 48-49 **ÉTICA DE LAS PUBLICACIONES & DECLARACIÓN DE MALA PRAXIS/ PUBLICATION ETHICS & MALPRACTICE STATEMENT**

Editorial

¿Vivimos en situación de desastre?

Con frecuencia nos hemos hecho esta pregunta todos los que habitamos Venezuela y particularmente los que trabajamos en el sector salud, para responder esta interrogante es necesario aclarar algunos puntos.

Primero: El término desastre deriva del latín des (negativo, sin fortuna) y astre (estrellas), se entiende desastre como: Calamidad que viene de los astros, de los dioses ¡nada más lejos de la realidad!, por lo general, el desastre se refiere a un evento que afecta a un número considerable de personas y sus dimensiones sobrepasan la atención que pueden brindar los servicios públicos y privados del área donde ocurre. Por lo tanto, el acontecimiento interrumpe y modifica la dinámica de una comunidad; supone una situación de crisis donde las demandas exceden los recursos disponibles. Así, se puede localizar el desastre en un tiempo y espacio en el que una sociedad afronta peligros severos, con pérdidas humanas y materiales, ruptura de estructuras y funciones sociales, cambios en el desempeño de roles individuales y surgimiento de demandas poco usuales que exigen respuestas de protección y defensa por parte de las autoridades.

Segundo: sin complicarnos mucho en clasificaciones podemos dividirlos en dos categorías: Naturales y Producidos por intervención del hombre. Ambos van a provocar diversas reacciones en la conducta humana, por eso es indispensable la comprensión de la misma tanto individual como colectivamente. Una de las primeras reacciones emocionales que aparece en situaciones de desastre es el miedo (a la muerte, a enfermarse, a perder amigos, familiares, bienes y seguridad) si no se atenúa puede convertirse en pánico. También se puede observar ansiedad, depresión, rabia, impotencia, culpa y pérdida de autonomía, que de no controlarse derivan en trastornos desadaptativos.

Por otra parte, las personas al incorporarse a un grupo pueden pensar y actuar muy diferente a como lo harían individualmente; porque sentimientos e ideas se orientan hacia una dirección común, pasando de ser una colectividad a una muchedumbre psicológica, con sentimiento de poder invencible, dado en parte por el anonimato y la desinhibición de impulsos, con exageración de sentimientos que se propagan por sugestión y contagio, prevaleciendo la sensación de una fuerza brutal pero intensa, pudiendo generar diversas conductas, entre estas la conocida como "fenómeno de convergencia" que incluye movimientos desorganizados de personas, materiales y medios de información a las zonas afectadas, algunos van a ayudar y otros cual depredadores a destruir y saquear.

Tercero: No siempre la conducta va a ser patológica, desintegrante y destructiva, también existe una conducta de organización, afrontamiento, solución y superación denominada "repercusión amplificada" un excelente ejemplo podemos verlo en la reconstrucción de Alemania y Japón después de la Segunda Guerra Mundial.

Entonces, al revisar estos puntos muchos lectores pudieran sentirse en Situación de Desastre, provocado por el hombre, en una sociedad plena de demandas insatisfechas, inseguridad, desconfianza, intolerancia, escasez de productos de primera necesidad y a merced de una multitud o masa irrefrenable. Por ello tenemos que despertar y reaccionar, es hora de apartar viejos rencores, asumir responsabilidades, dejar a un lado interpretaciones mágico-religiosas y culpabilización de imperios extranjeros, ya que todos somos responsables y víctimas de esta catástrofe que se hace urgente reestructurar. Llegó el momento de abandonar conductas conformistas y fatalistas, de unificar fuerzas y contribuir al desarrollo de un nuevo sistema de adaptación social basado en la realidad.

Vamos a aceptar el reto, con los cambios y sacrificios pertinentes, a salir del estado disociativo de conciencia que ha llevado a muchos a seguir a falsos héroes; manifestemos, enseñemos y transmitamos valores éticos y morales que estaban profundamente arraigados en la sociedad venezolana y a demostrar que con trabajo arduo, mancomunado, mucho esfuerzo, tesón, preparación y voluntad política, podremos recuperar el país y encaminarlo a niveles más altos de integración social y productividad; no será tarea fácil, pero crear un espacio donde con respeto y tolerancia podamos convivir con diversidad de opiniones y creencias, es responsabilidad de todos y el mejor patrimonio para generaciones futuras

**Doctora Elia Figueira Petit,
Médico Psiquiatra**

Unidad de Cuidados Intensivos
Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes
Email: eliafig@gmail.com

Como citar éste artículo: Figueira Petit E. ¿Vivimos en situación de desastre?. Avances en Biomed 2014; 3: 1



Doppler obstétrico posterior al uso de Betametasona para la maduración pulmonar fetal (Obstetric doppler after use of Betamethasone for fetal lung maturation)

Keibis Jiménez-Castillejo¹, Yolima Ruiz-Lopez¹, Eduardo Reyna-Villasmil¹✉, Duly Torres-Cepeda¹, Joel Santos-Bolívar¹,
Jhoan Aragón-Charris¹, Jorly Mejía-Montilla¹, Nadia Reyna-Villasmil².

¹ Servicio de Obstetricia y Ginecología, Maternidad "Dr. Nerio Belloso", Hospital "Dr. Urquinaona", Maracaibo - Venezuela. ² Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez", Maracaibo - Venezuela.

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 17 de Junio de 2013. Aceptado: 13 de Octubre de 2013.

Resumen

El objetivo de la investigación fue determinar las modificaciones del Doppler obstétrico posterior al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal. Se realizó una investigación de tipo explicativa, prospectiva y longitudinal con un diseño cuasi-experimental y una muestra no probabilística intencional de 106 pacientes que acudieron a la consulta Pre-natal de Alto Riesgo del Hospital Central "Dr. Urquinaona". Una vez seleccionadas las pacientes se les administró inyecciones intramusculares de betametasona (12 mg/día) por dos días consecutivos. Se realizaron las mediciones de índice de pulsatilidad e índice de resistencia en las arterias uterinas, umbilical y cerebral media fetal. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las determinaciones del índice de pulsatilidad y de resistencia de las arterias uterinas ($p = ns$). Se observaron disminuciones significativas en el índice de pulsatilidad y de resistencia de la arteria umbilical en la segunda y tercera medición al compararla con la medición inicial ($p < 0,05$). Se encontraron disminuciones en el índice de pulsatilidad de la arteria cerebral media fetal en ambos periodos de estudio comparado con los valores iniciales y solo se observó una disminución significativa del índice de resistencia en la segunda medición ($p < 0,05$). Se concluye que el uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal produce modificaciones en la evaluación Doppler de las arterias umbilical y cerebral media fetal.

Palabras clave

Betametasona; Doppler; Maduración pulmonar fetal.

Abstract

The objective of research was to determine modifications of obstetric Doppler after to fetal lung maturation. An explicative, prospective and longitudinal research was done with a quasi-experimental design and an intentional non-probabilistic sample of 106 patients who assisted to High Risk Antenatal Consult at Hospital Central "Dr. Urquinaona". Once patients were selected, two intramuscular injections of betamethasone (12 mg/day) were administered for two consecutive days. Measurements of pulsatility and resistance index of uterine, umbilical and fetal middle artery were done. There were not found significant differences among measurements of pulsatility and resistance index of uterine arteries among 3 periods ($p = ns$). There were observed significant reduction in pulsatility and resistance index of umbilical artery in second and third measurements when compared to initial measurement ($p < 0.05$). There was found a significant reduction in pulsatility index of fetal middle cerebral artery in both studied period compares with initial values and only was observed a significant decreased in resistance index in second measurements ($p < 0.05$). It is concluded that use of betamethasone for fetal lung maturation produces modifications in Doppler evaluation of umbilical and fetal middle cerebral arteries.

Keywords

Betamethasone; Doppler; Fetal lung maturation.

Introducción

El parto pretérmino, como la principal causa de morbilidad y mortalidad neonatal, está generalmente complicado con el síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido (1,2). Los corticosteroides administrados antes del nacimiento pretérmino son efectivos en la prevención del síndrome y la morbilidad neonatal (3,4).

Se ha reportado en estudios en animales y en humanos adultos que los corticosteroides tienen una amplia variedad de efectos adversos sobre la función endocrina, cardiovascular y metabólica (5). Algunos autores han reportado reducción transitoria de la variabilidad de la frecuencia cardíaca fetal y alteración en los parámetros del perfil biofísico (6,7). Así como también pueden afectar el desarrollo y crecimiento fetal (8).

La evaluación de la hemodinámica materno-fetal es una herramienta importante para el estudio del bienestar fetal. Existen datos contradictorios con relación a los efectos de la administración de corticosteroides exógenos sobre los parámetros hemodinámicos fetales. Dos investigaciones han demostrado que, posterior a la administración de betametasona, no se observaron cambios significativos en el índice de pulsatilidad (IP) de ningún vaso en fetos normales y con restricción de crecimiento intrauterino (9,10).

Por otro lado, otro estudio ha reportado disminución transitoria y significativa en la impedancia de la arteria cerebral media fetal al cuarto día de la administración de dexametasona materna (11). Piazze y col. (12) encontraron que el tratamiento con betametasona está asociado con una disminución significativa en el IP de la arteria cerebral media, especialmente antes de las 32 semanas de embarazo. Sin embargo, es importante establecer el impacto del uso de corticosteroides en los cambios del IP e índice de resistencia (IR) en los vasos maternos y fetales, durante la realización del Doppler obstétrico, ya que es posible que en un pequeño número de embarazos la administración de glucocorticoides sea negativa.

El objetivo de la investigación fue determinar las modificaciones del Doppler obstétrico posterior al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal.

Metodología

La investigación de este estudio fue explicativa y longitudinal con un diseño prospectivo y

cuasi-experimental y una muestra no probabilística intencional de 106 pacientes que acudieron a la consulta pre-natal de alto riesgo del Hospital Central "Dr. Urquinaona". El Comité de Ética del hospital aprobó la investigación y se obtuvo el consentimiento informado de todas las pacientes.

Se incluyeron embarazadas entre 18 y 40 años de edad, con embarazos de 24 a 34 semanas de gestación, y embarazos de alto riesgo (por ejemplo, cirugías uterinas previas, tumoraciones uterinas) que ameritaron la administración de betametasona para la inducción de la maduración pulmonar fetal.

Se excluyeron las embarazadas con polihidramnios, hemorragia del tercer trimestre, sospecha de restricción del crecimiento intrauterino del feto (circunferencia cefálica, circunferencia abdominal y longitud del fémur menor del percentil 10 de referencia), síndrome de HELLP, alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal, gestaciones múltiples, presencia de infección intrauterina o materna activa, enfermedad hipertensiva crónica o gestacional, enfermedad cardíaca, hepática, renal o sistémica crónica, diabetes mellitus pre o gestacional y hábito tabáquico. También se excluyeron a las pacientes que se negaron a participar en la investigación.

Una vez seleccionadas las pacientes se les administraron inyecciones intramusculares de betametasona (12 mg/día) por dos días consecutivos. Las mediciones de IP e IR en las arterias uterinas, umbilical y cerebral media fetal se realizaron en tres ocasiones: La primera medición, antes de la administración de la primera dosis de betametasona; la segunda medición, 24 horas después de la segunda y última inyección; y la tercera medición, siete días luego de la administración de la última dosis de betametasona para la maduración pulmonar fetal.

Las mediciones Doppler se realizaron utilizando un ecógrafo Doppler color General Electric® Logiq Pro 3 en tiempo real, con un transductor abdominal de 3,5 MHz. Todas las mediciones fueron realizadas con el feto en apnea y en ausencia de movimientos fetales. La evaluación de cada paciente se realizó por un mínimo de 20 min, dependiendo de la posición y los movimientos fetales por un solo investigador.

Las arterias uterinas fueron identificadas en una visualización longitudinal de las caras laterales del útero con la paciente reclinada. En esa posición se ubicó la bifurcación de la arteria iliaca común. La medición se realizó en el punto donde la arteria uterina y la iliaca externa parecen cruzarse. En ese punto, se midieron los índices Doppler de ambas

arterias uterinas y se calculó el promedio de los dos vasos.

Las mediciones Doppler de la arteria umbilical se calcularon con el promedio de 3 mediciones obtenidas de la porción libre flotante del cordón umbilical, tomando en cuenta que la porción estudiada no se ubicara demasiado cerca del feto o la placenta. Para las mediciones de la arteria cerebral media fetal, se realizó una visión axial de la cabeza fetal al nivel de los pedúnculos cerebelosos y se visualizó el polígono de Willis, realizándose las mediciones a 1 centímetro del origen de la arteria cerebral media fetal. El ángulo entre la emisión de ondas ecográficas y la dirección del flujo sanguíneo fue siempre $< 30^\circ$.

Los resultados se presentan en tablas. Se utilizaron medidas absolutas y relativas. Una vez que se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar el tipo de distribución de los datos, se confirmó que la distribución de estos era igual a la normal ($p = ns$). La comparación de las variables cuantitativas se realizó utilizando la prueba de ANOVA utilizando la post-prueba de Dunnett utilizando como control los valores de la primera medición (antes del uso de la betametasona). Se consideró $p < 0,05$ como estadísticamente significativa.

Resultados

Se seleccionaron 106 pacientes que fueron sometidas a inyecciones de betametasona para inducir la maduración pulmonar fetal. La edad promedio de las pacientes fue de $22,6 \pm 5,1$ años y la edad gestacional al momento del tratamiento fue de $31,8 \pm 3,0$ semanas.

En la tabla 1 se muestra las mediciones Doppler (IP e IR) de las arterias uterinas, umbilical y cerebral media fetal. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la segunda y tercera medición del IP y de IR de las arterias uterinas comparado con los valores de la primera medición ($p = ns$).

Con respecto a las mediciones de la arteria umbilical (tabla 1), se observaron disminuciones estadísticamente significativas en el IP en la segunda ($0,887 \pm 0,1110$) y tercera medición ($0,957 \pm 0,105$) al compararla con la medición inicial ($1,014 \pm 0,129$; figura 1; $p < 0,05$).

También se observó disminuciones en los valores del IR en ambos periodos de medición ($0,597 \pm 0,089$ y $0,604 \pm 0,085$) al compararlo con la medición inicial ($0,639 \pm 0,086$; figura 2; $p < 0,05$).

Tabla 1. Mediciones doppler antes y después del tratamiento con Betametasona.

(n = 106)	Primera Medición (Antes de la primera dosis)	Segunda Medición (24 horas después de la segunda dosis)	Tercera Medición (7 días después de la segunda dosis)
Arterias uterinas			
Índice de pulsatilidad	0,845 +/- 0,131	0,829 +/- 0,148	0,837 +/- 0,132
Índice de resistencia	0,500 +/- 0,069	0,497 +/- 0,076	0,485 +/- 0,085
Arteria umbilical			
Índice de pulsatilidad	1,014 +/- 0,129	0,887 +/- 0,110*	0,957 +/- 0,105*
Índice de resistencia	0,639 +/- 0,086	0,597 +/- 0,089*	0,604 +/- 0,085*
Arteria cerebral media fetal			
Índice de pulsatilidad	1,813 +/- 0,231	1,737 +/- 0,266*	1,787 +/- 0,250*
Índice de resistencia	0,782 +/- 0,130	0,684 +/- 0,111*	0,768 +/- 0,122

* $p < 0,05$ comparado con los valores iniciales.

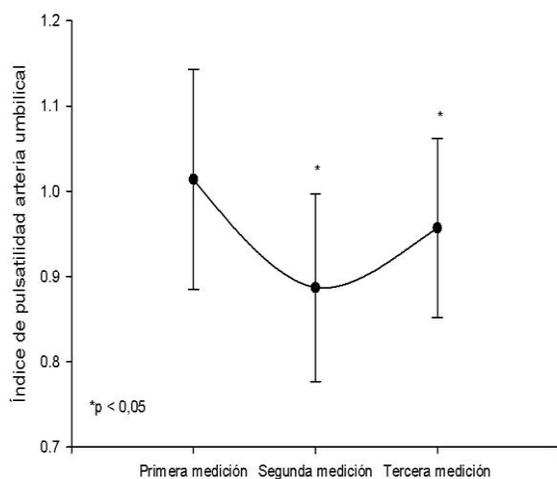


Figura 1. Valores promedio del índice de pulsatilidad de la arteria umbilical antes y después del uso de Betametasona.

De igual forma se observó disminuciones en el IP de la arteria cerebral media fetal en ambos periodos de estudio (1,737 +/- 0,266 y 1,787 +/- 0,250) comparado con los valores iniciales (1,813 +/- 0,231; figura 3; $p < 0,05$).

Sin embargo, en la figura 4 se observa que el IR de la arteria cerebral media fetal solo mostró una disminución significativa al momento de la segunda medición (0,684 +/- 0,1111; $p < 0,05$), mientras que la tercera medición (0,768 +/- 0,122) no mostró diferencias estadísticamente significativas al compararlo con los valores iniciales (0,782 +/- 0,130;

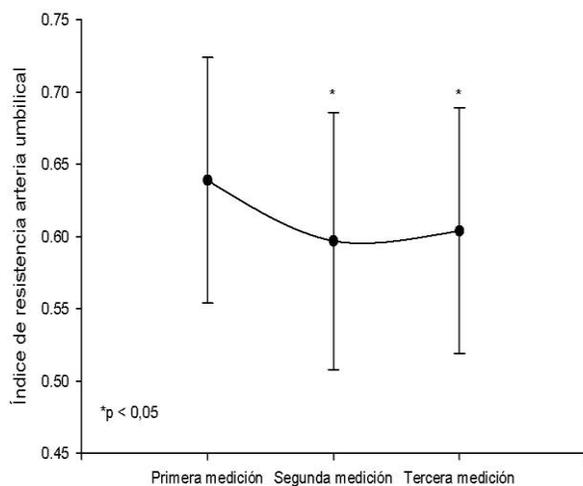


Figura 2. Valores promedio del índice de resistencia de la arteria umbilical antes y después del uso de Betametasona.

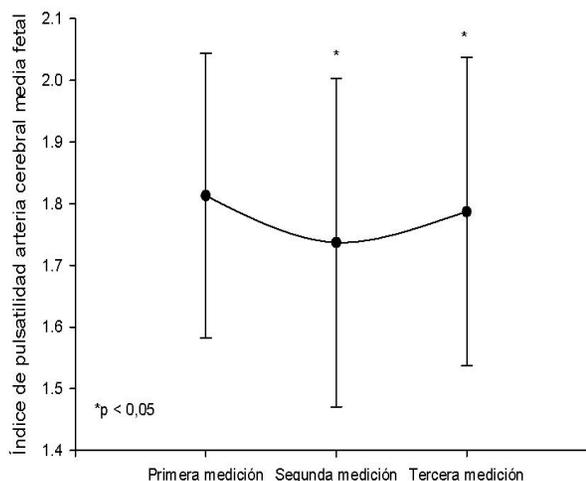


Figura 3. Valores promedio del índice de pulsatilidad de la arteria cerebral media antes y después del uso de Betametasona.

$p = ns$).

Discusión

Los resultados de esta investigación demuestran que el tratamiento con betametasona para la inducción de la maduración pulmonar fetal produce modificaciones en las mediciones del Doppler obstétrico de las arterias umbilical y cerebral media fetal.

Las características del flujo Doppler en cualquier vaso es determinado por varios factores,

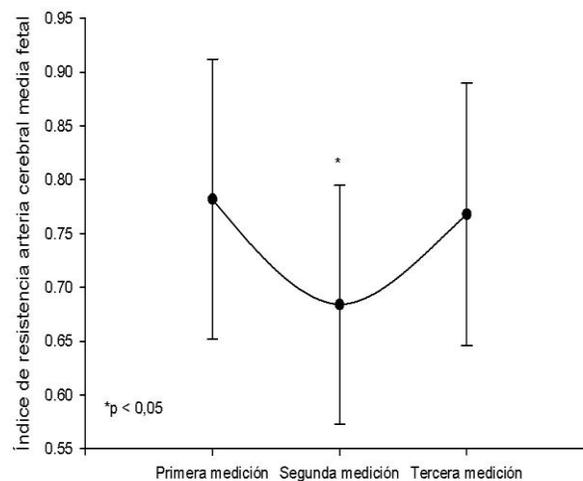


Figura 4. Valores promedio del índice de resistencia de la arteria cerebral media fetal antes y después del uso de Betametasona.

incluyendo la contractilidad cardíaca, frecuencia cardíaca y resistencia e impedancia de la circulación. Los corticosteroides pueden afectar el sistema cardiovascular al incrementar la contractilidad del miocardio y la sensibilidad de los receptores que regulan la presión arterial y de las células del músculo liso vascular a través de los efectos vasoconstrictores de las catecolaminas (13,14). Por lo tanto, existen posibles mecanismos que pueden estar subyacentes a los cambios observados.

El periodo en el que ocurren los cambios en el Doppler de las arterias maternas y fetales es importante en el contexto de la programación de la vigilancia fetal. La betametasona, cuando se administra por vía intramuscular, está presente en la circulación materna a los 30 minutos después de la administración y logra sus niveles picos a los 60 minutos (15). Las concentraciones pico en la sangre del cordón umbilical se alcanzan aproximadamente a los 60-120 minutos. Las modificaciones de los parámetros Doppler en la arteria umbilical se observan a las 2-6 horas después (4-8 horas después de la administración del corticosteroides). Previamente se ha descrito que los efectos persisten por 3 días en promedio (16).

La ausencia de modificaciones de los IP e IR de las arterias uterinas después de la administración de betametasona son similares a los hallazgos de investigaciones previas (6). Incluso a los resultados de otros reportes que no encontraron ningún efecto de los corticosteroides sobre las arterias uterinas en embarazos con parto pretérmino inminente (12).

En el feto de la oveja, se considera que las arterias umbilicales contribuyen con aproximadamente el 30% de la resistencia total de la circulación útero-placentaria, con la posibilidad que pueda ser mayor en los fetos humanos debido a que el cordón umbilical es más largo (14). Por lo tanto, es posible que las modificaciones Doppler de los vasos evaluados después del uso de betametasona sean el resultado de su efecto directo sobre el cordón. Sin embargo, se ha demostrado que la dexametasona puede inducir vasodilatación *in vitro*, sugiriendo que si existe un efecto directo de los esteroides sobre las arterias umbilicales, este no puede ser el único efecto (13).

La circulación fetal evaluada por la hemodinamia materno-fetal en esta investigación demostró alteraciones en la respuesta a la administración de betametasona. La magnitud del cambio en las características del flujo sanguíneo, y en especial de la arteria cerebral media fetal sugeriría la posibilidad de una redistribución del flujo sanguíneo en el compartimiento fetal. Por lo que no se puede

excluir la presencia de hipoxia, debido a que los episodios agudos, en contraste con la hipoxia crónica, no está generalmente asociada con redistribución del flujo sanguíneo fetal (17). Con relación a los índices Doppler de la arteria umbilical fetal, no se deberían esperar cambios agudos, a menos que ocurran marcados cambios hemodinámicos. Been y col. (18) reportaron recientemente que las placentas de embarazadas tratadas con corticosteroides presentan una variedad de lesiones histopatológicas que reflejan la insuficiencia placentaria típica.

Algunos otros investigadores han reportado disminución en el IP e IR en la arteria cerebral media después del tratamiento con betametasona (19). Los hallazgos de esta investigación son contrarios a los resultados reportados por Edwards y col. (6) quienes no demostraron diferencias en las ondas de flujo sanguíneo en la arteria cerebral media fetal luego de la administración de betametasona. La disminución del IP de la arteria cerebral media fetal en las dos mediciones y del IR en la segunda medición después del uso de betametasona puede reflejar un efecto más perjudicial que benéfico.

La disminución de los parámetros Doppler en la arteria cerebral media fetal puede ser causada por un efecto directo de los corticosteroides en el cerebro fetal. Las áreas cerebrales donde están presentes los receptores de corticosteroides, en particular en varios núcleos cerebrales, son parte del suelo en el puente y se piensa que controla la actividad motora del feto en el tercer trimestre. También se pueden estimular, en forma secundaria, factores vasomotores (20). Estudios experimentales en fetos de ovejas han demostrado que los esteroides pueden causar cambios considerables en la presión arterial, frecuencia sanguínea y volumen sanguíneo fetal (21). Se ha postulado que la administración materna de corticosteroides altera la regulación y secreción placentaria de la hormona liberadora de corticotropina (22). Varias investigaciones han demostrado que esta hormona causa vasodilatación a través de la inducción de la sintasa de óxido nítrico en las circulaciones placentarias y fetales humanas (23). Es posible que estos mecanismos estén involucrados en la regulación de la circulación cerebral fetal.

Al analizar los cambios observados en la presente investigación, los hallazgos son importantes por varias razones. Ofrecen una nueva forma de explorar la regulación de las vasculatura útero-feto-placentaria. También son valiosos en la interpretación de la vigilancia fetal posterior a la administración de corticosteroides. Además, abre una ventana de controversia sobre si la administración de esteroides

necesariamente es beneficiosa como se considera en la actualidad. Desde el punto de vista práctico, el clínico podría afrontar en forma ocasional con un feto que muestra alteraciones hemodinámicas hasta 7 días después de la exposición a los corticosteroides. El diagnóstico diferencial entre los efectos fisiológicos y

fisiopatológicos puede ser extremadamente difícil en este punto.

Se concluye que el uso de betametasona para la inducción de la maduración pulmonar fetal produce modificaciones en la evaluación Doppler de las arterias umbilical y cerebral media fetal.

Referencias

- Faneite P, Rivera C, Amato R, Faneite J, Urdaneta E, Rodríguez F. Prematurez: resultados perinatales. Rev Obstet Ginecol Venez. 2006; 66: 213-8. [\[Google Scholar\]](#)
- Faneite P, Linares M, Faneite J, Gómez R, Sablone S, Guedez J, González M. Mortalidad neonatal: gran reto. Rev Obstet Ginecol Venez. 2004; 64: 129-32. [\[Google Scholar\]](#)
- Naveda O, Bravo H, Junco R. Efectividad de la terapia esteroidea prenatal en neonatos menores de 34 semanas de edad gestacional. Bol Med Postgrado. 2003; 19: 78-83. [\[Google Scholar\]](#)
- Roberts D, Dalziel S. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. Cochrane Database Syst Rev. 2006; CD004454. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Quaedackers JS, Roelfsema V, Fraser M, Gunn AJ, Bennet L. Cardiovascular and endocrine effects of a single course of maternal dexamethasone treatment in preterm fetal sheep. BJOG. 2005; 112: 182-91. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Edwards A, Baker LS, Wallace EM. Changes in fetoplacental vessel flow velocity waveforms following maternal administration of betamethasone. Ultrasound Obstet Gynecol. 2002; 20: 240-4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Mushkat Y, Ascher-Landsberg J, Keidar R, Carmon E, Pauzner D, David MP. The effect of betamethasone versus dexamethasone on fetal biophysical parameters. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001; 97: 50-2. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Morris DJ, Latif SA, Brem AS. Interactions of mineralocorticoids and glucocorticoids in epithelial target tissues revisited. Steroids. 2009;74: 1-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Senat MV, Ville Y. Effect of steroids on arterial Doppler in intrauterine growth retardation fetuses. Fetal Diagn Ther. 2000;15:36-40. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Piazzes J, Dillon KC, Cerekja A. Betamethasone effects on umbilical arteries and ductus venosus Doppler velocity waveforms in growth-restricted fetuses. J Matern Fetal Neonatal Med. 2012;25:1179-82. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Urban R, Lemanciewicz A, Przepieśc J, Urban J, Kretowska M. Antenatal corticosteroid therapy: a comparative study of dexamethasone and betamethasone effects on fetal Doppler flow velocity waveforms. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005; 120: 170-4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Piazzes J, Anceschi MM, Cerekja A, Cosmi E, Meloni P, Alberini A, Pizzulo S, Argento T, Cosmi EV. The combined effect of betamethasone and ritodrine on the middle cerebral artery in low risk third trimester pregnancies. J Perinat Med. 2007; 35: 135-40. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Clifton VL, Wallace EM, Smith R. Short-term effects of glucocorticoids in the human fetal-placental circulation in vitro. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87: 2838-42. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Thuring A, Malcus P, Maršál K. Effect of maternal betamethasone on fetal and uteroplacental blood flow velocity waveforms. Ultrasound Obstet Gynecol. 2011; 37: 668-72. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Hallman M, Peltoniemi O, Kari MA. Enhancing functional maturity before preterm birth. Neonatology. 2010;97: 373-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Robertson MC, Murila F, Tong S, Baker LS, Yu VY, Wallace EM. Predicting perinatal outcome through changes in umbilical artery Doppler studies after antenatal corticosteroids in the growth-restricted fetus. Obstet Gynecol. 2009;113: 636-40. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Murotsuki J, Bocking AD, Gagnon R. Fetal heart rate patterns in growth-restricted fetal sheep induced by chronic fetal placental embolization. Am J Obstet Gynecol. 1997;176: 282-90. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Been JV, Rours IG, Kornelisse RF, Lima Passos V, Kramer BW, Schneider TA, de Krijger RR, Zimmermann LJ. Histologic chorioamnionitis, fetal involvement, and antenatal steroids: effects on neonatal outcome in preterm infants. Am J Obstet Gynecol. 2009; 201: 587. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Mulder EJ, Koenen SV, Blom I, Visser GH. The effects of antenatal betamethasone administration on fetal heart rate and behaviour depend on gestational age. Early Hum Dev. 2004; 76: 65-77. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Oitzl MS, Champagne DL, van der Veen R, de Kloet ER. Brain development under stress: hypotheses of glucocorticoid actions revisited. Neurosci Biobehav Rev. 2010; 34: 853-66. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Jellyman JK, Gardner DS, Edwards CM, Fowden AL, Giussani DA. Fetal cardiovascular, metabolic and endocrine responses to acute hypoxaemia during and following maternal treatment with Dexamethasone in sheep. J Physiol. 2005; 567: 673-88. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Korebrits C, Yu DH, Ramirez MM, Marinoni E, Bocking AD, Challis JR. Antenatal glucocorticoid administration increases corticotrophin-releasing hormone in maternal plasma. Br J Obstet Gynaecol. 1998; 105: 556-61. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Donoghue JF, Leitch IM, Boura AL, Walters WA, Giles WB, Smith R, Read MA. Fetal placental vascular responses to corticotropin-releasing hormone in vitro. Effects of variation in oxygen tension. Placenta. 2000; 21: 711-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

Como citar éste artículo: Jiménez-Castillejo K, Ruiz-Lopez Y, Reyna-Villasmil E, Torres-Cepeda D, Santos-Bolívar J, Aragón-Charris J, Mejía-Montilla J, Reyna-Villasmil N. Doppler obstétrico posterior al uso de Betametasona para la maduración pulmonar fetal. *Avan Biomed* 2014; 3: 2-7



Utilidad de la biopsia transbronquial en el diagnóstico de enfermedades pulmonares en pacientes VIH/SIDA

(Utility transbronchial biopsy in the diagnosis of pulmonary disease in patients HIV/AIDS)

Carmen Elena Fuenmayor¹✉, Maryori García¹, Ivy Contreras², Jhoana Santeliz³, Melisse Milano¹, Anna García⁴, Antonio Faieta⁴, Rafael Pérez⁵

¹Unidad de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, ²Servicio de Neumonología, IAHULA, Mérida-Venezuela, ³Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela

⁴Estudiantes de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

⁵ Citotecnólogo del Servicio de Anatomía Patológica del IAHULA

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 28 de Agosto de 2013. Aceptado: 23 de Febrero de 2014.

Resumen

La biopsia transbronquial es una herramienta útil en el diagnóstico de un grupo heterogéneo de enfermedades pulmonares. El objetivo del presente estudio fue determinar la etiología de los procesos pulmonares más frecuentes en el grupo de pacientes VIH/SIDA controlados en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes durante el periodo febrero a septiembre del 2009. Se realizó un estudio observacional, analítico y descriptivo con enfoque epidemiológico, clínico y anatomopatológico en un grupo de 39 pacientes portadores de virus de Inmunodeficiencia Humana. De estos solamente 36 cumplieron los criterios de inclusión para esta investigación. Se hicieron análisis sanguíneo, perfil inmunológico, estudios imagenológicos, lavado bronco-alveolar, cepillado bronquial y biopsia transbronquial. Los cortes histológicos mostraron respuesta inflamatoria en diferentes fases de evolución, daño alveolar difuso y edema intraalveolar. Se realizó el diagnóstico de un grupo de enfermedades oportunistas tales como: neumocistosis, Histoplasmosis, Candidiasis y lesiones probablemente debidas a virus Herpes y Citomegalovirus. Se destaca la participación de más de un germen. Además hubo vasculitis, trombos, áreas de infarto, fibrosis intersticial y hallazgos sugestivos de Hipertensión Pulmonar. Uno de los pacientes presento neoplasia maligna epitelial indiferenciada. El empleo de esta técnica permitió evaluar la presencia de infecciones oportunistas y neoplasias infrecuentes, así como los hallazgos sugestivos de Hipertensión pulmonar. Se avala su utilización ante la necesidad de realizar un diagnóstico etiológico de certeza y establecer así la terapéutica adecuada

Palabras clave

Biopsia transbronquial, SIDA, enfermedades oportunistas

Abstract

Transbronchial biopsy is a useful tool in the diagnosis of a heterogeneous group of lung diseases. The aim of this study was to determine the etiology of pulmonary processes more frequent in the group of HIV / AIDS patient sin controlled Autonomous Institute of the Andes University Hospital during the period February to September 2009. We performed an observational, analytical and descriptive epidemiological approach, clinical and pathological in a group of 39 patients with human immunodeficiency virus. Of these only 36 met the inclusion criteria for this study. Blood analyzes were made, immunological profile, imaging studies, bronchoalveolar lavage, bronchial brushing and transbronchial biopsy. The histological sections showed inflammatory response at different stages of evolution, diffuse alveolar damage and intra-alveolar edema. Diagnosis was made from a group of opportunistic diseases such as pneumocystosis, Histoplasmosis, Candida, and injury probably due to Herpes virus and Cytomegalovirus. It emphasizes the participation of more than a germ. In addition there was vasculitis, thrombi, areas of ischemic necrosis, interstitial fibrosis and findings suggestive of pulmonary hypertension. One of the patients showed undifferentiated epithelial malignancy neoplasm. The use of this technique allowed us to evaluate the presence of opportunistic infections and unusual neoplasms and findings suggestive of pulmonary hypertension. Its use is justified, before the need for an etiologic diagnosis and establish the indicated therapy

Keywords

Transbronchial biopsy, AIDS, opportunistic diseases

Introducción

En el Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida (SIDA), la infección por el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), altera la capacidad de defensa del organismo, originando un grupo de enfermedades que se denominan oportunistas. El deterioro progresivo del sistema inmune en el SIDA, tanto a nivel celular como humoral, aunado al papel de intercambio del sistema respiratorio con el medio externo, son responsables de la alta la incidencia de afecciones pulmonares infecciosas y tumorales(1).

El amplio espectro de las enfermedades infecciosas pulmonares que afectan a los pacientes con VIH/SIDA constituye una causa importante de morbilidad y mortalidad, dado que casi el 70% de los pacientes sufren una complicación respiratoria durante el transcurso de su enfermedad. Estas afecciones respiratorias se manifiestan radiológicamente como infiltrados pulmonares localizados o difusos con patrón intersticial, reticular, miliar o alveolar siendo necesaria la utilización de técnicas de estudio, que permitan lograr un diagnóstico específico y/o etiológico (2).

La biopsia transbronquial (BTB) es un método diagnóstico muy valioso en el estudio de estos hallazgos imagenológicos. Presenta un alto rendimiento en ciertos infiltrados pulmonares difusos y en lesiones periféricas entre 2 y 6 cm de diámetro pudiendo evitarse realizar una toracotomía. Además, la BTB ha permitido la monitorización de los episodios de rechazo agudo en los pacientes trasplantados de pulmón, ya que su sensibilidad diagnóstica es entre el 75-95% y su especificidad fluctúa entre el 90 y el 100% (3,4).

La indicación principal de la BTB es la investigación de infiltrados pulmonares tales como: infiltrado localizado o con patrón difuso, que permite correlacionar los aspectos clínico-radiológicos-patológicos de enfermedades infecciosas o neoplásicas. Usualmente se realiza junto al lavado broncoalveolar (LBA) y cepillado bronquial, que permiten obtener material para examen citológico (5).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad de la BTB en el conocimiento de la etiología de la patología pulmonar en los pacientes con VIH/SIDA en control en el programa del IAHULA durante los meses Febrero a Septiembre del 2009

Metodología

Se realizó un estudio observacional, analítico y descriptivo con enfoque epidemiológico, clínico y anatomopatológico en un grupo de 39 pacientes portadores de VIH. De estos, solamente 36 pacientes cumplieron los criterios de inclusión para esta investigación. Se obtuvo el consentimiento por escrito, siguiendo las normas de la comisión de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes.

Todos eran mayores de edad, en un rango de edad de 21 a 76 años. Se les realizó historia clínica con interrogatorio exhaustivo para conocer antecedentes personales patológicos y epidemiológicos; así como la exploración funcional de signos y síntomas respiratorios. Se interrogó sobre el uso de terapia antirretroviral y profiláctica para *Pneumocystis jiroveci* (*P. jiroveci*) y/o *Mycobacterium tuberculosis*. Se hicieron análisis sanguíneo, perfil inmunológico y estudios imagenológicos.

A la totalidad de la población en estudio se le realizó estudio con equipo de video fibrobroncoscopia marca Olympus BF, tipo P10. Se realizaron los siguientes procedimientos:

1.- **Lavado broncoalveolar (LBA):** Se realizó un primer lavado de arrastre en todo el árbol bronquial, posteriormente un segundo y tercer lavado dirigido a la zona afectada basado en los estudios de imagen; con alícuotas de 20 a 50 ml de solución salina en cada caso, aspirando luego de unos segundos el líquido hacia frascos de plásticos estériles (3). Los fluidos recuperados fueron trasladados al servicio de Anatomía patológica donde en un lapso menor a 4 horas fueron centrifugados a 1.500 rpm durante 15 minutos. Los sedimentos fueron extendidos en láminas y coloreados con la técnica de Papanicolau (PAP), Grocott y Ziehl Neelsen (6-8).

2.- **Cepillado bronquial:** En cada paciente se realizaron dos (2) cepillados, todos posteriores al tercer LBA y con cepillo protegido, en la zona más afectada de acuerdo a los estudios de imagen. Se prepararon los extendidos citológicos y se fijaron en alcohol al 95%, para ser coloreados con PAP (3).

3.- **Biopsia transbronquial (BTB):** Con la ayuda de un broncoscopio rígido o flexible de acuerdo con la disponibilidad se tomaron entre 3 y 4 muestras de tejido de diferentes segmentos del lóbulo biopsiado, evitando el lóbulo medio y la llingula (3). El material obtenido fue fijado en formol al 10%, y procesado con alcohol y xilol y finalmente bloqueado en parafina para obtener cortes finos que fueron

coloreados con Hematoxilina y Eosina, Grocott y Ziehl Neelsen (9).

Resultados

El 82% de los pacientes estudiados correspondió a pacientes del sexo masculino, en su mayoría de procedencia urbana, con edad entre 20 a 77 años (con media de 38,47 +/- 11,7 años). La forma de adquisición de la enfermedad fue la sexual. El 42% de los pacientes tenía hábito alcohólico y tabáquico; y un 21% refirió hábitos de drogadicción inhalatoria. El 53% no recibía terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA). Todos los pacientes refirieron sintomatología respiratoria tales como: disnea de esfuerzo (79%), tos seca (26%), tos productiva (67%), dolor torácico (52%), hemoptisis (9%), fiebre y pérdida de peso (24%).

Hallazgos Anatomopatológicos: Los hallazgos fueron los siguientes: a.-Cepillado bronquial: Hubo procesos inflamatorios inespecíficos, negativo para malignidad. b.-LBA: En seis casos se observaron esporas de *Cándida* y en tres casos se identificaron levaduras de *Histoplasma capsulatum*. Un caso fue positivo para neoplasia maligna. c.- BTB: Todas las muestras presentaron procesos inflamatorios en diferentes grados de intensidad. En el 86% del material se observó lesión o daño alveolar difuso (DAD), con respuesta inflamatoria linfoplasmocitaria en los tabiques alveolares y edema intraalveolar. Con

la coloración de Grocott se logró observar en el 64% de los casos quistes y trofozoitos del *P. jiroveci*; y en el 8,3% de casos se observó una reacción granulomatosa específica logrando observar levaduras de *Histoplasma capsulatum*. La coloración de Ziehl Neelsen fue negativa, por lo que no hubo evidencia de *Mycobacterium tuberculosis*.

Con la coloración de Hematoxilina y Eosina se encontraron 14 casos con hallazgos sugestivos de infección viral por la observación de células epiteliales de gran tamaño, con abundante citoplasma claro, con formación de vacuolas y núcleos con aspecto de "vidrio esmerilado", otras con forma de balón y con inclusiones basófilas intranucleares. En otros 14 casos se visualizaron esporas e hifas de *Cándida sp.* y en ocho casos se presentó reacción inflamatoria aguda inespecífica, con presencia de colonias bacterianas. Es importante resaltar la presencia de más de un germen en algunas de las biopsias examinadas (Tabla 1). En uno de los pacientes se diagnosticó una neoplasia maligna epitelial indiferenciada. Otros hallazgos relevantes fueron: vasculitis, trombosis, áreas de infarto, fibrosis intersticial y en algunos casos hubo parámetros que sugirieron hipertensión pulmonar.

Discusión

El pulmón es el órgano más frecuentemente comprometido por infección en el huésped

Tabla 1. Distribución de enfermedades pulmonares según categoría de conteo de linfocitos T CD4+ en pacientes con VIH/SIDA DEL IHULA, Febrero-Septiembre 2009.

Enfermedades pulmonares	Más de 200 Linfocitos T CD4+/mm ³	Más de 200 Linfocitos T CD4+/mm ³	Total
Neumonía Intersticial Inespecífica	4	0	4
Neumocistosis	7	2	9
Candidiasis	7	0	7
Histoplasmosis	1	0	1
Cáncer	1	0	1
Neumocistosis+Candidiasis	3	2	5
Neumocistosis+Neumonía bacteriana	0	6	6
Neumocistosis+Neumonía bacteriana+Histoplasmosis	0	1	1
Neumocistosis+Histoplasmosis+Candidiasis	0	1	1
Neumocistosis+Candidiasis+Neumonía bacteriana	0	1	1
Total	23 (64%)	13 (36%)	36
Estadio de la infección	VIH	SIDA	

inmunodeprimido. El éxito del tratamiento se basa fundamentalmente en el diagnóstico precoz y la terapia específica contra las infecciones. Por tanto se justifica el uso de métodos diagnósticos invasivos que permitan aislar el agente causal del compromiso pulmonar. La fibrobroncoscopia juega un rol fundamental en el estudio de los infiltrados pulmonares en pacientes inmunodeprimidos. El LBA y la BTB son los procedimientos de mayor uso en este grupo de pacientes y en conjunto tienen una sensibilidad de alrededor del 70% (3).

En este trabajo la utilidad del cepillado bronquial y el LBA fue menor que la observada para la BTB. El cepillado bronquial permitió reportar solamente procesos inflamatorios inespecíficos y mediante el LBA se reportaron 6 casos con esporas para *Cándida*, en tres casos levaduras de *Histoplasma capsulatum* y se reportó positividad para malignidad en un caso.

El LBA se ha usado ampliamente en el diagnóstico de las infecciones pulmonares por

gérmenes tales como: *Mycobacterium tuberculosis*, *P. jiroveci*, *Legionella*, *Histoplasma* y *Nocardia*, entre otros; pero su sensibilidad y especificidad varían en función de varios aspectos tales como inmunocompetencia del paciente, manejo y procesamiento de la muestra y de la utilización de antibioterapia previa. Además, si el infiltrado existente es del tipo intersticial con poco o escaso compromiso alveolar, es poco probable que se obtenga algún diagnóstico (3).

La BTB constituye un valioso método diagnóstico de bajo riesgo de morbilidad. Las complicaciones asociadas al procedimiento son pocas y solo significativas en los pacientes con falla respiratoria aguda. Las complicaciones más frecuentes son el neumotórax y la hemorragia. Se recomienda no realizar la toma de la biopsia en el lóbulo medio y en la llingula; así como en pacientes con riesgo aumentado de hemorragia (uremia, neoplasias, trastornos de coagulación) (3,5).

En el presente estudio no se presentaron

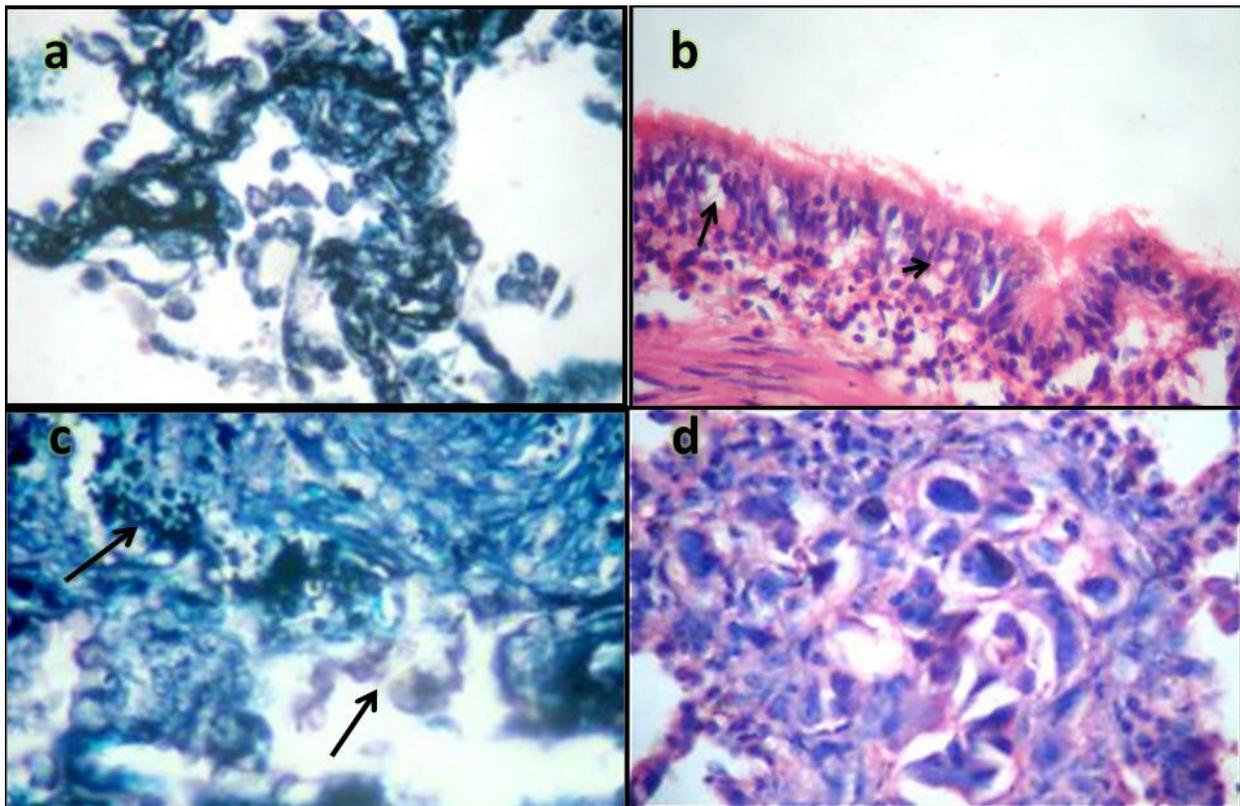


Figura 1. **1a** Microfotografía que muestra la presencia de quistes de *P. Jiroveci*, coloreados con Grocott. **1b** Microfotografía que muestra epitelio bronquial con pseudomembrana eosinofílica. Las células presentan citoplasma claro con vesículas (indicado por las flechas) **1c** Microfotografía donde se observan levaduras de *Histoplasma* y quistes de *P Jiroveci* (ver flechas). **1d** Microfotografía que muestra Neoplasia maligna epitelial indiferenciada.

complicaciones para el momento de la toma de la biopsia y en la mayoría de los casos el procedimiento se realizó de manera ambulatoria. De hecho, se reporta que a pesar que estos pacientes a menudo son neutropénicos, trombocitopénicos e hipoxémicos, la incidencia de complicaciones asociadas a estos procedimientos no es significativamente diferente del resto de la población. Por el contrario, son conocidas las ventajas asociadas a un diagnóstico preciso y terapia específica, que sobrepasan los inconvenientes asociados al procedimiento (5,10). La BTB es de gran aplicación en la patología pulmonar infecciosa, en la enfermedad difusa aguda, en lesiones focales centrales y es poco útil en la enfermedad intersticial, ya que solo se observan muestras de la proximidad de las estructuras bronquiales (10).

El tejido obtenido en una BTB, debe estar conformado por tres hasta seis fragmentos y contener al menos veinte espacios alveolares. En el material se debe evaluar el intersticio, el epitelio alveolar, el estado de los espacios aéreos y la microvasculatura. En este procedimiento, tanto el material obtenido como la ubicación de la lesión, influyen en los resultados obtenidos.

En el presente trabajo no todas las muestras examinadas contaron con estos criterios. En 5 de 36 (14%) casos las muestras recibidas fueron muy pequeñas y no mostraron el número de alveolos requeridos. No obstante, a pesar de esta limitante se observó una respuesta inflamatoria en diferentes grados de intensidad.

En la mayoría de los casos, en los cortes histológicos se evidenció inflamación crónica de moderada a severa y DAD en diferentes estadios evolutivos, en fase exudativa o proliferativa, con hiperplasia de los neumocitos tipo I y II, asociado a abundante edema con exudado intraalveolar, eosinofílico y de aspecto espumoso. En muchos casos hubo acumulación intraalveolar de detritus celulares, con descamación de los neumocitos y presencia de membranas hialinas.

Es importante resaltar, que ante un DAD con estos hallazgos histológicos, se debe descartar en primer lugar, la presencia de *P. jiroveci* (11). En tal sentido, en 23 (64%) de las muestras, al utilizar la tinción de Grocott se observaron quistes y/o trofozoitos de este agente etiológico (figura 1a).

Los mecanismos por los cuales el *P. jiroveci* produce DAD no son bien conocidos. Se ha propuesto que pudiera existir un efecto directo del *P. jiroveci* sobre los neumocitos tipo I; aunado a cambios en el surfactante. Esto ocurre gracias a la unión del hongo con las células epiteliales alveolares, que produciría un

incremento en la permeabilidad de la membrana alveolo-capilar (12).

En la literatura se ha estimado que hasta un 75% de los pacientes con SIDA desarrollarán un evento por infección por *P. jiroveci* durante su vida. Y es que en el 10 y 15% de los casos puede ocurrir en pacientes con un recuento celular mayor a 200 linfocitos T CD4+/mL (13,14). No obstante, gracias al uso de TARGA su incidencia ha disminuido en la última década. No obstante, en países sin acceso universal al tratamiento, tal es el caso de este grupo en estudio, donde el 53% no recibía tratamiento, este agente infeccioso ocupa el primer lugar como enfermedad oportunista. (11,14,15).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los resultados obtenidos por otros investigadores. En esta serie, la primera causa de afectación pulmonar fue por causa de *P. jiroveci*. El hongo se observó en 23 muestras, con las alteraciones histológicas descritas anteriormente. Fue interesante el hallazgo de la presencia de este hongo asociado a otros agentes etiológicos. En 14 de estas 23 muestras se observaron alteraciones inflamatorias inespecíficas compatibles con infección viral. De igual forma, se observaron esporas de *Cándida*, levaduras de *Histoplasma* y/o colonias de bacterias con reporte microbiológico positivo para *Streptococcus viridans* (Tabla1).

Al relacionar estos hallazgos, con el recuento de linfocitos T CD4+ se evidenció que los pacientes estudiados que se encontraban en fase SIDA correspondió al 36% y que el compromiso pulmonar se debió a la presencia de *P. jiroveci* asociado a otros agentes etiológicos (tabla1). De igual forma, fue relevante encontrar la coexistencia de *P. jiroveci* con hifas de *Cándida* sp y levaduras de *Histoplasma* (figura 1c).

En los casos de Histoplasmosis se observó una respuesta inflamatoria granulomatosa específica con escasa necrosis central. La Histoplasmosis en fase diseminada se reconoce como una infección marcado-ra de SIDA, por lo que su importancia clínica y epide-miológica se ha ido extendiendo en la medida en que ha avanzado esta pandemia. En este estudio dos de los tres casos diagnosticados mostraron un recuento de linfocitos T CD4+ menor a 200 cel/ml. Estos pacientes presentaron evolución tórpida y uno de ellos falleció. No se realizó autopsia por lo que desconocemos la fase de evolución de la Histoplasmosis.

La coexistencia de diferentes agentes infecciosos, se reporta en el 10,5% de los casos. En la

literatura, la asociación más frecuente es la de *P. jiroveci* y *Cryptococcus sp.* También se menciona la asociación de patología infecciosa y neoplásica. Es así como, puede observarse neumonía por *Citomegalovirus (CMV)* y Sarcoma de Kaposi (16). En los inicios de la epidemia el *Cryptococcus sp* y *Cándida sp* constituían las causas más frecuentes de infección oportunista micótica. Luego se sumaron la histoplasmosis, coccidioidomicosis y blastomicosis. La presencia de complicaciones consecuentes a la terapia del SIDA, el empeoramiento defensivo sistémico y los factores frecuentemente presentes en pacientes aguda y crónicamente enfermos, permiten la presencia de estos agentes (11,17).

Otro grupo de gérmenes frecuentes en los pacientes VIH/SIDA lo constituyen las mycobacterias. El *Mycobacterium tuberculosis* sigue siendo uno de los agentes que con mayor frecuencia afecta a los pacientes con SIDA. La Tuberculosis puede ser la primera manifestación clínica que indica que un paciente está infectado por el HIV. En áreas donde la Tuberculosis es endémica, hasta un 50% de los pacientes inmunodeprimidos presentan esta patología.

En Venezuela para el año 2005, se notificaron 6.600 casos nuevos de Tuberculosis en todas las formas, lo que representó una tasa de 24,99 por 100.000 habitantes. Numerosos factores contribuyen al mantenimiento de esta entidad. El incremento de la población en condiciones de pobreza, el crecimiento de la marginalidad, el incremento de la migración, el debilitamiento de los programas de salud y por ende la deficiencia de los mismos, la multirresistencia a los fármacos para el control de la Tuberculosis y la pandemia del VIH convierten a esta enfermedad en un problema de salud pública (18).

En el presente grupo de estudio se esperaba un mayor número de casos con Tuberculosis pulmonar. No obstante, en el material de biopsia examinado no hubo evidencia de la enfermedad. Así como en el resto de estudios complementarios tales como BK en esputo y cultivos. Esto contrarresta con lo anteriormente expuesto, dado que este grupo de pacientes VIH/SIDA representa el de mayor riesgo para esta entidad.

Estos resultados son semejantes a los reportados por la Dirección General de Epidemiología, en el Boletín de Análisis situacional sobre Tuberculosis para el año 2005 (18). En ese informe el estado Mérida se ubicó en el Estrato III, con condiciones de nivel de vida intermedio y como una zona óptima con bajo nivel de riesgo para la Tuberculosis. En este sentido, el 82% de los pacientes estudiados en el presente trabajo

procedían del medio urbano, donde probablemente tuvieron un mayor acceso a un conjunto de medidas sanitarias impartidas por organizaciones que realizan campañas de concienciación y prevención sobre el SIDA. De esta forma, el nivel socio cultural y las mejores condiciones de vida pudieron influir en la baja incidencia de la enfermedad.

Otros hallazgos interesantes se observaron en los bronquios. En algunos casos, se observó la presencia de una pseudomembrana en la superficie epitelial y en otros casos hubo una inflamación necrotizante con ulceración y esfacelación del epitelio con formación de seudovesículas o ampollas. Algunas células epiteliales eran de gran tamaño, con abundante citoplasma claro, con formación de vacuolas y núcleos con aspecto de "vidrio esmerilado", otras con forma de balón y con inclusiones basófilas intranucleares. Lamentablemente ante la ausencia de estudios complementarios como los de carga viral; estos hallazgos se interpretaron como lesiones compatibles con infección viral probablemente por el virus Herpes o el CMV (19) (figura 1b).

Las infecciones por virus son infrecuentes y se encuentran asociadas a intensa inmunodepresión. De los 8 tipos de virus de la familia *Herpesviridae*, seis de ellos producen importante morbilidad en los pacientes con SIDA. Estos son: CMV, *Herpes simple tipo 1 y 2*, *Varicela zoster*, *Epstein-Barr* y *Virus herpético humano* tipo 8. La infección pulmonar por cualquiera de ellos puede manifestarse como una neumonitis intersticial difusa, mientras que el virus del Herpes simple puede producir además traqueobronquitis necrotizante focal (20).

El CMV es el agente etiológico más frecuente de las infecciones virales en pacientes con SIDA. Se puede aislar de las secreciones del árbol respiratorio, pero es poco frecuente que produzca afecciones pulmonares. Es más común encontrarlo en combinación con otras infecciones, en particular *P. jiroveci*. Pero según el Centro de control de Enfermedades (CDC), para considerarlo patógeno, su hallazgo debe ser único (21).

En el presente estudio se encontraron catorce (14) muestras con hallazgos sugestivos de infección por virus, con las características descritas anteriormente. En la mayoría de estas muestras se observó el *P. jiroveci*. Sólo en cuatro de ellas se diagnosticó Neumonía Intersticial Inespecífica al no identificar el agente causal.

Otros hallazgos relevantes fueron las lesiones vasculares tales como: vasculitis, trombos, zonas de infarto y alteraciones en la pared de los

grandes vasos pulmonares: Hiperplasia e hipertrofia de la capa muscular, que pudieran interpretarse como signos de Hipertensión pulmonar (HAP). Si bien es cierto, que el diagnóstico de HAP se realiza en biopsias pulmonares quirúrgicas que permiten una mejor evaluación de la pared vascular, no se debería pasar por alto este hallazgo.

Se sabe, que la HAP puede complicar la infección por VIH. El diagnóstico requiere un alto grado de sospecha clínica y una cuidadosa evaluación para excluir otras causas de HAP secundaria en pacientes con infección por el VIH. El síntoma principal es la disnea. Otros síntomas son los relacionados con la insuficiencia cardíaca derecha, el síncope, el dolor torácico y la tos no productiva (22).

El pronóstico de pacientes con HAP asociada a la infección por el VIH es peor que el de los pacientes VIH positivos sin hipertensión pulmonar (23). La causa de muerte de estos enfermos es atribuible a la HAP en el 81% de los casos, existiendo insuficiencia cardíaca derecha en el 76% de los casos y muerte súbita en el 20%(24).

Uno de los casos presentó una neoplasia maligna epitelial indiferenciada (figura 1d). Las neoplasias se consideran importantes en la evolución de los pacientes VIH/SIDA. Las más frecuentes son los linfomas de células B y el Sarcoma de Kaposi. El linfoma es una manifestación tardía de la infección por VIH y se desarrolla cuando existe una gran depresión del sistema inmune. El sarcoma de Kaposi es una manifestación precoz de la infección por VIH y puede aparecer con recuentos normales de linfocitos T CD4+ (25).

Otro grupo de neoplasias que pueden ser observada en estos pacientes son: Tumor de células germinales, Enfermedad de Hodgkin, Cáncer de pulmón, Cáncer de piel y Cáncer de la región anal. Es importante destacar que las neoplasias referidas en estos pacientes son neoplasias malignas muy raras y de aparición en edades no habituales (26).

Finalmente, consideramos que la BTB es un procedimiento diagnóstico invasivo, sencillo, de bajo costo y con baja morbimortalidad. En los pacientes

inmunodeprimidos, el pulmón es uno de los órganos más afectados, con lesiones localizadas e infiltrados difusos. La necesidad de establecer una terapia específica temprana obliga a identificar al agente etiológico. Por tanto, la obtención de muestras histológicas que permitan realizar diagnósticos más precisos, mediante coloraciones especiales, ultraestructura, inmunohistoquímica, inmunofluorescencia o de biología molecular, fortalece su utilización en aras de un diagnóstico adecuado. Por lo tanto, al comparar los resultados obtenidos con la BTB con los del LBA y el Cepillado bronquial se manifiesta la gran utilidad de esta técnica en el estudio de pacientes VIH/SIDA; así como su sensibilidad y especificidad en la variedad de los diagnósticos obtenidos y su escasa morbimortalidad.

Además, su aplicación esclarece la etiología del padecimiento, su topografía, su extensión y determina el tipo y grado del daño del parénquima pulmonar y su posible evolución ulterior. También permite realizar diagnósticos diferenciales, al tiempo de considerar la posibilidad de que exista más de un agente etiológico. Por otro lado, hay que recordar que en pacientes VIH/SIDA no todos los infiltrados pulmonares son de causa infecciosa; sino que pueden corresponder a una Neoplasia Maligna.

De igual forma, el diagnóstico de HAP en fase inicial o antes de mostrar sintomatología significa un beneficio para este grupo de pacientes

Agradecimientos

Esta investigación contó con el apoyo del CDCHT-ULA, Mérida a través del proyecto código M-970-09-07-B.

A la Sra. Rosa Caicedo, técnico de la Cátedra de Anatomía Patológica por el procesamiento del material histológico.

Al grupo de Citotecnólogos del Servicio de Anatomía Patológica del IAHULA por el apoyo en el manejo y procesamiento de los preparados citológicos

Referencias

1. Kahn JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *New Engl J Med.* 1998; 339: 33-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Becker HD, Shirakawa T, Tanaka F, Müller KM, Herth F. Transbronchial lung biopsy in the immune compromised patient. *Eur Respir Mon.* 1998; 9: 193-08.
3. Escribano Montaner A, Moreno Galdo A. Técnicas fibrobroncoscópicas especiales: lavado broncoalveolar, biopsia bronquial y biopsia transbronquial. *An Pediatr (Barc).* 2005; 62: 352-66. [[Google Scholar](#)]
4. Leslie KO, Gruden JF, Parish JM, Scholand MB. Transbronchial Biopsy Interpretation in the Patient With Diffuse Parenchymal Lung Disease. *Arch Pathol Lab Med.* 2007; 131: 407-23. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Casoni GL, Cordeiro CR Jr, Tomassetti S, Romagnoli M, Chilosi M, Cancellieri A,

- Gurioli C, Poletti V. The role of transbronchial biopsy in the diagnosis of diffuse parenchymal lung diseases. *Pro Rev Port Pneumol.* 2012; 18: 57-60. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
6. Schumann GB, Swensen JJ. Comparison of Papanicolaou's stain with the Gomori methenamine silver (GMS) stain for the cytodagnosis of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid. *Am J Clin Pathol.* 1991; 95: 583-86. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 7. Raab SS, Chevillie JC, Bottles K, Cohen MB. Utility of Gomori methenamine silver stains in bronchoalveolar lavage specimens. *Mod Pathol.* 1994; 7: 599-604. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 8. Ulukanligil M, Aslan G, Tasci S. A comparative study on the different staining methods and number of specimens for the detection of acid-fast bacilli. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2000; 95: 855-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 9. Gupta E, Bhalla P, Khurana N, Singh T. Histopathology for the diagnosis of infectious diseases. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27: 100-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 10. Churg A. Transbronchial biopsy. Nothing to fear. *Am J Surg Pathol.* 2001; 25: 820-2. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 11. Cortés-Télles A, Juárez Hernández F, Peña Mirabal ES. Neumonía por *Pneumocystis jirovecii* en pacientes con VIH. *Neumol Cir Torax.* 2011; 70: 165-71. [\[Google Scholar\]](#)
 12. Thomas CF Jr, Limper AH. Pneumocystis pneumonia. *N Engl J Med* 2004;350: 2487-98. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 13. Kovacs JA, Masur H. Evolving health effects of *Pneumocystis*: one hundred years of progress in diagnosis and treatment. *JAMA.* 2009;301:2578-85. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 14. Boyton RJ. Infectious lung complications in patients with HIV/AIDS. *Curr Opin Pulm Med.* 2005; 11: 203-07. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 15. Afione C, Della A, Frank L. Manifestaciones pulmonares en pacientes con SIDA. *RAR.* 2008;72: 93-105.
 16. Negroni R. Historical evolution of some clinical and epidemiological knowledge Of coccidioidomycosis in the Americas. *Argent Microbiol.* 2008; 40: 246-56. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 17. Haddad NE, Powderly WG. The changing face of Mycoses in patients with HIV/AIDS. *AIDS Read.* 2001; 11: 365-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 18. Dirección General de Epidemiología. Tuberculosis. Análisis Situacional. Boletín Situacional. Oficina de Análisis de Situación de Salud 2007; 1: 1-32.
 19. Alarcón R, Arredondo M, Samaniego S, Taboada A, Benítez G. Infección por citomegalovirus en Pacientes con SIDA. *Rev Inst Med Trop.* 2009; 4: 7-13. [\[Google Scholar\]](#)
 20. Waxman AB, Goldie SJ, Brett-Smith H, Matthay RA. Cytomegalovirus as a primary pulmonary pathogen in AIDS. *Chest* 1997; 111: 128-34. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 21. Gassiot Nuño C, Pino Alfonso PP, Ramos Gómez MM. Neumopatías asociadas al SIDA. *Acta Med Hosp Clin Quir.* 2000;9: 73-89 [\[Google Scholar\]](#)
 22. Naval N. Clasificación actual de la Hipertensión pulmonar. *Insuf Card.* 2011, 6: 30-8.
 23. Maur R, Bortman G. Hipertensión arterial pulmonar asociada a infección por el Virus de la inmunodeficiencia humana. *Insuf Cardiac.* 2007; 2 : 41-2.
 24. Martínez Torres MA, Pavón R, Corzo J, Pastor L. Hipertensión pulmonar asociada a infección por VIH: revisión de 4 casos. *Rev Español Cardiol* 2002; 55: 673-7. [\[Google Scholar\]](#)
 25. Santos J, Palacios R, Ruiz J, González M, Márquez M. Unusual malignant tumours inpatients with HIV infection. *J STD AIDS.* 2002; 13: 674-6. [\[Google Scholar\]](#)
 26. Grulich AE, Van-Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet.* 2007; 370: 59-67. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#).

Como citar éste artículo:
 Fuenmayor CE, García M, Contreras I, Santeliz J, Milano M, García A, Faieta A, Pérez R. Utilidad de la biopsia transbronquial en el diagnóstico de enfermedades pulmonares en pacientes VIH/SIDA. *Avan Biomed* 2014; 3: 8-15



Correlación entre niveles de ferritina sérica y unidades de transfusión recibidas por pacientes con anemias hereditarias hemolíticas en el estado de Zulia, Venezuela (Correlations between ferritin levels and transfusion units received by patients with hereditary hemolytic anemia in the state of Zulia, Venezuela)

Ana Gregoria Ruiz Medina¹ ✉, Olga Briceño¹, Melvis Arteaga-Vizcaíno², María Eugenia Vizcaíno³, Zaida Plumacher⁴, Jesús Quintero^{2,5}, Maczy González¹, Maribel Quintero¹, José Urdaneta¹

¹Departamento de Morfofisiopatología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. ²Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. ³Servicio de Hematología, Hospital Dr. Adolfo Pons, Maracaibo, Estado Zulia. ⁴Instituto Hematológico de Occidente-Banco de Sangre del Estado Zulia. ⁵Hospital Universitario de Maracaibo, Estado Zulia

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 9 de Septiembre de 2013. Aceptado: 25 de Marzo de 2014.

Resumen

La hipertransfusión es un tratamiento comúnmente utilizadas en pacientes con anemias hemolíticas hereditarias (AHH), como la anemia de células falciformes (ACS) y/o beta talasemia (β T). Las concentraciones de ferritina sérica son constantemente monitoreadas en estos pacientes para detectar rápidamente la presencia de sobrecarga de hierro. El objetivo del estudio fue determinar si hubo correlación entre los valores de ferritina sérica y el número de unidades de transfusión de concentrado eritrocitario suministradas a los pacientes con ACS y β T mayor o intermedia durante un año. Se realizó un estudio prospectivo de 39 pacientes, 22 fueron diagnosticados de ACS y 17 con β T, en edades comprendidas entre los 4 y 82 años. Estos pacientes fueron tratados en el "Instituto Hematológico de Occidente -Banco de Sangre del Estado Zulia y el Hospital Universitario de Maracaibo-Venezuela". Ferritina sérica se determinó por el método de quimioluminiscencia. La media y la desviación estándar de ferritina fueron $915,4 \pm 567,8$ ng/ml para los pacientes con ACS y $3.338 \pm 874,6$ para β T ($p: 0.0001$). Las unidades de concentrado eritrocitario transfundidas fueron $6 \pm 2,3$ y $21 \pm 7,5$ respectivamente ($p: 0.0001$). Hubo correlación estadísticamente significativa entre el número de unidades de concentrado eritrocitario transfundidas y los valores de ferritina sérica en el grupo de ACS ($r=0,832$, $p=0,0001$) y el grupo β T ($r=0,491$, $p=0,045$). Los resultados del presente estudio sugieren una estrecha correlación entre las concentraciones de ferritina sérica y las unidades de concentrado eritrocitario transfundidas en los pacientes con ACS pero no en los pacientes con β T

Palabras clave

Ferritina sérica, unidades de transfusión, anemia de células falciformes, beta talasemia

Abstract

Blood transfusions are a commonly used treatment or patients with hereditary hemolytic anemias, such as: sickle cell anemia (SCA) and / or beta thalassemia (β T). Ferritin levels are constantly monitored in these patients for early detection of iron overload. The aim study was to determine whether or not there was a correlation between serum ferritin values and the number of units of packed erythrocyte transfused in patients with SCA and β T major or intermedia for a year. A prospective study was performed with 39 patients, 22 were diagnosed with SCA and 17 were diagnosed with β T. Their ages ranked between 4 to 82 years of age. These patients were treated at the "Instituto Hematológico de Occidente-Banco de Sangre Estado Zulia and Hospital Universitario de Maracaibo-Venezuela". Serum ferritin was determined by a chemiluminescence method. The mean and standard deviation for ferritin values were 915.4 ± 567.8 ng / ml for patients with SCA and $3,338 \pm 874.6$ for β T ($p: 0.0001$). The units of packed-red blood cells transfused were 6 ± 2.3 and 21 ± 7.5 , respectively ($p = 0.0001$). There was a statistically significant correlation between the number of packed-red blood cell units transfused and the ferritin values in the SCA group ($r = 0.832$, $p = 0.0001$), and the β T group ($r = 0.491$, $p = 0.045$). The results of this study suggest a strong correlation between serum ferritin concentrations and erythrocyte concentrate units transfused in patients with SCA but not in patients with β T

Keywords

Serum ferritin, transfusion units, sickle cell anemia, beta Thalassemia.

Introducción

Los pacientes con Anemia Hemolítica Hereditaria (AHH) se caracterizan por la destrucción acelerada de eritrocitos que conduce a la aparición de anemia, pudiendo requerir de un régimen de transfusiones a lo largo de toda su vida (1). De todas estas patologías, la ACS y la Talasemia son las de mayor importancia en el mundo por su alta frecuencia y morbimortalidad (2) y debido a la diversidad de población de Venezuela, estos desordenes genéticos también se encuentran en este país (3).

En Venezuela la presencia de la ACS y la Talasemia están íntimamente ligadas a la colonización, así tenemos que la mayoría de la población venezolana es un híbrido de indígenas, colonos españoles y esclavos africanos, pero con la posterior contribución de inmigrantes italianos, españoles y portugueses (3). Con la llegada de los africanos se introdujo en el país la ACS (4), mientras los españoles e italianos aportaron la Talasemia (3).

Se ha observado las mayores frecuencias de ACS en poblaciones costeras, produciéndose una abrupta disminución en las poblaciones localizadas en la cordillera de los Andes. En efecto, en investigaciones nacionales se ha reportado: Distrito Federal 2,4%; Estado Carabobo 2,6%; Estado Zulia 3,5%, Estado Falcón: Punto Fijo 5,1% y Curimagua 3,4%; Aragua 3,3%, Sucre 2,6%(5). Con respecto a Talasemia de 80.400 individuos provenientes de estudios poblacionales realizados en diferentes regiones del país durante 20 años, la βT fue diagnosticada en un 14,2%, no existiendo estadísticas para cada región (3).

En un principio, las transfusiones con concentrados eritrocitarios en pacientes con AHH se utilizaron para corregir las bajas cifras de hemoglobina, pero luego se enfatizó su empleo en el tratamiento y prevención de algunas complicaciones de estas enfermedades (crisis vasooclusivas, sequestro esplénico, síndrome torácico agudo, riesgo aumentado de accidentes cerebrovasculares, etc.) (6,7). Hoy día la terapia transfusional tiene sus indicaciones precisas y se conocen diversas modalidades.

Entre las modalidades de terapia transfusional que reciben los pacientes con AHH se incluye el régimen clásico o de transfusión a demanda el cual solo se cumple cuando la hemoglobina desciende por debajo de un determinado nivel (<70-80 g/l), mientras que en el régimen de hipertransfusión se administran tantas transfusiones como sean necesarias, para evitar que la hemoglobina descienda por debajo de 100 g/l. Esta cifra es importante, ya que la reducción de

eritropoyesis supone una drástica disminución de la absorción de hierro intestinal. Una variante de la hipertransfusión es la llamada "supertransfusión", en la cual el hematocrito debe mantenerse siempre por encima del 35% (Hb >120 g/l). Un programa de supertransfusión o hipertransfusión requiere, en general, la transfusión de 2-3 concentrados de hematíes cada 2-4 semanas (8).

Entre los beneficios que se pretenden alcanzar con la administración de componentes sanguíneos se conocen el incremento del hematocrito y con ello, aumento de la capacidad de transporte de oxígeno a los tejidos y reducción de la eritropoyesis; la dilución y remoción de las células con hemoglobina anormal y en consecuencia, la disminución de la viscosidad y la mejoría del flujo sanguíneo (5).

Sin embargo, las transfusiones sanguíneas frecuentes tienen numerosos efectos adversos entre los que se destaca la sobrecarga de hierro que ocurre por la incapacidad que tiene el organismo de eliminar el hierro acumulado, debido a que una porción del hierro transfusional satura la transferrina y el resto, que no se une a esta proteína, circula en el plasma y es tomado por las células del parénquima hepático (especialmente) y depositado como ferritina y hemosiderina (2,5), trayendo como consecuencia el daño en órganos vitales. Las complicaciones más frecuentes de este cuadro clínico son cirrosis hepática, diabetes mellitus, artritis, hipogonadismo e insuficiencia cardiaca congestiva (6).

El estudio conocido como "Registro de pacientes en América Latina con Hemosiderosis transfusional" (RELATH) en el cual participaron nueve países (Argentina, Brasil, Colombia, Ecuador, México, Panamá, Perú, Trinidad y Tobago y Venezuela), mostró que los pacientes con anemia que recibían transfusiones frecuentes y que presentaron valores elevados de hierro fueron aquellos con diagnóstico de ACS (44%), Talasemia (17%), Anemia Aplásica (14%) y Síndromes Mielodisplásicos (7%) (6).

Se asume que transfundir una cantidad igual o mayor de 120 ml/kg-peso de concentrado eritrocitario produce sobrecarga (9). Esta sobrecarga puede detectarse después de las primeras 10-20 transfusiones, lo que ocurre aproximadamente cerca de los 3 años después de iniciadas las transfusiones (10).

En investigaciones realizadas por el Consejo Superior de Deporte de España ponderan que una unidad de concentrado de hematíes contiene unos 250 mg de hierro y después de múltiples transfusiones, la

sobrecarga de hierro del organismo puede llegar a ser de hasta 100 g, acumulándose en el corazón, el hígado y otros órganos (11).

Para establecer el diagnóstico de sobrecarga de hierro es necesario conocer la concentración de este metal en diferentes órganos y evaluar el funcionamiento del corazón, hígado y glándulas endocrinas. La medición bioquímica cuantitativa del hierro no hemínico en biopsias hepáticas constituye el método más exacto y directo para evaluar la magnitud de la sobrecarga de hierro, así como para guiar el tratamiento. Dentro de las mediciones indirectas, usualmente el empleo de dos o más parámetros proporciona una buena aproximación de la cantidad total de hierro acumulada. El hierro en suero se encuentra siempre elevado y la saturación completa de la transferrina se correlaciona con los niveles de ferritina (12).

Por otro lado, se conoce que los pacientes con ACS o β T que reciben hemotransfusión frecuente, tienen un mayor riesgo de presentar varias condiciones que afectan la relación de ferritina y reservas de hierro, especialmente infecciones crónicas y agudas, respuesta inflamatoria a los infartos de la microvasculatura, enfermedad hepática y anemia hemolítica crónica con hiperplasia eritroide. No obstante lo anterior, las mediciones seriadas de ferritina sérica siguen siendo un método confiable y sencillo para evaluar la tendencia a la sobrecarga de hierro y la eficacia de la terapia de quelación (12,13). La ferritina se considera elevada por encima de 200 μ g/l para mujeres premenopáusicas y mayor de 300 μ g/L para hombres y mujeres posmenopáusicas (14).

El objetivo de este trabajo fue correlacionar el número de unidades de concentrados de eritrocitos transfundidos durante un año de estudio y el valor de ferritina sérica encontrado en pacientes con ACS y β T mayor o intermedia, atendidos en la consulta externa de Hematología del Instituto Hematológico de Occidente-Banco de Sangre del Estado Zulia y Hospital Universitario de Maracaibo – Venezuela.

Materiales y Métodos

Selección de pacientes: se estudiaron 39 pacientes con edades comprendidas entre 4 y 82 años, atendidos en la consulta externa de Hematología del Instituto Hematológico de Occidente-Banco de Sangre del Estado Zulia y Hospital Universitario de Maracaibo-Venezuela, durante el año 2011, con diagnóstico de AHH, 22 con ACS y 17 con β T. Todos los individuos habían sido politransfundidos con concentrados

eritocitarios con un volumen aproximado de 300 ml por unidad.

Los criterios de inclusión que se consideraron para la ejecución de la investigación consistieron en concentraciones de ferritina en suero superiores a 200 μ g/l para mujeres premenopáusicas o mayor de 300 μ g/l para hombres y mujeres posmenopáusicas (14), valores aceptados universalmente para el diagnóstico de sobrecarga de hierro. Así mismo, para descartar sobrecarga de hierro por otras patologías frecuentes, el paciente no debía presentar hepatitis B y/o C, hipertensión arterial, enfermedades endocrino-metabólicas, ni tener abuso de alcohol (más de 60 g/día) (15).

Se recolectó información de la historia médica del paciente durante el año de estudio, en cuanto a las unidades de transfusión recibidas, el tipo de concentrado sanguíneo administrado (confirmado con el registro de transfusiones realizados en las Instituciones participantes en esta investigación). De igual manera, se investigó la ingesta de quelantes de hierro, mediante interrogatorio del paciente en la consulta y registros en su historia. Para este estudio se obtuvo el consentimiento por escrito del paciente o representante y de las Instituciones participantes, así como con la colaboración del médico tratante siguiendo las normas de ética establecidas para trabajos de investigación en humanos, por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la declaración de Helsinki ratificada por la 59th Asamblea General de la Asociación Médica Mundial, Seúl, Corea, Octubre, 2008 (16).

Obtención y análisis de las muestras de suero: a cada sujeto, en estado estacionario, con un período de ayuno de 12 horas, se le realizó una extracción por punción venosa en antebrazo derecho, de 6 ml de sangre que se dispensaron en un tubo sin anticoagulante, estéril, libre de hierro, para obtención de suero y luego se procedió a la determinación de hierro sérico, Capacidad Total de Fijación del Hierro con la transferrina (CTFH) y porcentaje de Saturación de la Transferrina (%ST), por el método colorimétrico (17) en un autoanalizador de química sanguínea marca System Vitros 2500 (Ortho-Clinical Diagnostics de Jhonson&Jhonson, USA). La ferritina sérica se realizó por el método de quimioluminiscencia (18) con el equipo de SIEMENS (reactivo: immune/immunité 1000 Ferritin systems). Los valores referenciales utilizados fueron para el hierro sérico de 50-160 μ g/dl, para el CTFH de 250-400 μ g/dl, para el %ST de 20-45% y para la ferritina sérica de 15-300 ng/ml (19).

Este procedimiento se realizó en tres o más oportunidades, previo a la transfusión sanguínea, con

la finalidad de corroborar que estos valores se mantuvieran por encima de los estipulados para el estudio.

Análisis estadísticos: los resultados se expresaron en valores absolutos, rango y media ± desviación estándar. La normalidad de los datos se estimó con la pruebas de Shapiro-Wilk y para comparar las medias entre las variables se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney(20). El coeficiente de Spearman fue empleado para establecer la correlación entre las unidades de concentrado eritrocitario transfundidas y ferritina sérica en los grupos estudiados. Se consideró como 95% el índice de confiabilidad estadística (p <0.05). Para ello, se empleó la versión 17.0 del paquete estadístico SPSS (SPSS Inc. Chicago, Illinois, Estados Unidos).

Resultados

Las características de los pacientes con AHH se observan en la Tabla 1. Del total de 39 pacientes estudiados, 22 tenían diagnóstico de ACS y 17 de βT. La media y la desviación estándar de la edad fue de 26 ±18,9 años (rango: 4–82 años) y 56,4 (22/39) fueron del sexo masculino. No hubo diferencia significativa en relación a la edad y el sexo, entre el grupo de ACS y βT. En cuanto al número de transfusiones de concentrado eritrocitario durante el año de estudio se encontró diferencia significativa (p: 0.0001) entre la media del grupo de ACS (6±2,3) y la de los βT (21±7,5). Con respecto, a la administración de agentes quelantes, 46,4% de los pacientes con AHH, cumplían tratamiento, (50% de los pacientes con AF y 47,1% de los pacientes con βT).

En la Tabla 2 se muestran los parámetros de hierro de los pacientes estudiados. La media ± desviación estándar para el hierro sérico, CTFH, % ST y ferritina sérica fue de 171,4 ± 72,2 µg/dl; 249,2 ± 59,5 µg/dl; 65 ± 20,2 % y 1.971,4 ± 1.407,7 ng/ml, respectivamente. Se encontraron valores más altos para CTFH y más bajos para %ST en el grupo de ACS en relación al grupo de βT (p: 0.001 y 0.0001) respectivamente. Los valores de ferritina de los pacientes con βT fueron más elevados con respecto a los de ACS, con una diferencia estadísticamente significativa (p: 0.0001).

La Tabla 3 muestra la correlación entre la concentración de ferritina sérica y el número de unidades de transfusión, en pacientes con ACS y βT. Se puede observar significación estadística entre estos dos parámetros para todos los pacientes con AHH (r: 0.917, p: 0.0001) como en los grupos de ACS (r: 0.832, p: 0.0001) y βT (r: 0.491, p: 0.045).

Discusión

La literatura existente acerca de la epidemiología de la sobrecarga de hierro en pacientes con AHH en América Latina, es escasa. Debido a esta situación, se inició el estudio conocido como RELATH (6) en el cual participaron nueve países (Argentina, Brasil, Colombia, Ecuador, México, Panamá, Perú, Trinidad y Tobago y Venezuela), y cuyos resultados preliminares obtenidos de 236 pacientes con anemia que recibían transfusiones frecuentes y que presentaron valores elevados de hierro, se distribuyeron según el diagnóstico de la siguiente manera: ACS (44%), Talasemia (17%), Anemia Aplásica

Tabla 1. Características generales de los pacientes con anemia hemolítica hereditaria estudiados.

Diagnóstico	Características				
	Edad (años)	Sexo		Transfusiones (durante un año)	Quelación
		F	M		
	M±DS Rango	%	%	M±DS Rango	%
Anemia hemolítica hereditaria (39)	26 ± 18,9 4-82	43,6 (17)	56,4 (22)	12,4 ± 9 2-34	48,7 (19)
Anemia falciforme (22)	29,7 ± 21,3	36,4 (8)	63,6 (14)	*6 ± 2,3	50 (11)
Beta talasemia (17)	21,3 ± 14,6 5-48	52,9 (9)	47,1 (8)	*21 ± 7,5 10-34	47,1 (8)

M±DS: Media ± desviación estándar. F: Femenino. M: Masculino. Uds: Unidades. Los números entre paréntesis representan los casos. *p: 0.0001

(14%) y Síndromes Mielodisplásicos (7%). Como puede notarse el 61% corresponde a ACS y Talasemia.

Los sujetos con β T y ACS comienzan la terapia de transfusión a tempranas edades por diferentes razones, pero en última instancia, el curso de la terapia es crónica (7), siendo el mayor riesgo la sobrecarga de hierro y/o hemosiderosis. La validación de un método de medición de hierro en pacientes con múltiples transfusiones es esencial para optimizar la quelación terapéutica, el control del hierro de carga y evitar la toxicidad quelante. Tradicionalmente, esto se consigue utilizando la medición de la concentración de ferritina sérica como método estándar de evaluación de la cantidad total de hierro en el organismo (21).

En este trabajo se estudiaron 39 pacientes con diagnóstico de AHH con sobrecarga de hierro, 22 con ACS y 17 con β T mayor o intermedia, atendidos en la consulta de Hematología de 2 centros asistenciales con gran flujo de pacientes, durante el año 2011 en la ciudad de Maracaibo, Estado Zulia-Venezuela. Esta población es comparable con la obtenida en el estudio RELATH (6), debido a que sólo se seleccionó a una ciudad de un país de los 9 participantes en este estudio, aunque el número de pacientes evidentemente es menor. Es importante destacar, que los pacientes con esta patología en nuestra región, no tienen registros precisos del número de unidades de glóbulos rojos transfundidos y los exámenes realizados, porque según la conveniencia del paciente, acude a cualquier hospital de la zona urbana para ser tratado, problema que podría resolverse si se contara con un sistema de información común para los servicios de Hematología y Hemoterapia (19). Otra manera más expedita de solventar este inconveniente

podría ser que el paciente obtenga una copia de su historia clínica (puede ser electrónica) para fácil acceso al médico.

De igual manera, el promedio de la edad cronológica en los individuos que participaron en el estudio RELATH fue de $29,0 \pm 20,4$ años, predominando el sexo femenino con 54% y la media de las unidades de glóbulos rojos transfundidas fue de $12,0 \pm 8,8$ unidades (6), cifras muy similares a las obtenidas en el presente estudio. En este sentido, se ha descrito que las transfusiones con concentrados eritrocitarios en un volumen ≥ 120 ml/kg de peso pueden ocasionar sobrecarga de hierro (9) y que esta puede detectarse después de las primeras 10 a 20 transfusiones, lo que ocurre cerca de los 3 años de iniciar el tratamiento con hemoderivados (10), por lo que dada la edad, número y volumen de unidades transfundidas de nuestros pacientes, estos tenían riesgo de presentar sobrecarga de hierro.

En esta investigación no se encontró diferencia significativa en cuanto al número de pacientes, edad cronológica y distribución por sexo, según la AHH presente, considerándolos grupos homogéneos; pero si hubo diferencia ($p < 0.0001$) entre el número de unidades de glóbulos rojos transfundidas en el año de estudio en pacientes con β T con respecto a los individuos con ACS. Esto es debido a la necesidad de compensar la anemia severa que experimentan los pacientes con β T, por la alta tasa de eritropoyesis ineficaz, requiriendo un mayor número de unidades de eritrocitos de forma programada, mientras que en la ACS, las transfusiones son episódicas sobre una base crónica; dependiendo menos de los concentraciones de hemoglobina y está

Tabla 2. Parámetros de hierro de los pacientes con Anemia falciforme y Beta talasemia estudiados.

Diagnóstico	Parámetros de hierro			
	Hierro sérico	CTFH	ST	Ferritina
	$\mu\text{g/dl}$ VR: 50-160	$\mu\text{g/dl}$ VR:250-400	% VR:20-45	ng/ml VR:15-300
Anemia hemolítica hereditaria (39)	$171,4 \pm 72,2$ 37-340	$249,2 \pm 59,5$ 155- 417	$65 \pm 20,2$ 25-98	$1.971,4 \pm 1.407,7$ 383-4.999
Anemia falciforme (22)	$153,7 \pm 76,6$ 37-340	** $264,9 \pm 52,5$ 177-417	$51 \pm 14,2$ 25-75	$915,4 \pm 567,8$ 383-2.421
Beta talasemia (17)	$194,3 \pm 60,7$ 86 – 300	$228,8 \pm 63,3$ 155-403	* $83 \pm 9,1$ 67-98	* $3.338,1 \pm 874,6$ 2.180-4.999

Los resultados se expresan en media \pm desviación estándar y en rango. **CTFH.** Capacidad Total de Fijación del Hierro con la Transferrina. **ST:** Saturación de la transferrina. * $p: 0.0001$: Diferencia entre anemia falciforme y beta talasemia, ** $p: 0.01$: Diferencia entre anemia falciforme y beta talasemia. **VR:** valor referencial

más relacionado con la ocurrencia de complicaciones agudas (crisis vasooclusivas, secuestro esplénico, síndrome torácico agudo, riesgo aumentado de accidentes cerebrovasculares, etc.) (6,7,19).

La sobrecarga de hierro se sospecha teniendo en cuenta parámetros bioquímicos como: hierro sérico o sideremia, que no tiene valor por sí solo, pero es necesario para determinar el %ST, que corresponde al cociente entre el hierro sérico y la CTFH; este %ST debe realizarse en ayunas, y está influenciado por variaciones circadianas y enfermedades inflamatorias. La CTFH es una forma de medir la transferrina, que se incrementa a medida que el hierro sérico y el %ST disminuyen. Por último, ferritina sérica, es un buen indicador de las reservas totales de hierro en el organismo, sin embargo, no es específico, ya que, se comporta como un reactante de fase aguda y se eleva en muchas enfermedades hepáticas y extrahepáticas (17).

En el presente estudio se encontraron concentraciones de hierro sérico, %ST y ferritina sérica elevados, mientras que los de CTFH estuvieron disminuidos, en todos los grupos estudiados, lo que sugiere que existe sobrecarga de hierro en estos pacientes en estado estacionario. Al respecto, un estudio sobre la morbilidad y mortalidad relacionada con la sobrecarga de hierro en ACS (19) sugirió que ante una historia de transfusión de 50 o más unidades de glóbulos rojos en un año (210 g de hierro, aproximadamente), un valor de ferritina en suero de 1.500 ng/ml o más en estado estacionario en 3 ocasiones separadas (con la documentación de un valor de ferritina elevada durante al menos un episodio doloroso), y un %ST mayor de 50, es compatible con un diagnóstico de sobrecarga de hierro y debería iniciarse la terapia de quelación inmediatamente, supervisada hasta que el nivel de

ferritina sérica disminuya a menos de 500 ng/ml en estado estacionario en al menos dos ocasiones distintas.

Al establecer diferencia entre las medias de ACS y β T se obtuvieron valores más altos de %ST y ferritina, y más bajos del CTFH en los pacientes con β T, lo cual está relacionado con la mayor cantidad de unidades de eritrocitos transfundidas en el año de estudio en estos pacientes, como se planteó anteriormente. Es necesario resaltar que los patrones bioquímicos de hierro encontrados, son los esperados para este tipo de paciente sometido a un régimen de transfusión crónico (19).

En la presente investigación, se observó una alta correlación entre las unidades de concentrado eritrocitario transfundidas y ferritina sérica en los pacientes con ACS pero no en los individuos con β T. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Inati y col. (22), quienes estudiaron 52 pacientes con ACS en estado estacionario con valores de ferritina sérica menor de 1.500 ng/ml (en la mayoría de los pacientes), y presentaron una correlación fuertemente positiva entre las concentraciones de ferritina y la tasa de transfusión (TR), esta última definida como el número de unidades transfundidas durante toda la vida dividido entre el número de años que recibieron transfusiones. Además, estos mismos autores encontraron buena correlación de sus resultados con la concentración de hierro hepático obtenida por resonancia magnética, procedimiento diagnóstico que no pudo ser realizado en los pacientes enrolados en nuestro estudio. Sin embargo, Adamkiewicz y col (23) no encontraron correlación significativa entre los valores de ferritina (>1.500 ng/ml) y la TR (17±7 unidades transfundidas por año) en pacientes con ACS.

La baja correlación estadística encontrada en el presente trabajo entre la ferritina sérica y las

Tabla 3. Correlación entre la concentración de ferritina sérica y numero de Unidades de transfusión recibidas en un año de estudio en pacientes con Anemia falciforme y Beta talasemia.

Diagnóstico	Unidades de transfusión recibidas (durante un año)	FERRITINA ng/ml VR:15-300	Coefficiente de correlación	p
Anemia hemolítica hereditaria (39)	12 ± 9,35 2-34	1.971,4 ± 1.407,7 383-4.999	0,917	0.0001
Anemia falciforme (22)	6 ± 2,3 2-11	915,4 ± 567,8 383-2.421	0,832	0.0001
Beta talasemia (17)	21 ± 7,5 10-34	3.338 ± 874,6 2.180-4.999	0,491	0.045

Los resultados se expresan en media ± desviación estándar y en rango. Los números entre paréntesis representan los casos. VR: Valor referencial

unidades de concentrado eritrocitario transfundidas en el año de estudio en los pacientes con βT ($r=0,491$), se debe a que en este grupo un número importante de pacientes presentaban concentraciones de ferritina sérica muy altas con un número de unidades transfundidas durante el año de estudio mucho menor de lo obtenido en otros pacientes con la misma patología. En ACS se correlacionan similar número de unidades de concentrado eritrocitario transfundidas con la concentración de ferritina sérica encontrada (en la mayoría de los pacientes).

Este resultado hace necesario considerar que desde el punto de vista fisiopatológico, el incremento de las concentraciones de ferritina sérica en βT , no sólo se debe al hierro proveniente de la hemólisis de las unidades transfundidas, sino también a una significativa eritropoyesis ineficaz, hecho que probablemente altera la correlación entre las variables estudiadas. Mientras que los sujetos con ACS presentan menor tasa de eritropoyesis ineficaz asociado a una mayor recurrencia de procesos inflamatorios crónicos, lo que puede ayudar a restringir el hierro dentro del sistema fagocítico mononuclear y favorecer la correlación entre las unidades de concentrado eritrocitario transfundidas y la concentración de ferritina sérica en este tipo de anemia hemolítica (6,7).

Por otra parte, Koren y col. (24), midieron el hierro no unido a la transferrina (HNUT) y el hierro plasmático lábil (HPL), en pacientes con ACS y βT y mientras que ningún paciente con ACS presentó HNUT, 17 de 43 con βT resultaron positivos para esta prueba. Además, en 4 pacientes con βT y 1 de ACS se encontró HPL. Estos resultados permiten concluir que pacientes con ACS, aun cuando son politransfundidos, presentan un comportamiento diferente a los pacientes con βT y estos últimos son los que tienen mayor riesgo de desarrollar sobrecarga de hierro

A pesar de no observarse una buena correlación estadística entre las unidades de concentrado globular transfundidas en el año y la concentración de ferritina sérica en βT , estos dos parámetros se encontraron muy elevados con respecto a ACS ($p: 0,0001$; tabla 1 y 2), lo cual concuerdan con lo reportado por Vichinsky y col(25) acerca de que la lesión de órganos y muerte relacionada con la sobrecarga de hierro son comunes en los pacientes hipertransfundidos con βT , no siendo así en ACS. También Telfer y col(26) reportan una asociación significativa entre el incremento de los depósitos de hierro y la falla cardíaca o muerte en β talasemia, lo que hace los valores encontrados de βT ,

un hallazgo importante en el estudio clínico del paciente.

El principal factor que se asocia con una mayor supervivencia de pacientes con transfusiones crónicas es el cumplimiento de la quelación de manera efectiva. Así tenemos que en βT , se ha reportado que los pacientes deben mantener una media de ferritina sérica de 1.500 ng/ml, para recibir tratamiento con quelantes de hierro, seguido del monitoreo cercano de la función de órganos y medición de la concentración de hierro hepático (21, 26). En ACS, Drasar y col (27) sugieren que una combinación de ferritina sérica >1.000 ng/ml con un total de 20 o más unidades de eritrocitos transfundidas durante toda la vida, son criterios para iniciar las investigaciones de la sobrecarga de hierro o el comienzo de la terapia de quelación. Así mismo, la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas (SEHOP-2010) en su guía de práctica clínica sobre enfermedades de células falciformes (28), recomienda iniciar quelación cuando la ferritina sea >1.000 ng/ml en al menos dos determinaciones, en situación basal.

La terapia de quelación se observó en 46,2% de los casos estudiados resultado que coincide con el 40% señalado en el estudio RELATH (6). Esta baja frecuencia de quelación obedece a la carencia de información o descuido del paciente o sus familiares y/o a la falta de disponibilidad del fármaco tanto en el Instituto Venezolano de Seguro Social (IVSS) como en el mercado. Es de vital importancia brindar educación a los pacientes con respecto a la importancia de la continuidad del tratamiento quelante, asistencia a los controles y discontinuar estos medicamentos sólo cuando el médico lo indique (7, 21) y realizar futuras investigaciones con un diseño longitudinal para determinar la afectación de los parámetros bioquímicos de hierro en estos pacientes sometidos a este tipo de terapia.

Entre las limitaciones de este trabajo destaca un número pequeño de pacientes enrolados en el estudio, que podría ser explicada por la baja frecuencia de esta patología en la región donde se llevó a cabo esta investigación. Por otro lado, no todos los pacientes con AHH reunían los criterios para que pudieran ser incorporados, tales como: Hipertransfusión, estado estacionario, con registro confiable 3 o más mediciones de ferritina sérica pre-transfusionales y de unidades de transfusión de concentrado eritrocitario en el año de estudio. Así mismo, para descartar sobrecarga de hierro por otras patologías frecuentes, el paciente no debía presentar hepatitis B y/o C, hipertensión arterial, enfermedades endocrino-metabólicas, ni tener abuso de alcohol (más

de 60 g/día) (15). Todos estos factores contribuyeron a trabajar con un gran número de individuos.

Otros factores a tomar en cuenta es la falta de comparación con otros métodos de evaluación de sobrecarga de hierro, tales como la biopsia hepática, método directo que no está influenciado por otros factores, pero es de difícil ejecución, debido a su naturaleza invasiva; y la resonancia magnética que es un método indirecto, no invasivo pero de alto costo, especialmente para nuestros pacientes que en su mayoría son de escasos recursos económicos.

En resumen, el registro confiable y preciso del número de unidades transfundidas, los valores de ferritina a largo plazo y cumplimiento o no de tratamiento quelante, pueden ser utilizados para evaluar una probable toxicidad por sobrecarga de hierro en los pacientes con AHH politransfundidos. El

uso de la biopsia hepática y resonancia magnética (entre otros métodos), pueden ser empleados como estudios complementarios si se considera necesario, siempre y cuando esté al alcance del paciente. Es recomendable continuar el protocolo de estudio por un periodo más prolongado, incrementando el número de pacientes con AHH, tanto de ACS como βT , con la finalidad de lograr con una mayor muestra que permitan una mejor interpretación de estos resultados

Agradecimiento

Esta investigación fue financiada con recursos aportados por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia (Proyecto N° CC-0354-07) y del laboratorio Novartis

Referencias

1. Turgeon ML. Hematología clínica. Teoría y procedimiento, Bogotá, D.C:Editorial Manual Moderno (Colombia),Ltda, 2006: 165-99.
2. Porter JB. Concepts and goals in the management of transfusional iron overload. Am J Hematol. 2007; 82: 1136-39. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Arends A, Chacín M, Bravo Urkiola M, Guevara JM, Velásquez D, García G, Alvarez M, Castillo O. Hemoglobinopatías en Venezuela. Interciencia 2007; 32: 516-21. [[Google Scholar](#)]
4. Salazar-Lugo R. La hemoglobina S en la población Venezolana. Invest Clín 2004; 45: 175-83. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Ruiz A, Briceño O, Arteaga-Vizcaíno M, Plumacher Z, González M, Quintero M. Anemia hemolítica hereditaria y sobrecarga de hierro Revista Vitae 2013; 53: 1-8. [[Google Scholar](#)]
6. Araújo A. Fundação Hemope. V Simposio Brasileiro Doença Falciforme e outras hemoglobinopatías. Encontro Panamericano para doenca falciforme. OPAS/OMS, Recife-Brasil. [Documento en línea] 2009. [citado 06-07-13]. Disponible en www.cehmob.org.br/simposio/pdf.
7. Fung EB, Harmatz P, Milet M, Ballas SK, De Castro L, Hagar W, Owen W, Olivieri N, Smith-Whitley K, Darbari D, Wang W, Vichinsky E; Multi-Center Study of Iron Overload Research Group. Morbidity and mortality in chronically transfused subjects with thalassemia and sickle cell disease: A report from the multi-center study of iron overload. Am. J. Hematol 2007; 82: 255-65. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Malcorra JJ. Hemoglobinopatías y Talasemias. BSCP Can Ped 2001; 25: 265-77. [[Google Scholar](#)]
9. The Management of Sickle Cell Disease. U.S. Department of Health and Human Services. Division of Blood Disorders and Resources. NIH publication No. 04-2117. 2004. [[Google Scholar](#)]
10. Cappellini MD, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A, Porter J, Taher A. Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia [Internet]. 2nd Revised edition. Nicosia (CY): Thalassaemia International Federation; 2008: 5-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Candelario Caceres A, Valdez Disla L, Guzmán Rosario L, De los Santos Villa A, Candelario Caceres A. Sobrecarga de hierro en niños (as) con accidentes cerebrovasculares por anemia falciforme y terapia transfusional en el hospital Dr. Robert Reid Cabral. Rev Med Dom 2011;72: 127-30. [[Google Scholar](#)]
12. Cano-Castellanos R, López-Santiago N, Piedras J. Sobrecarga de hierro en pacientes pediátricos. Bol Med Hosp Infant Mex 2009; 66: 481-91. [[Google Scholar](#)]
13. Brittenham GM, Sheth S, Allen CJ, Farrell DE. Noninvasive method for quantitative assessment of transfusional iron overload in sickle cell disease. Semin Hematol 2001; 38 (suppl 1): 37-56. [[PubMed](#)]
14. Altés A, Ruiz MA, Castell C, Roure E, Tresserras R. Déficit y sobrecarga de hierro en la población adulta de Cataluña. Med Clin (Barc) 2004; 123: 131-3. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Altes A, Remacha AF, Sureda A, Martino R, Briones J, Brunet S, Baiget M, Sierra J. Patients with biochemical iron overload: causes and characteristics of a cohort of 150 cases. Ann Hematol 2003; 82: 127-30. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. [Documento en línea] 2013 [citado 06-07-13]. Disponible en http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/17c_es.pdf

17. Rodak F Bernadette . Hematología: fundamentos y aplicaciones clínicas, 2 da Edición. Buenos Aires: Médica Panamericana 2004: 217-218.
18. García C, Martínez Maldonado I. Ventajas del método de quimioluminiscencia frente al de radioinmunoanálisis (RIA). *Visciento* 2009; 1: 60-8.
19. Ballas SK. iron overload is a determinant of morbidity and mortality in adult patients with sickle cell disease. *semin hematol* 2001;38 (1 Suppl): 30-6. [\[PubMed\]](#)
20. Levin R, Rubin D. Estadística para administración y economía, 7ma Edición. México: Pearson Educación 2004: 630-3.
21. Angulo I, Covas DT, Carneiro AA, Baffa O, Junior JE, Vilela G. Determination of iron-overload in thalassemia by hepatic MRI and ferritin. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter* 2008; 30: 449-52.
22. Inati A, Musallam KM, Wood JC, Taher AT. Iron overload indices rise linearly with transfusion rate in patients with sickle cell disease. *Blood*. 2010;115: 2980-1; author reply 2981-2. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
23. Adamkiewicz TV, Abboud MR, Paley C, Olivieri N, Kirby-Allen M, Vichinsky E, Casella JF, Alvarez OA, Barredo JC, Lee MT, Iyer RV, Kutlar A, McKie KM, McKie V, Odo N, Gee B, Kwiatkowski JL, Woods GM, Coates T, Wang W, Adams RJ. Serum ferritin level changes in children with sickle cell disease on chronic blood transfusion are nonlinear and are associated with iron load and liver injury. *Blood*. 2009; 114: 4632-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
24. Koren A, Fink D, Admoni O, Tennenbaum-Rakover Y, Levin C. Non-transferrin-bound labile plasma iron and iron overload in sickle-cell disease: a comparative study between sickle-cell disease and beta-thalassemic patients. *Eur J Haematol*. 2010; 84: 72-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
25. Vichinsky E, Butensky E, Fung E, Hudes M, Theil E, Ferrell L, Williams R, Louie L, Lee PD, Harmatz P. Comparison of organ dysfunction in transfused patients with SCD or beta thalassemia. *Am J Hematol*. 2005;80: 70-4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
26. Telfer PT, Prestcott E, Holden S, Walker M, Hoffbrand AV, Wonke B. Hepatic iron concentration combined with long-term monitoring of serum ferritin to predict complications of iron overload in thalassaemia major. *Br J Haematol*. 2000; 110: 971-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
27. Drasar E, Vasavda N, Igbneweka N, Awogbade M, Allman M, Thein SL. Serum ferritin and total units transfused for assessing iron overload in adults with sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2012;157: 645-7 [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
28. Guía de práctica clínica sobre enfermedad de células falciformes pediátrica. Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas SEHOP-2010. [internet] 2010. [citado06-07-13]. Disponible en Web: www.SEHOP.org [\[Google Scholar\]](#)

Como citar éste artículo: Ruiz Medina AG, Briceño O, Arteaga-Vizcaíno M, Vizcaíno ME, Plumacher Z, Quintero J, González M, Quintero M, Urdaneta J. Correlación entre niveles de ferritina serica y unidades de transfusion recibidas por pacientes con anemias hereditarias hemoliticas en el estado de Zulia, Venezuela. *Avan Biomed* 2014; 3: 16-24.

PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización (PCR and PCR-Multiplex: critical parameters and standardization protocol)

Ana María Bolívar^{1,2}✉, Agustina Rojas^{1,3}, Pablo García-Lugo¹

¹Postgrado Biotecnología de Microorganismos. Facultad de Ciencias-ULA. ²Investigaciones Parasitológicas "Jesús Moreno Rangel". Facultad de Farmacia y Bioanálisis-ULA. ³Investigaciones Parasitológicas "José Francisco Torrealba" Facultad de Ciencias-ULA

[REVISION]

Recibido: 23 Marzo de 2013. Aceptado: 1 Noviembre de 2013.

Resumen

Conceptualmente la reacción en cadena de la polimerasa -PCR- incluye un conjunto de técnicas en apariencia simples, de tal modo que algunas de sus variantes como la detección múltiple lucen atractivas para el campo de la microbiología asistencial. Sin embargo, su aplicación de manera rutinaria se ve restringida por la necesidad de numerosos y necesarios protocolos de estandarización y optimización para determinaciones particulares. En la presente revisión son abordadas las limitancias que presentan la PCR y en particular la mPCR con miras a una mayor comprensión del proceso y de las restricciones que presentan para este campo asistencial.

Palabras clave

PCR, PCR múltiple, parámetros críticos, estandarización.

Abstract

Conceptually the polymerase chain reaction -PCR- include a set of techniques seemingly simple, so that some of its variants like multiple detection looks attractive to the field of microbiology care. However, its routine application is limited by the need for numerous and necessary protocols of standardization and optimization for individual determinations. In this review are approached the constrict that present the PCR and particularly mPCR with a view to a better understanding of the process and limitations that they represent to the welfare field.

Keywords

PCR, multiplex-PCR, critical parameters, standarization.

"La PCR es un método muy versátil, pero engañosamente simple" (1)

Introducción

En la lucha contra las enfermedades infecciosas, la microbiología clínica necesita optimizar a nivel de especificidad, sensibilidad y rapidez, las mejores técnicas diagnósticas tendientes a ejecutar los programas más adecuados en materia de prevención, control y tratamiento. Entre las alternativas diagnósticas propuestas a estos retos, se señalan las técnicas basadas en los principios de la biología molecular cuya introducción en los laboratorios asistenciales (humano y animal), busca brindar apoyo en la obtención de resultados altamente confiables,

acortando además, los tiempos de entrega de los mismos. Importante es comprender que a pesar de estas ventajas, dichos métodos no sustituyen, sino que complementan los métodos de diagnóstico tradicional. (1,2)

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ha sido la principal herramienta diagnóstica que ha aprovechado las bondades de la biología molecular a tal punto de alcanzar gran valor y versatilidad como técnica de análisis debido en parte, a su adaptabilidad y aplicabilidad (3). Los inicios de la PCR se remontan a 1971, cuando un artículo publicado por Kleppe y colaboradores en el *Journal of Molecular Biology*

describió por vez primera un método que usaba enzimas para replicar una secuencia pequeña de ADN *in vitro*. Sin embargo, este ensayo no recibió mucha atención y la autoría de la PCR fue atribuida 12 años después a Kary Mullis perteneciente a la *Cetus Corporation*, California SA. La puesta en escena de la PCR significó una valiosa alternativa para el estudio de los genes y a partir de entonces su uso se ha extendido a distintos laboratorios. De tal modo que al presente la PCR ha sido ensayada con buenos resultados en una amplia gama de campos que abarcan desde la detección de agentes etiológicos, pasando por genotipificación, análisis de enfermedades genéticas y oncológicas, amplificación y modificación de fragmentos de ADN, análisis de especímenes ambientales y de marcadores genéticos para aplicaciones forenses, pruebas de paternidad, mapeo de rasgos hereditarios hasta estudios de expresión del gen. La PCR continúa siendo un método revolucionario, constituyéndose en la mejor técnica desarrollada por biólogos moleculares cuyo impacto aún continúa haciéndose notar (1,4-7).

El hecho de estandarizar y optimizar aplicaciones individuales de la PCR ha permitido desarrollar variantes del método. En este aspecto, toma gran interés, el desarrollo de las denominadas PCR múltiples (multiplex-PCR o mPCR), reacciones que consiguen amplificar simultáneamente en un único tubo (y por ende una única reacción), diferentes secuencias diana. En microbiología humana y veterinaria la mPCR ha sido aplicada con cierto éxito al diagnóstico rutinario de algunos agentes patógenos (8). A su vez, se han desarrollado protocolos de mPCR muy prometedores mediante la utilización de PCR en tiempo real (RT-PCR) de forma que se puede monitorizar la cinética de reacción, conocer la cantidad de ADN molde y/o detectar la presencia de variaciones genéticas (1,9).

Diversos estudios han demostrado que la especificidad, el rendimiento y la fidelidad de la PCR se encuentra directamente influenciada por los diversos componentes que integran la técnica: 1. mezcla de reacción, 2. régimen de ciclaje y 3. ADN polimerasa (12,13). Resulta necesario planificar en cada caso una metodología en la que pueda existir un equilibrio entre estos parámetros, ya que desafortunadamente al ajustar algunas condiciones de la reacción para lograr la mayor especificidad no siempre es compatible con un alto rendimiento, y tratar de optimizar la fidelidad pudiera reducir la eficiencia. Tal es el caso, que muchas veces el investigador debe decidir cuál de estos parámetros prefiere sobre otro, viéndose a veces en la necesidad de sacrificar uno por otro según sea el caso

(14). En virtud de esta realidad y por el amplio uso de la técnica en el campo microbiológico, urge la necesidad de concienciar sobre la importancia de revisar y optimizar los protocolos de procedimiento para cada determinación que se desee, estudiando en detalle los posibles factores que influyen negativamente (2,10,11). Adicional, debe tenerse en cuenta que la efectividad de una PCR es también resultado del trabajo con soluciones puras de ácidos nucleicos, de tal modo que es factible deducir que la sensibilidad de la técnica puede verse dramáticamente reducida cuando se aplica directamente a muestras biológicas. En base a estos supuestos, debe presumirse que una PCR aun altamente específica puede producir errores.

Parámetros que influyen en la PCR

1. Mezcla de reacción

1.1. Desoxirribonucleósidos trifosfato (dNTPs)

Los cuatro dNTPs son los ladrillos para construir las nuevas cadenas de ADN. Variaciones en su concentración afectan especificidad y fidelidad. Concentraciones altas hacen disminuir la actividad de la enzima e incluso pueden llegar a inhibirla. El uso de concentraciones desbalanceadas también afecta la fidelidad, siendo las concentraciones utilizadas en la mayoría de los casos entre 0,2 a 1Mm (13). Los dNTPs pueden captar iones de magnesio (Mg^{2+}) por lo tanto las concentraciones de ambos deben guardar siempre la misma relación.

1.2. Iones divalentes y monovalentes

Los iones divalentes actúan como cofactores de la enzima por tanto tienen una función crítica en la reacción. Se suele usar Mg^{2+} , agregado comúnmente como cloruro de magnesio ($MgCl_2$), requiriéndose que sea usado a una concentración que oscila regularmente entre 0,5 y 2,5mM. En muchos casos la concentración debe optimizarse para cada ensayo. En general, concentraciones insuficientes dan lugar a bajo rendimiento mientras que el exceso tiende a producir amplificaciones inespecíficas (2). Entre los iones monovalentes el más empleado es el potasio (K), generalmente unido a otros iones como el cloro (KCl) en una solución tampón (13).

1.3. Solución tampón (buffer)

Mantiene el pH adecuado para el funcionamiento de la ADN polimerasa. Por lo general incluye Tris-HCl (pH=8,4 a temperatura ambiente), KCl,

gelatina y MgCl₂. Algunos autores recomiendan el uso de adyuvantes los cuales en la práctica aumentarían especificidad y fidelidad (en ningún caso son imprescindibles). Entre los adyuvantes más empleados se señalan dimetilsulfóxido (DMSO), añadido para disminuir las estructuras secundarias del ADN, detergentes como el Tween 20 o el Tritón X-100 que ayudan a estabilizar la enzima y finalmente polietilenglicol (PEG), glicerol, formamida y seroalbúmina bovina (13). Se ha determinado que otros solventes como la betaína pueden actuar como agentes desestabilizadores (solutos compatibles que ayudan a sobrevivir al estrés osmótico), reduciendo la temperatura de fusión de secuencias ricas en GC y aumentando la resistencia de la polimerasa a la desnaturalización (14). En la práctica, no hemos encontrado variaciones significativas con el empleo de adyuvantes como DMSO y seroalbúmina bovina.

1.4. *Primers (cebadores, oligonucleótidos)*

Delimitan la zona de ADN a amplificar. Al ser reconocidos por la enzima permiten iniciar la reacción. Son secuencias cortas, normalmente de 18 a 22 nucleótidos (aunque pueden llegar hasta 40 según el caso) y contenido en GC entre 40-75%. Ambos iniciadores deben tener una temperatura de fusión (T_m) similar. Deben estar situados enfrentados y no a mucha distancia. Son el componente más sensible que determina el éxito de un ensayo. Normalmente se diseñan para ser exactamente complementarios al molde de ADN y la concentración a la que suelen emplearse está en el intervalo de 0,1-0,5 μM. Los *primers* ideales deben carecer (en lo posible) de estructuras secundarias así como de complementariedad entre sí. Si existe complementariedad en el extremo 3' se induce a que ambos iniciadores se traslapen en dicho extremo y sirvan de templados y a su vez de iniciadores para que la polimerasa los extienda generando así pequeños amplicones referidos como dímeros de *primers*, reduciendo la cantidad de oligos disponibles en la reacción, provocando un menor rendimiento del amplicón de interés (13,14). Existen diferentes programas computacionales (como ADNsis, *Primer3* y *Oligo*) que ayudan en el diseño, cálculo de T_ms, estructuras secundarias y posibles interacciones. Dichos programas requieren considerar diversos parámetros muchos de naturaleza termodinámica a fin de mantener la eficiencia y especificidad, resultando limitativo para quien adolezca de bases sólidas en el área ya que de lo contrario pudiera crear confusión y serios problemas en el diseño, constituyéndose en fuente para ideas erróneas. Concluimos que el

conocimiento en termodinámica es crucial para el uso eficaz de los paquetes de software disponibles para el diseño de primers.

1.5. *ADN molde*

Contiene la región de ADN que se va a amplificar. La cantidad de este molde puede ser de tan sólo 1ng en caso de material genético clonado o de un mínimo de 20ng cuando se utiliza ADN genómico proveniente de células eucariotas. El molde puede ser también ARN previamente transformado en ADNc mediante transcripción reversa. Hay muchas formas posibles de preparar el molde para PCR. Al presente existen variados protocolos de extracción en función del tipo de muestra clínica de partida (1,13). No es necesario purificarlo, sin embargo se debe cuidar la intervención de inhibidores enzimáticos, sobre todo a partir de muestras clínicas como sangre y heces (8). Con miras a disminuir la acción de inhibidores en sangre, recomendamos para la amplificación de microorganismos, identificar la diana habitual, empleando por separado en procesos de extracción con el método clásico con fenol, los distintos componentes sanguíneos.

1.6. *Agua*

Usada como solvente. Se requiere al menos que sea desionizada (18m-chms) o milli-Q grado molecular. Si se busca un mejor rendimiento se aconseja además, que sea libre de DNAsas y RNAsas, purificada por luz ultravioleta, ozono o 0,1% de dietilpirocarbonato (este último inactiva las RNasa) (13). Una buena opción práctica resulta el uso de agua dispensada para la preparación de soluciones inyectables.

Régimen de ciclaje

Tres son los pasos necesarios a seguir y repetir por cada ciclo de la PCR. Comúnmente se les refiere como desnaturalización, alineamiento y extensión. Regularmente se agrega una etapa previa de desnaturalización (generalmente a 94°C) para relajar las posibles estructuras secundarias y de otros tipos (12,15).

2.1. *Desnaturalización*

Es una etapa crítica. Es muy importante que el ADN molde se desnaturalice completamente y así pueda iniciar la síntesis de su nueva cadena complementaria, proceso que se consigue a temperaturas de 94°C por lo menos durante 1 min.

Hay que tener en cuenta que la actividad de la enzima decrece de manera muy rápida a partir de los 95°C (vida media aproximada: 92,5°C=2h, 95°C=40 min. y 97,5°C=5 min.) (13, 15). En la práctica se suele empezar con un período de desnaturalización prolongado (94°C por 5 min.) para asegurar que la desnaturalización se lleve a cabo a lo largo de toda la molécula de ADN.

2.2. Alineamiento

La enzima utilizada en la reacción necesita del grupo OH- libre en el extremo 3' a partir de donde iniciar la síntesis, punto que constituye el sitio de crecimiento de la cadena complementaria. El alineamiento específico de ambos *primers* se produce a una temperatura determinada por composición de bases y oscila entre 40 y 70°C (recomendamos emplear temperaturas de alineamiento entre 50 y 65°C). Un aumento favorece la especificidad, ya que disminuye uniones incorrectas de los *primers* con sitios apócrifos del ADN molde (12,15).

2.3. Extensión

Esta etapa debe realizarse a una temperatura alta, coincidente con la máxima actividad de la enzima para evitar alineamientos inespecíficos. El tiempo depende del tamaño de la amplificación, debiendo estimar 1 min. para alargar 1000 nucleótidos. Es común que al finalizar todos los ciclos se realice un último alargamiento por 5 min. a 72°C para asegurarse que todos los productos de amplificación estén completamente terminados y tengan exactamente la misma longitud (13, 15).

ADN polimerasa

Las ADN polimerasa utilizadas en PCR incluyen un grupo de enzimas termoestables aisladas de organismos termófilos, de calidad suficiente que evitan pérdidas en especificidad, eficiencia, fidelidad y rendimiento (16). Su temperatura óptima de catálisis oscila alrededor de 70-72°C, temperatura a la cual incorporan aproximadamente 100 nucleótidos por segundo. En la actualidad la mayoría son versiones recombinantes e incluso mejoradas por ingeniería genética (13).

PCR múltiple

Ventajas y dificultades

Desde su descripción en 1988 por Chamberlain y colaboradores con la finalidad de

amplificar loci múltiples para el gen de la distrofia muscular en humanos, la mPCR ha sido aplicada en muchas áreas para el análisis simultáneo de marcadores múltiples incluyendo delecciones, mutaciones, polimorfismo, análisis cuantitativos por transcriptasa reversa y por RT-PCR (16). Con óptimos resultados ha sido empleada en análisis microsatelital, detección de organismos genéticamente modificados, detección de patógenos y tipificación de diferentes cepas (17,18). En el campo epidemiológico, su importancia crece por la factibilidad de aumentar en una sola reacción la detección simultánea de varios microorganismos aprovechando entre otros parámetros la similitud de cuadros clínicos (1,19-23).

A pesar de este éxito, la inversión de tiempo para los procedimientos de optimización pudiera constituirse en factor de negatividad para la técnica, opacando sus bondades. De tal modo que generalmente, una reacción de mPCR eficiente requiere de estrategias de planificación y múltiples intentos (18,24-26). Importantes en este proceso, son las mismas consideraciones discutidas para la PCR individual, las cuales el investigador debe adaptar a sus necesidades. Esencial resulta una óptima combinación entre temperatura de alineamiento y componentes de reacción con miras a obtener una alta especificidad en la amplificación de los productos (3,27). Como en cualquier variante del método base, es necesario el uso de ácidos nucleicos puros para validar especificidad, así como controles internos y externos para mantener la calidad. Todo este listado de factores tiene influencia importante en los resultados ya que previene la aparición de problemas que pudieran comprometer la eficiencia del método (28). Por su alta sensibilidad pueden presentarse contaminaciones producto de amplificaciones inespecíficas generando reacciones falsas positivas. En este sentido, son válidas y siempre vigentes medidas de control como la realización de cada fase de reacción en ambientes separados, utilización de tubos, pipetas y guantes estériles propios para cada área y limpieza y exposición a cada ambiente a radiaciones ultravioletas, alcohol y/o soluciones libres de RNasa (15). Asimismo, es conveniente recordar que por la susceptibilidad a errores de ejecución y de contaminaciones, es necesaria una formación especializada del personal que ejecutará el análisis. Es también importante tener en cuenta que el procedimiento necesita en la medida que sea posible, realizarse en conjunción con otros métodos (directos, bioquímicos y/o inmunológicos por ejemplo), situación que no pretende menospreciar la gran utilidad que puede tener una detección precoz de información genética -como la ejecución de medidas

preventivas de tratamiento y control- sino que busca corroborar los resultados con miras a ampliar su confiabilidad (1,20,21,29). En este orden de ideas, hemos cotejado -según naturaleza del microorganismo de interés y de la muestra biológica de partida- resultados mPCR con examen al fresco, frotis teñidos, cultivos, histopatología, ELISA, IFI y Western blot, no siempre presentándose la complementariedad deseada, escenario que amerita revisiones particulares y hacen limitativo su uso de rutina.

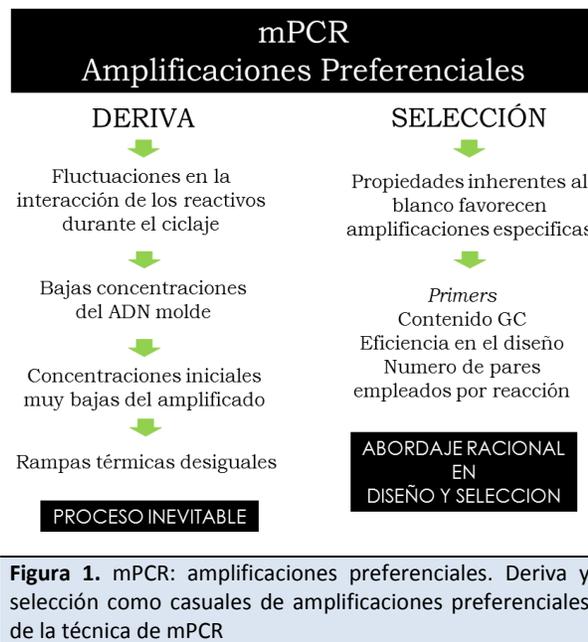
Situaciones como las expuestas pudieran calificar a la mPCR como una técnica de “doble cara”. De allí que optimizar un protocolo mPCR requiere un delicado balance para la amplificación de productos específicos y la reducción al mínimo de productos inespecíficos, evitando amplificaciones preferenciales y promoviendo productos esperados de calidad (24,26). En este sentido ha sido demostrado que el aumento en el número de pares de *primers* por reacción incrementa los productos inespecíficos “secuestrando” componentes esenciales, limitando la eficiencia. En la mPCR cada parámetro debe ajustarse experimentalmente (adaptabilidad del protocolo base a cada determinación). Cada paso del proceso necesita una consideración muy cuidadosa (25,30). Numerosos han sido los trabajos en los últimos años que describen nuevos protocolos de mPCR tendientes a mejorar los procesos de extracción de ADN a partir de una gran variedad de material biológico y permitir amplificaciones cada vez más sensibles y específicas (mayor y mejor nivel de detección), hecho que resulta en última instancia, la opción más deseable aunque también la más difícil de alcanzar (1,20,31,32). Bajo estas concepciones, la mPCR se proyectaría como una herramienta muy útil y atrayente al permitir ahorro de tiempo y esfuerzo sin comprometer la efectividad de la prueba (15,33)

Un problema común en mPCR es la amplificación preferencial de un blanco sobre otro. Mediante modelos teóricos y estudios experimentales han sido detectados los causales de dichas amplificaciones en los planetamientos conocidos como deriva y selección (ver figura 1). La deriva (o direccionalidad) asume la existencia de variaciones o fluctuaciones en la interacción de los reactivos durante el ciclaje particularmente en ciclos iniciales, situación que encontraría su justificación en las bajas concentraciones en la que se encuentra el templado de ADN originando concentraciones iniciales muy bajas del blanco a amplificar que en conjunto a las variaciones en los perfiles térmicos del equipo, dan lugar a rampas de temperaturas desiguales (error experimental simple). El planetamiento por selección

define a un mecanismo que por sí mismo favorece la amplificación de ciertos blancos debido a propiedades inherentes del blanco y de las secuencias que lo flanquean. En este sentido se menciona el contenido de GC como principal responsable de una mayor eficacia vinculante entre los *primers*. En principio la deriva es inevitable en cualquier reacción, mientras que la selección puede ser modulada a fin de fomentar la igualdad de amplificación de dianas (31).

Primers

Idealmente, todos los juegos de *primers* permitirían amplificaciones eficientes para su respectivo marcador (34). Sin embargo, la presencia en metodologías múltiples de más de un par puede también incrementar la posibilidad de obtener productos inespecíficos que pudieran llegar a ser mejor amplificados que los dirigidos a la secuencia blanco. Algunos *primers* poseen un porcentaje de amplificación muy alto (eficiencia) y como resultado las plantillas pueden saturarse en fase de meseta, consumiendo componentes de reacción y distorsionando los tiempos de alineamiento y



extensión (2,15). Como consecuencia, el desarrollo de *primers* y número de los mismos a emplear por reacción, debe ser abordado de manera racional (2,21,31). Hemos detectado en nuestra práctica que el ideal de juegos de *primers* a emplear en mPCR es tres, situación que garantiza confiabilidad técnica pero restringe la amplitud de diagnóstico.

Otros componentes de la reacción

Alteraciones en las concentraciones de MgCl₂, dNTPs y enzima usualmente influyen poco en la mejoría de sensibilidad o especificidad de la prueba múltiple. Algunas publicaciones -basadas en los procesos de deriva y selección- avalan incrementos excesivos en la concentración de estos componentes (3,15), adiciones que deben ser manejadas con prudencia y acorde a lo que se desea investigar.

Ciclaje

Se debe tener en consideración que la mayoría de las modificaciones que afectan la reacción están directamente relacionadas con los factores que afectan alineamiento y extensión (2). La temperatura de alineamiento resulta más dependiente de un correcto balance entre *primers*. Por su parte, la temperatura de extensión lo es de la actividad enzimática y dNTPs.

Consideraciones generales para la aplicación de mPCR

El desarrollo y aplicación de mPCR en microbiología clínica humana y veterinaria debe seguir un enfoque racional criterios de inclusión o exclusión de dianas (35). Selección que puede hacerse en base a órganos, sistemas, sintomatología o características epidemiológicas (23,36,37). Avalamos la selección en base a sintomatología. Antes de la aplicación en un entorno clínico, debe ser evaluada utilizando diluciones seriadas de controles y muestras clínicas (36), así como descartar potenciales factores desencadenantes de resultados falsos tomando en cuenta precauciones y metodologías pertinentes en el material biológico de partida (15,37).

Optimizar una mPCR en clínica puede resultar un proceso complejo. No solo necesita seguirse un enfoque gradual en la combinación de juegos de *primers* (35). Es pertinente -en la medida de lo posible- hacer uso de controles externos de calidad, así como una aplicación rigurosa de los controles internos que deberán incluir muestras de control negativo y para cada blanco, un control positivo que a su vez servirán de señalización en casos de bandeos dudosos (26). En clínica el número de patógenos a detectar resulta atrayente. Antes de adaptar un protocolo de mPCR para estos fines, se deberá estudiar junto a las características clínicas y epidemiológicas, las características biológicas de los patógenos de interés (38).

La mPCR ha abierto un mundo de posibilidades diagnósticas. En muchos campos resulta de gran valor para incrementar la capacidad del número de detecciones por reacción (ver figura 2) conservando efectividad y disminuyendo costos (34). Para seguir contando con estos beneficios es crucial la vigilancia intra e inter laboratorios (31, 34).

Conclusiones y perspectivas

En el campo de la microbiología humana variados ensayos de mPCR han revelado confiabilidad técnica y acertado su uso como alternativa de solución diagnóstica para algunos de los principales agentes causales de problemas en salud pública (18,20,23). La mPCR ha sido crucial en la reemergencia de algunas enfermedades como la malaria, hecho que hace imperativo el diseño de estrategias de diagnóstico rápido, sensible y específicas (39). Los resultados bajo este enfoque resultan satisfactorios para considerar válido su empleo a partir de muestras clínicas (2,40), pudiendo extender su rentabilidad a situaciones como la detección de microorganismos independientes de

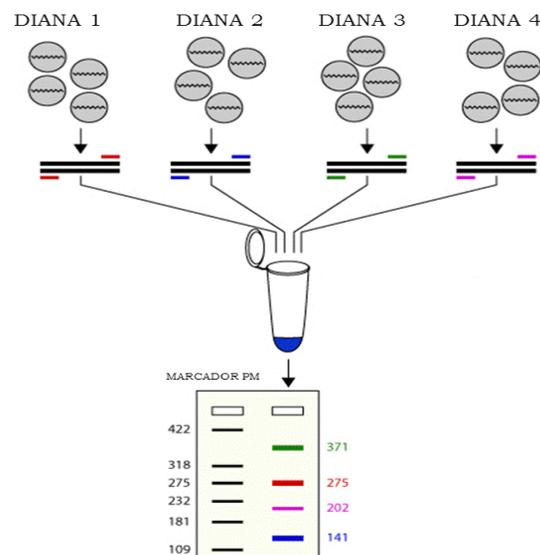


Figura 2. mPCR: Esquematación del proceso técnico y visualización final de los productos obtenidos

cultivo (36), sospecha de carga parasitaria muy baja (23,24,39), procesos de control de calidad para microscopía, pruebas diagnósticas rápidas y de detección de parasitemias sincrónicas mixtas (39,41), tipificación de cepas virulentas (42) o para la corrección de subestimaciones en algunas enfermedades (43,44) . En este orden de ideas,

nuestros enfoques en el empleo de la mPCR a partir de muestras humanas se dirigen hacia la diferenciación de parásitos del género *Leishmania* con fines similares a los señalados.

Un criterio epidemiológico que justificaría trabajos de detección múltiples de ADN es la edad. En este sentido, se cita la factibilidad de la herramienta mPCR para el establecimiento de un diagnóstico rápido y oportuno de enfermedades en las que se encuentran involucrados patógenos pediátricos como *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae*, favoreciendo la toma de decisiones en el tratamiento, lo cual redundaría en la evolución favorable del paciente (42).

Es conocido que en algunos casos, son necesarias modificaciones a la metodología mPCR a fin de incrementar la rentabilidad (24,45). Dentro de este esquema se señala el uso de sistemas que ayudan a prevenir la contaminación, facilitando la amplificación y detectando amplificaciones internas. Tal es el caso de los sistemas dUTP-uracil-N-glicosidasa (actúa eliminando residuos de uracilo de la cadena de ADN al reemplazar dUTP por dTTP), AmpliTaqGold polimerasa (activada solo a altas temperaturas) y ligasas LDR (detectan posibles mutaciones) (38).

En el campo de la microbiología veterinaria, la mPCR ha evidenciado un comportamiento similar al campo de microbiología humana, al posibilitar no solo el diagnóstico de patógenos de interés clínico sino también económico (46) (campo hacia el cual van dirigidos nuestros esfuerzos). La detección múltiple en esta área también se justifica para el diagnóstico por edad, concediéndole ventaja adicional en comparación a una prueba serológica. De igual modo, ha sido una ventaja el uso de mPCR para detectar infecciones o transmisiones congénitas por hemoparásitos, ampliar el conocimiento y entendimiento sobre la dinámica de infecciones mixtas (*Babesia sp.* y *Anaplasma marginale* por ejemplo) lo que se traduce en un abordaje más seguro en materia de control y profilaxia. No menos importante resulta su actuación en el campo de las enfermedades zoonóticas, brindando ventaja sobre las técnicas convencionales para la detección de patógenos como *Brucella sp* y *Leptospira sp* debiendo ser desarrollados diferentes procedimientos de extracción y técnicas de detección a fin de extender estos procesos para muestras humanas (47), adicional del poder discriminatorio entre especies patógenas y saprofitas (48).

La utilización de técnicas tradicionales de investigación epidemiológica en asociación con una PCR individual o su variante múltiple, produciría resultados que se contraponen a conceptos y expectativas establecidos respecto a la epidemiología de las infecciones microbianas, posibilitando la detección de infecciones incipientes así como la identificación de infecciones asintomáticas. Estos conocimientos epidemiológicos y técnicos a su vez, permitirían optimizar los parámetros del método y la escogencia idónea del material biológico de partida para el procedimiento que en suma, permitirán gozar de todas las ventajas de la técnica minimizando los efectos negativos (37,46).

Si bien al presente los estudios de mPCR abarcan en alto porcentaje la detección de microorganismos, no se puede olvidar que las primeras aplicaciones de éxito fueron en el campo de la fisiopatología para la detección de la distrofia muscular de Duchenne (DMD), enfermedad determinada genéticamente con un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X. Las manifestaciones clínicas se observan entre los tres y cinco años de edad y usualmente la muerte ocurre en la segunda década de vida por complicaciones cardiorrespiratorias. Chamberlain y colaboradores (1988) aplicaron la PCR como un método rápido y eficiente para la detección de delecciones, analizando seis exones en una reacción de amplificación múltiple y adicionando luego, tres exones dentro de la reacción con lo cual incrementaron la detección hasta un 80%. Un nuevo grupo de investigadores desarrollaron una amplificación para otros nueve exones -reacción complementaria-. Al presente, la mPCR puede detectar cerca del 98% de las delecciones en la distrofia muscular de forma rápida y confiable, permitiendo el asesoramiento apropiado a los pacientes (49).

En suma, con la mPCR pueden ser salvados esfuerzos y tiempos considerables. La metodología presenta rapidez, parámetro que demanda su uso en laboratorios clínicos. Una mPCR eficiente requiere estrategias de planificación, múltiples intentos y optimización de las condiciones de reacción a fin de prevenir la aparición de problemas. En clínica la importancia de la detección por mPCR crece en virtud del aumento de agentes microbianos factibles de detectar (26,28).

Referencias

1. Méndez-Alvarez S, Pérez-Roth E. La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22:183-92. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
2. Sint D, Raso L, Traugott M. Advances in multiplex PCR: balancing primer

- eficiencias and improving detection success. *Methods Ecol Evol.* 2012; 3:898-905. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
3. Rochelle PA, De Leon R, Stewart MH, Wolfe RL. Comparison of *primers* and optimization of PCR conditions for detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in water. *Appl Environ Microbiol.* 1997; 63:106-14. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 4. Bell J. The polymerase chain reaction. *Immunol Today.* 1989; 10: 351-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 5. Xu LZ, Larzul D. The polymerase chain reaction: basic methodology and applications. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 1991; 14:209-21. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 6. Lenstra JA. The applications of the polymerase chain reaction in the life sciences. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 1995; 41:603-14. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 7. Das B, Swain S, Patra A, Das M, Tripathy HK, Mohapatra N, Kar SK, Hazra RK. Development and evaluation of a single-step multiplex PCR to differentiate the aquatic stages of morphologically similar *Aedes* (subgenus: *Stegomyia*) species. *Trop Med Int Health.* 2012; 17:235-43. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 8. Lamoth F, Jatón K, Prod'hom G, Senn L, Bille J, Calandra T, Marchetti, O. Multiplex Blood PCR in combination with blood cultures for improvement of microbiological documentation of infection in febrile neutropenia. *J Clinical Microbiol.* 2010; 48: 3510-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 9. Vinuesa-Burgos, C. PCR en Tiempo Real: la nueva era de la información genética celular REDVET. 2009; 10: 1-14. [\[Google Scholar\]](#)
 10. Gibbs RA. DNA amplification by the polymerase chain reaction. *Anal Chem.* 1990 ; 62:1202-14. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 11. Lantz PG, Abu al-Soud W, Knutsson R, Hahn-Hägerdal B, Rådström P. Biotechnical use of polymerase chain reaction for microbiological analysis of biological samples. *Biotechnol Annu Rev.* 2000; 5:87-130. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 12. Guevara P. Identificación y Diagnóstico Molecular de Microorganismos. En: *Manual de laboratorio. Proyecto Iniciativa Científica del Milenio.* Red de Innovación Tecnológica IDMM editores. Venezuela; 2004; p1-102.
 13. Rodríguez I, Barrera H. La Reacción en Cadena de la Polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL.* 2004; 7:323-35.
 14. Cha RS, Thilly WG. Specificity, efficiency, and fidelity of PCR. *PCR Methods Appl.* 1993; 3:S18-29 [\[PubMed\]](#)
 15. Espinosa, L. Guía práctica sobre la técnica de PCR. En: Eguiarte L, Souza V, Aguirre X editores. *Ecología molecular.* México: INE, CONABIO y UNAM, 2007; p.520-36. [\[Google Scholar\]](#)
 16. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE. Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. *Clin Microbiol Rev.* 2000 ;13:559-70. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 17. Fernández AL, Varela E, Martínez L, Martínez A, Sierra J, González-Juanatey J, Regueiro B. Evaluación de una PCR multiplex en tiempo real para la detección de patógenos en el tejido valvular de pacientes con endocarditis. *Rev Esp Cardiol.* 2010; 63:1205-8. [\[Google Scholar\]](#)
 18. Alvarez J, Sota M, Vivanco AB, Perales I, Cisterna R, Rementería A, Garaizar J. Development of a multiplex PCR technique for detection and epidemiological typing of *Salmonella* in human clinical samples *J Clin Microbiol.* 2004; 42:1734-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 19. Shemis MA, El-Abd DM, Ramadan DI, El-Sayed MI, Guirgis BS, Saber MA, Azzazy HM. Evaluation of multiplex nested polymerase chain reaction for routine hepatitis C virus genotyping in egyptian patients. *Hepat Mon.* 2012; 12: 265-70. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 20. Römpler H, Dear PH, Krause J, Meyer M, Rohland N, Schöneberg T, Spriggs H, Stiller M, Hofreiter M. Multiplex amplification of ancient DNA. *Nat Protoc.* 2006; 1: 720-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 21. McKechnie ML, Hillman R, Couldwell D, Kong F, Freedman E, Wang H, Gilbert GL. Simultaneous identification of 14 genital microorganisms in urine by use of a multiplex PCR-based reverse line blot assay. *J Clin Microbiol.* 2009; 47:1871-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 22. Shum J, Paul N. Chemically modified primers for improved multiplex PCR. *Anal Biochem.* 2009; 388:266-72. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 23. Lee SH, Joung M, Yoon S, Choi K, Park WY, Yu JR. Multiplex PCR detection of waterborne intestinal protozoa: microsporidia, Cyclospora, and *Cryptosporidium*. *Korean J Parasitol* 2010; 48:297-301. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 24. Li W, Zhang N, Gong P, Cao L, Li J, Su L, Li S, Diao Y, Wu K, Li H, Zhang X. A novel multiplex PCR coupled with luminex assay for the simultaneous detection of *Cryptosporidium* spp., *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis*. *Vet Parasitol.* 2010 ; 173:11-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 25. Wicht B, Yanagida T, Scholz T, Ito A, Jimenez J, Brabec J. Multiplex PCR for differential identification of broad tapeworms (Cestoda: *Diphyllobothrium*) infecting humans. *J Clin Microbiol.* 2010; 48:3111-116. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 26. Martínez-Ballesteros I, Paglietti B, Rementería A, Laorden L, García-Ricobaraza M, Bikandi J, Rubino S, Garaizar J. Intra- and inter-laboratory evaluation of an improved multiplex-PCR method for detection and typing of *Salmonella*. *J Infect Dev Ctries.* 2012; 6: 443-51. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 27. Yin S, Yang S, Shang Y, Cai X, Liu X. Development and optimization of multiplex-PCR for simultaneous detection of porcine pseudorabies virus, porcine parvovirus and porcine circovirus type 2. *Intern J Appl Res Vet Med.* 2012; 10:169-75. [\[Google scholar\]](#)
 28. Markoulatos P, Siafakas N, Moncany M. Multiplex polymerase chain reaction: a practical approach. *J Clin Lab Anal.* 2002; 16:47-51. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 29. Stralin K, Bäckman A, Holmberg H, Fredlund H, Olcén P. Design of a multiplex PCR for *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* to be used on sputum samples. *APMIS.* 2005; 113:99-111. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 30. Harris S, Jones DB. Optimization of the polymerase chain reaction. *Br J Biomed Sci.* 1997; 54:166-73 [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

31. Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT.. Deletion screening of the duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16:11147-56. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
32. Yamada H, Nishikawa A, Yamamoto T, Mizue Y, Yamada T, Morizane M, Tairaku S, Nishihira J. Prospective study of congenital toxoplasmosis screening with use of IgG avidity and multiplex nested PCR methods. *J Clin Microbiol.* 2011; 49:2552-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
33. Stark D, Al-Qassab SE, Barratt JL, Stanley K, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis JT. Evaluation of multiplex tandem real-time PCR for detection of *Cryptosporidium* spp., *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia intestinalis* in clinical stool samples. *J Clin Microbiol.* 2011; 49: 257-62. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
34. Taniuchi M, Verweij JJ, Noor Z, Sobuz SU, Lieshout Lv, Petri WA Jr, Haque R, Houpt ER. High throughput multiplex PCR and probe-based detection with luminex beads for seven intestinal parasites. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84:332-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
35. Rodríguez-Preval N, Fernández-Molina C, Rodríguez-G I, Berdasquera-C D, Rivera-Tapia J. PCR-múltiple para el diagnóstico de *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* y *Ureaplasma urealyticum*. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2007; 24:152-56. [\[Google Scholar\]](#)
36. Prieto JR. Estudio prospectivo sobre la eficacia de una PCR múltiple en el diagnóstico de las infecciones causadas por los herpesvirus. *Medicina Balear.* 2011; 26:20-6. [\[Google Scholar\]](#)
37. Cavalcante G. Aspectos clínicos e epidemiológicos das infecções por *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em bezerros da raça Nelore no Estado de São Paulo. Tese (doutorado) [citado 27 marzo 2012]. Disponible en: [http://www.ufpi.br/subsiteFiles/cienci/animal/arquivos/files/Temas_Prova_Escrita_Edital_01_2012\(1\).pdf](http://www.ufpi.br/subsiteFiles/cienci/animal/arquivos/files/Temas_Prova_Escrita_Edital_01_2012(1).pdf)
38. Hendolin PH, Paulin L, Ylikoski J. Clinically applicable multiplex PCR for four middle ear pathogens. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 125-32. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
39. Lim YA, Mahmud R, Chew CH, T T, Chua KH. Plasmodium ovale infection in Malaysia: first imported case. *Malar J.* 2010; 8:9: 272. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
40. Arraiz N, Bermudez V, Romay Z, Faria N, Mujica D. Evaluacion de un ensayo de PCR duplex para la identificacion de micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y no tuberculosis. *Rev Cs FCV-LUZ.* 2005;15:568-75. [\[Google Scholar\]](#)
41. Carvalho KS, Silvestre Ede A, Maciel Sda S, Lira HI, Galvão RA, Soares MJ, Costa CH, Malaquias LC, Coelho LF. PCR detection of multiple human herpesvirus DNA in saliva from HIV-infected individuals in Teresina, State of Piauí, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010; 43:620-3. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
42. García C, Lozano P, Rivera J, Giono S, Martínez Y, Rocha-Gracia R. Identificación y tipificación de *Haemophilus influenzae* mediante PCR múltiple. *Univ Méd Bogotá (Colombia)* 2008; 49:436-52. [\[Google Scholar\]](#)
43. Mehlotra RK, Gray LR, Blood-Zikursh MJ, Kloos Z, Henry-Halldin CN, Tisch DJ, Thomsen E, Reimer L, Kastens W, Baea M, Baea K, Baisor M, Tarongka N, Kazura JW, Zimmerman PA. Molecular-based assay for simultaneous detection of four *Plasmodium* spp. and *Wuchereria bancrofti* infections. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 82: 1030-3. [\[PubMed\]](#)
44. Da Costa ARF, De Sousa C, Batista C, Brito E. Desarrollo de PCR multiplex para detección y diferenciación de categorías de *Escherichia coli* diarreogénicos. *Rev Pan-Amaz Saude.* 2010; 1:77-84. [\[Google Scholar\]](#)
45. Sugita S, Ogawa M, Inoue S, Shimizu N, Mochizuki M. Diagnosis of ocular toxoplasmosis by two polymerase chain reaction (PCR) examinations: qualitative multiplex and quantitative real-time. *Jpn J Ophthalmol* 2011; 55: 495-501 [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
46. Cho YI, Kim WI, Liu S, Kinyon JM, Yoon KJ. Development of a panel of multiplex real-time polymerase chain reaction assays for simultaneous detection of major agents causing calf diarrhea in feces. *J Vet Diagn Invest.* 2010; 22:509-17. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#).
47. Baddour MM, Alkhalifa DH. Evaluation of three polymerase chain reaction techniques for detection of *Brucella* DNA in peripheral human blood. *Can J Microbiol.* 2008; 54: 352-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
48. Moreno N, Agudelo-Flórez P. Aplicación de las pruebas de PCR convencional simple y múltiple para la identificación de aislamientos de *Leptospira* spp. en Colombia. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2010; 27:548-56. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
49. González-Huerta NC, Hernández-Zamora E, Arenas-Sordo M de L, Escobar-Cedillo RE, Miranda-Duarte A, Leyva-García N. Deleciones del gen DMD en distrofia muscular de Duchenne/Becker. *Rev Med Hosp Gen Mex.* 2004; 67:196-202. [\[Google Scholar\]](#)

Como citar este artículo: Bolivar AM, Rojas A, Garcia-Lugo P. PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. *Avan Biomed* 2014; 3: 25-33

Bocio multinodular gigante deformante. Presentación de un caso sin síntomas obstructivos.

(Giant multinodular goiter. A case report with no obstructive symptoms)

Paul Bogucki¹, César Labastida-Moreno²✉, Anny Sánchez¹, José Tapia-González¹, Nelson Miliani¹

¹Servicio de Cirugía General. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA). Mérida. Venezuela.

²Servicio de Cirugía General. Hospital II "Dr. Tulio Carnevali Salvatierra". Mérida. Venezuela

[CASO CLINICO]

Recibido: 27 de Mayo de 2013. Aceptado: 16 de Noviembre de 2013.

Resumen

Se presenta el caso de un paciente masculino de 50 años, con una tumoración en la parte anterior de cuello de 25 años de evolución, sin síntomas de compresión. Al examen físico se aprecia una glándula tiroides de gran tamaño que deforma el cuello, de superficie lisa y nodular, de aproximadamente 16x12cm. Los estudios de imágenes y de laboratorio confirmaron el diagnóstico. Se practicó una tiroidectomía total, obteniéndose una glándula de 17x12cm. Se identificaron y preservaron ambos nervios laríngeos recurrentes y las glándulas paratiroides. No hubo complicaciones postoperatorias y el resultado estético fue satisfactorio. En conclusión el bocio es una patología común en las zonas con insuficiente aporte de Yodo, donde tiene una incidencia aproximada de 11%. Las estadísticas obtenidas en nuestro hospital se corresponden con lo publicado en la literatura internacional. La variedad gigante es infrecuente, constituyendo una causa de síntomas compresivos y disconformidad estética, por lo que la cirugía es la indicación terapéutica.

Palabras clave

Bocio Multinodular, Gigante, Bocio Endémico, Tiroides, Tiroidectomía

Abstract

In this report we show a 50 years male patient with a tumor in the anterior part of neck of 25 years of evolution, without symptoms of compression. Physical examination shows a large thyroid gland, which deforms the neck, smooth and nodular, painless to palpation, approximately 16x12cm. Imaging studies and laboratory-confirmed diagnosis of multinodular goiter. A total thyroidectomy was performed, with a gland 17x12cm. Were identified and preserved both recurrent laryngeal nerves and parathyroid glands. There were no postoperative complications and the aesthetic result was satisfactory. In conclusion the goiter is a condition common in areas with insufficient supply of iodine, which has an incidence of approximately 11%. The statistics obtained in our hospital are as published in the international literature to endemic areas. The variety of the giant goiter is uncommon, constituting a cause of compressive symptoms and aesthetic disagreement, therefore, that surgery is the therapeutic indication.

Keywords

Multinodular goiter, endemic goiter, thyroid, thyroidectomy.

Introducción

Como bocio multinodular (BMN) se entiende a la hipertrofia o hiperplasia del tejido glandular tiroideo, debido a la presencia de dos o más nódulos. Se inicia con el aumento del tejido intersticial, del coloide y de la proliferación de células epiteliales, más tarde se agrega la formación de nuevos folículos. Los

nódulos pueden ser de tamaño muy variable, desde pocos milímetros hasta varios centímetros (1,2). Existen factores bociógenos como carencia de yodo, alimentarios y químicos. En zonas con suficiente aporte de yodo el 4% de la población sufre de bocio; en zonas con insuficiente aporte la frecuencia aumenta a 11% (2-5).

Cuando el bocio es de mayor tamaño se asocia a síntomas compresivos que pueden llegar a producir un cuadro obstructivo importante. La compresión crónica de la tráquea puede causar traqueomalasia, lo que puede producir un colapso de la vía aérea en el postoperatorio (6).

Presentamos un caso de bocio multinodular gigante sin síntomas obstructivos ni compresivos a pesar del gran tamaño de la glándula, sometido a tiroidectomía total.

Caso clínico

Paciente masculino de 50 años de edad, natural de la zona sur del estado Zulia, con enfermedad de 25 años de evolución, caracterizada por aumento progresivo de volumen de la glándula tiroidea, sin cambios de la voz ni síntomas respiratorios. Al examen físico se observa un paciente conciente, sin dificultad respiratoria ni estridor. Se aprecia tiromegalia deformante, de superficie lisa, aspecto nodular, que se extiende desde el borde

inferior de la mandíbula hasta la escotadura esternal (figura 1a). La tumoración no se moviliza con la deglución. A la palpación es firme de superficie nodular, inmóvil. El resultado de las hormonas tiroideas y calcio fueron normales. El ultrasonido reveló un lóbulo izquierdo multinodular con zonas necróticas y una imagen quística de 2x2cm en su porción central. El lóbulo derecho escapa de la pantalla del monitor, con una lesión tumoral de contenido quístico (figura 1b). Se practicó una resonancia magnética (RM) cervical, en la que se puede observar una glándula tiroides voluminosa, con mayor tamaño del lóbulo derecho, que ocupa casi la totalidad del espacio anterior del cuello, la tráquea presenta una leve disminución de su luz y una discreta desviación a la izquierda (figura 1c-d). La punción aspiración con aguja fina reportó estudio citológico compatible con entidad benigna (Bocio).

El paciente fue ingresado para cirugía electiva. Se explicó el procedimiento al paciente y se obtuvo el consentimiento escrito. Se realizó la intubación sin eventualidades. Se practicó una tiroidectomía total, a través de una cervicotomía transversa amplia,

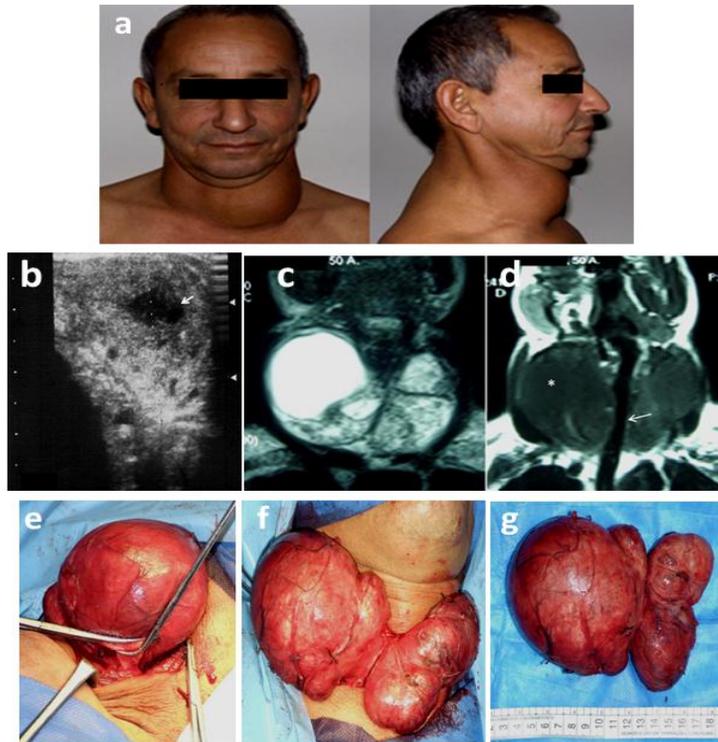


Figura 1. 1a. Corresponde a fotografías pre-operatorias del paciente. 1b. Ultrasonido tiroideo evidencia lesión tumoral de contenido quístico. 1c y 1d. Corresponde a la Resonancia Magnética Cervical, que evidencia lesión que desplaza la tráquea con leve disminución de su luz. 1e-g Muestran fotografía intraoperatoria, ligadura del pedículo vascular inferior (1e), extracción de la glándula (1f) y pieza operatoria (1g).

obteniéndose una glándula aumentada de tamaño, de 17x12cm, con crecimiento a predominio del lóbulo derecho, multinodular, sin extensión al tórax (figuras 1e-g). Se identificaron y preservaron ambos nervios laríngeos recurrentes y las glándulas paratiroides. Los pedículos vasculares fueron ligados satisfactoriamente. No se observaron evidencias de traqueomalacia. El paciente se mantuvo hemodinámicamente estable durante toda la cirugía. Posterior a la extubación el paciente se mantuvo en la unidad de cuidados postanestésicos por seis horas para vigilar su estado respiratorio. No se observaron complicaciones postoperatorias. El resultado estético fue satisfactorio, recuperándose la simetría del cuello (figura 2a). En el estudio histopatológico se evidenciaron folículos distendidos por coloide y revestimiento epitelial aplanado, concluyendo el diagnóstico de Bocio Multinodular Fibroquístico (figura 2b). La evolución postoperatoria fue favorable con un seguimiento de un año.

Resultados y Discusión

Actualmente el bocio gigante es poco frecuente. Prevalce en áreas geográficas apartadas sin tratamiento de yodo. El crecimiento difuso de la glándula puede causar síntomas compresivos que afectan la tráquea, el esófago y el nervio laríngeo recurrente. Cuando el crecimiento es mayor los síntomas incluyen disnea, estridor, ortopnea, disfagia o disfonía (7,8). El paciente no presentó síntomas obstructivos ni compresivos, a pesar de que estas manifestaciones clínicas están directamente relacionadas con bocios de gran tamaño.

Los avances en los estudios de imágenes han tenido un papel fundamental en la evaluación perioperatoria de la glándula tiroidea. El ultrasonido (US) y la punción guiada por ultrasonido son las técnicas de imágenes más útiles en el diagnóstico del bocio. Es seguro, no invasivo y accesible. Los detalles sobre el contenido de las lesiones, bordes, calcificaciones, ecotextura y vascularidad pueden aportar una valiosa información para evaluar una lesión maligna (9,10). La Tomografía Computarizada y la Resonancia Magnética (RM) son útiles para evaluar la extensión de la enfermedad, el componente subesternal y la relación de la glándula con otras estructuras (10,11). En este caso el US demostró características compatibles con enfermedad benigna. La RM aportó datos sobre el calibre y la desviación de la tráquea, aspectos importantes para el anesestesiólogo al momento de realizar la intubación.



Figura 2. 2a. Corresponde a fotografías postoperatorias, se observa la recuperación de la forma y simetría del cuello. **2b.** Se evidencia en estudio histológico folículos distendidos por coloide y revestimiento epitelial aplanado.

La tiroidectomía es la principal estrategia de tratamiento para el bocio gigante. Además de eliminar los síntomas permite descartar una neoplasia. Las indicaciones para la cirugía son la compresión traqueal, bocio acompañado de hipertiroidismo que no responde a tratamiento farmacológico, el crecimiento rápido, y afectación a la estética. La cirugía para el bocio gigante es un reto para el cirujano. Debido al tamaño de la glándula se presenta una deformación de la anatomía y adherencias a estructuras vitales que pueden aumentar el riesgo de complicaciones quirúrgicas (6). Cuando el bocio es gigante, además de las complicaciones frecuentes de la tiroidectomía, se pueden presentar edema laríngeo, hemorragia masiva y lesión de la tráquea y el esófago. Además, la compresión crónica de la tráquea puede producir traqueomalacia, que conduce al colapso postoperatorio de la vía aérea (6,12).

El aumento de volumen de la glándula tiroidea puede producir un compromiso de la vía aérea con dificultad para la intubación debido a la desviación o compresión de la tráquea. Amathieu y col. reportaron que la incidencia de intubación difícil en cirugía tiroidea fue de 11,1% (13). En este caso no se

presentaron complicaciones relacionadas a la técnica quirúrgica ni traqueomalasia, a pesar de los factores de riesgo presentes, como el tamaño de la glándula, el tiempo de la enfermedad, y la compresión de la tráquea. La tiroidectomía se realizó de forma meticulosa con un campo operatorio amplio, con énfasis en el control y prevención de la hemorragia, además de la prevención de la lesión de los nervios laríngeos recurrentes. El manejo de la vía aérea no presentó dificultades notorias.

La literatura especializada ha reportado estudios que apoyan la tiroidectomía total en el tratamiento del bocio, lo que permite evitar recidivas y disminuir la morbimortalidad derivada de las reintervenciones. En el BMN la resección quirúrgica combinada con el seguimiento endocrinológico postoperatorio es la conducta indicada (14-16).

Referencias

- Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice. 18th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008
- Martínez-Salgado H, Castañeda-Limones R, Lechuga-Martín del Campo D, Ramos-Hernández RI, Orozco-López M, Rivera-Dommarco J, Mendoza I, Magos C. Deficiencia de yodo y otras posibilidades en la persistencia del bocio endémico en México. *Gac Med Mex.* 2002; 138: 149-56. [[PubMed](#)]
- González M, Romero M, Díaz de León F, Moreno JS. Manejo quirúrgico de los nódulos de la glándula tiroidea. *Rev Fac Med UNAM* 2001; 44: 152-5. [[Google Scholar](#)]
- Thomusch O, Sekulla C, Dralle H. Is primary total thyroidectomy justified in benign multinodular goiter? Results of a prospective quality assurance study of 45 hospitals offering different levels of care. *Chirurg* 2003; 74: 437-43. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Diehl LA, Garcia V, Bonnema SJ, Hegedüs L, Albino CC, Graf H; Latin American Thyroid Society. Management of the nontoxic multinodular goiter in Latin America: comparison with North America and Europe, an electronic survey. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:117-23. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Gao B, Tian W, Jiang Y, Zhang X, Zhao J, Zhang S, Chen J, Luo D. Peri-Operative Treatment of Giant Nodular Goiter. *Int J Med Sci* 2012; 9: 778-85 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Steen J. Bonnema SJ, Bennedbæk FN, Ladenson P, Hegedüs L. Management of the Nontoxic Multinodular Goiter: A North American Survey. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:112-7. [[PubMed](#)]
- Nada A, Ahmed AM, Vilallonga R, Armengol M, Moustafa I. A Giant Euthyroid Endemic Multinodular Goiter with No Obstructive or Compressive Symptoms. *Case Rep Med.* 2011. doi:10.1155/2011/620480 [[PubMed](#)] [[Google scholar](#)]
- Kangelaris GT, Kim TB, Orloff LA. Role US Thyroid Disorders. *Otolaryngol Clin North Am.* 2010; 43: 1209-27. [[PubMed](#)]
- Vazquez BJ, Richards ML. Imaging Thyroid and Parathyroid Glands. *Surg Surg Clin North Am.* 2011 ; 91:15-32 [[PubMed](#)]
- de Aguiar-Quevedo K, Cerón-Navarro J, Jordá-Aragón C, Pastor-Martínez E, Sales-Badia JG, García-Zarza A, Pastor-Guillén J. Bocio intratorácico. Revisión de la literatura médica. *Cir Esp* 2010; 88: 142-45 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Bajwa SJ, Sehgal V. Anesthesia and thyroid surgery: The never ending challenges. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013; 17: 228-34. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Amathieu R, Smail N, Catineau J, Poloujadoff MP, Samii K, Adnet F. Difficult intubation in thyroid surgery: Myth or reality? *Anesth Analg.* 2006;103: 965-8 [[PubMed](#)]
- Efremidou EI, Papageorgiou MS, Liratzopoulos N, Manolas KJ. The efficacy and safety of total thyroidectomy in the management of benign thyroid disease: a review of 932 cases. *Can J Surg.* 2009; 52: 39-44. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Delbridge L. Total thyroidectomy: the evolution of surgical technique. *ANZ J Surg* 2003;73: 761-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Bron LP, O'Brien CJ.. Total thyroidectomy for clinically benign disease of the thyroid gland. *Br J Surg* 2004; 91: 569-74. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar éste artículo: Bogucki P, Labastida-Moreno C, Sánchez A, Tapia-González J, Miliani N. Bocio multinodular gigante deformante. Presentacion de un caso sin síntomas obstructivos. *Avan Biomed* 2014; 3: 34-7.

Endometriosis Vulvar. Reporte de Caso (Vulvar Endometriosis. Case Report)

Duly Torres-Cepeda¹, Eduardo Reyna-Villasmil¹✉, Joel Santos-Bolívar¹

¹ Servicio de Obstetricia y Ginecología, Maternidad "Dr. Nerio Beloso", Hospital "Dr. Urquinaona", Maracaibo, Estado Zulia - Venezuela.

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 17 de Junio de 2013. Aceptado: 20 de Diciembre de 2013.

Resumen

La endometriosis es una patología ginecológica común caracterizada por el crecimiento de glándulas y estroma endometrial fuera del endometrio. Los implantes se encuentran comúnmente en la pelvis, pero pueden aparecer en diferentes sitios. La afección vulvar de la endometriosis es rara. Se presenta el caso de paciente de 19 años de edad quien consultó por presentar dolor e inflamación en la zona vulvar por más de dos años, síntomas que se hacían más persistentes durante la menstruación.

Palabras clave

Endometriosis, Vulvar, Endometrio.

Abstract

Endometriosis is a common gynecologic pathology characterized by growth of endometrial glands and stroma outside the endometrium. Implants are most commonly found in the pelvis but can occur in many other sites. Vulvar involvement of endometriosis is extremely rare. A case of vulvar endometriosis is presented. A case of a 19-years old patient who was assisted for presenting pain and inflammation in vulvar zone for more than two years, symptoms that was more severe during menses.

Keywords

Endometriosis, Vulvar, Endometrium.

Introducción

El término endometriosis describe la presencia de tejido endometrial funcional fuera de la cavidad uterina. Es un desorden ginecológico común que afecta al 1-7% de la población, el 21% de las mujeres infértiles y al 10% de las mujeres en la tercera o cuarta década de la vida. Los síntomas más pronunciados son la dispareunia, dolor pélvico y la infertilidad (2).

Afecta más comúnmente el peritoneo pélvico cercano a los ovarios (60-75%), incluyendo los ligamentos útero-sacos (30-65%), útero (4-20%) y colon rectosigmoideos (3-10%). Los lugares menos

comunes son el apéndice (25), uréter (1-2%), íleo terminal (1%) y cicatrices abdominales (<1%) (2).

Clínicamente, la patología es generalizada y puede causar síntomas intra o extragenitales. La endometriosis vulvar es extremadamente rara, con una incidencia estimada de menos de 0,5% de todas las pacientes con endometriosis y el desarrollo se produce posterior a una cirugía abdomino-pélvica (1). Se presenta el caso de una paciente con endometriosis vulvar.

Reporte de Caso

Se trata de paciente de 19 años de edad, nulípara, que consultó por presentar dolor e inflamación en la zona vulvar por más de dos años,

síntomas que se hacían más persistentes durante la menstruación. La paciente presentaba el antecedente de una laparotomía hace 4 años por un endometrioma de ovario izquierdo. Luego de la cirugía, la paciente fue tratada con anticonceptivos orales hasta la actualidad.

Al examen físico, se encontró una tumoración dura de 3 x 2 x 1 centímetros con una coloración azulada cercana al labio mayor izquierdo de la vulva, a unos 3 centímetros de la cicatriz de la laparotomía y que crecía desde el tejido celular subcutáneo, compatible con endometrioma (figura 1).

El útero y el ovario derecho eran normales al examen físico y ecográfico, por lo que se procedió a la resección de la tumoración, observándose la salida de pequeña cantidad de líquido achocolatado. El examen de anatomía patológica demostró la presencia de focos endometrioides, depósitos de hemosiderina, glándulas y estroma endometriales con extravasación de eritrocitos e infiltrados inflamatorios alrededor de las glándulas, confirmando el diagnóstico de endometriosis (figura 2). La paciente se mantiene libre de síntomas luego de 6 meses de la cirugía.



Figura 1. Tumoración compatible con Endometrioma Vulvar.

Discusión

La endometriosis está caracterizada por el crecimiento de glándulas y estroma endometriales fuera de la cavidad endometrial, que responde a la estimulación hormonal en localizaciones anormales. Es una patología ginecológica en mujeres en edad reproductiva, con 10 a 20% de incidencia clínica y una incidencia que llega a ser tan alta como 45% en la

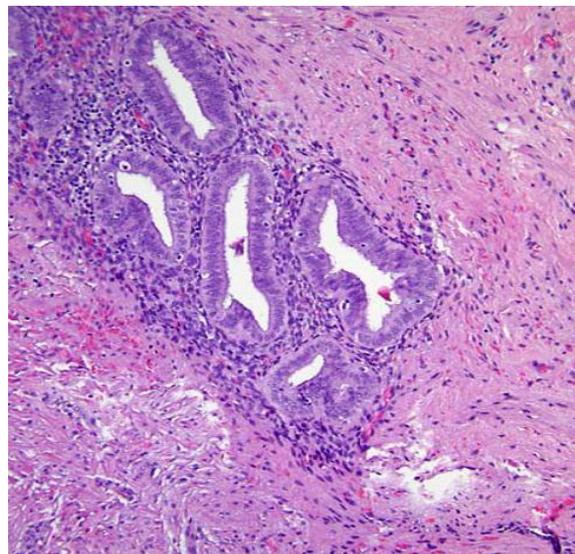


Figura 2. Aspecto histológico de la Endometriosis

evaluación laparoscópica (3). La patología extrapélvica ocurre en el 12% de las pacientes con endometriosis (3,4).

De las tres teorías de la patogénesis de la endometriosis (la implantación ectópica de tejido endometrial, metaplasia celómica y diseminación vascular) (5), la implantación ectópica de tejido endometrial (teoría de Sampson) es la más ampliamente aceptada. Sin embargo, ninguna teoría en forma exclusiva explica la versátil aparición de la endometriosis. La teoría de la metaplasia celómica (teoría de Meyer) explicaría el desarrollo de endometriosis en los ovarios, peritoneo y vejiga urinaria debido a su origen común en el epitelio celómico. Por otro lado, la teoría de diseminación vascular, en la cual las células endometriales entran a la circulación sanguínea y linfática, explicaría la localización de la endometriosis en sitios distales que incluyen piel, pulmones, músculos de la pared abdominal, pleura, pericardio y tejidos nasales (6).

La endometriosis secundaria aparece más comúnmente (>70% de los casos) en la cicatriz del abdomen, periné, área inguinal o, como en el presente caso, en vulva. La aparición frecuentemente ocurre posterior a varios tipos de cirugía ginecológica como cesárea, laparoscopia, laparotomía, histerectomía, metro plastia, miomectomía, episiotomía y apendicetomía, remoción de quistes de la glándula de Bartolino y amniocentesis (1). El mecanismo propuesto para la implantación iatrogénica de tejido endometrial en la piel durante el procedimiento. Ocasionalmente,

la endometriosis secundaria puede desarrollarse en sitios no relacionados en forma directa con la cicatriz quirúrgica (7).

Estudios recientes han demostrado que las caderinas e integrinas son importantes moléculas de adhesión células de las células endometriales. La alteración de la respuesta inmune tanto en la citotoxicidad mediada por las células T como la disminución de la actividad de las células *natural killer*, puede producir un aumento de la presencia de las células endometriales. Los macrófagos parecen también jugar un papel importante en la patogénesis de la endometriosis a través de la inducción de citosinas que estimulan la proliferación de las células endometriales (8).

La presentación, generalmente, es la de una tumoración subcutánea que varía en tamaño de milímetros a centímetros y de color rosa - marrón - azul, dependiendo de la cantidad de sangre y la duración de la lesión. Debido a la variabilidad de la apariencia macroscópica, las lesiones pueden ser inicialmente confundidas con lesiones malignas como el melanoma. Sin embargo, también se debe realizar el diagnóstico diferencial con tumores subcutáneos o descoloraciones de la piel como nevus benigno, absceso o quiste, al igual que depósitos metastáticos de neoplasias sistémicas.

Los síntomas de las pacientes están determinados por la localización y no por el tamaño de las lesiones endometriósicas extrapélvicas, ya que generalmente producen síntomas anormales. Dougherty y cols. (9) describen 3 hallazgos característicos; síntomas relacionados con la menstruación: dolor perineal y prurito, incluso sangrado; pacientes jóvenes y cirugía ginecológica reciente, que justifique la implantación de células endometriales. En algunas ocasiones puede observarse el dolor catamenial típico con síntomas cíclicos (como variabilidad menstrual en el tamaño y consistencia de las tumoraciones) en el 50% de las pacientes. Estos síntomas pasan desapercibidos para el médico tratante hasta que no se sospecha el diagnóstico de endometriosis, el cual es frecuentemente accidental o realizado por el examen histopatológico (10).

Para ayudar en el diagnóstico puede ser útil el uso de la microscopia epiluminiscente (dermoscopia) donde se observa la pigmentación rojiza homogéneamente distribuida con pequeñas estructuras rojas globulares. La biopsia, el Doppler color de alta frecuencia y la resonancia magnética son otras herramientas útiles para el diagnóstico de endometriosis cutánea y subcutánea (7).

Existen reportes de casos de transformación maligna, aunque es muy poco frecuente (menos del 1% de las endometriosis cutáneas). El carcinoma endometroide es el subtipo histológico más frecuente, seguido por el carcinoma de células claras. Otros subtipos, como el adenocarcinoma seroso y el adenosacroma han sido reportados en mujeres jóvenes y menopáusicas. Los signos sospechosos de neoplasia son historia significativa de endometriosis con frecuentes recurrencias, poca respuesta al tratamiento médico y crecimiento rápido de la masa tumoral. El seguimiento clínico debe ser a largo plazo, ya que el tiempo transcurrido hasta la degeneración maligna puede variar desde meses hasta 40 años. La monoterapia con estrógenos (en especial en mujeres obesas) incrementa el riesgo de malignidad (11).

De acuerdo a lo reportado, y considerando el potencial de transformación maligna de la endometriosis extrapélvica (12), el tratamiento de elección es la resección quirúrgica amplia con márgenes extensos para estas lesiones, con un buen porcentaje de curación y se recomienda en todos los casos en los que el foco endometriósico es único, especialmente cuando éste puede ser completamente resecado.

En algunos estudios se ha encontrado una asociación estadísticamente entre la endometriosis y el desarrollo de melanoma, con un riesgo relativo de 1,62 (13). Se ha especulado que la expresión anormal de algunos genes supresores tumorales (p16Ink, p53 y PTEN) puede favorecer el desarrollo de ambas condiciones. El tratamiento hormonal a largo plazo en la endometriosis también puede favorecer el desarrollo del melanoma. Sin embargo, otros estudios no han logrado confirmar esta condición (14). En cualquier caso, no existen datos precisos sobre la posible asociación entre la presencia de la endometriosis y el desarrollo de melanoma.

En conclusión, se debe considerar la presencia de endometriosis vulvar en el diagnóstico diferencial de nódulos que aparecen en esa zona en mujeres en edad reproductiva. El diagnóstico debe ser basado en los antecedentes y la historia clínica, pero se debe confirmar con el examen histológico. El tratamiento es la resección quirúrgica con márgenes amplios. Se debe realizar la evaluación ginecológica después de la resección, en especial se la paciente tiene endometriosis pélvica sintomática. La transformación maligna, aunque muy rara, debe sospecharse en lesiones recurrentes de crecimiento rápido.

Referencias

1. Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18: 177-200. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
2. Preciado Ruiz R, Torres Calleja J, Zúñiga Montiel JA, Martínez Chéquer JC, Manterola Alvarez D, García Luna A. Incidencia de endometriosis en mujeres infértiles; características clínicas y laparoscópicas. *Ginecol Obstet Mex.* 2005; 73: 471-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
3. Hansen KA, Chalpe A, Eyster KM. Management of endometriosis-associated pain. *Clin Obstet Gynecol.* 2010; 53: 439-48. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
4. Pinzón A, Pardal I, Gutiérrez O, Gómez J, Cruz A. Endometriosis en cicatriz poscesárea: reporte de un caso. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 1986; 46: 202-3.
5. Eyvazzadeh AD, Smith YR, Lieberman R, Quint EH. A rare case of vulvar endometriosis in an adolescent girl. *Fertil Steril.* 2009; 91:929.e9-11. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
6. Alexiadis G, Lambropoulou M, Deftereos S, Giatromanolaki A, Sivridis E, Manavis J. Abdominal wall endometriosis--ultrasound research: a diagnostic problem. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2001; 28: 121-2. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
7. Esteves T, Cabrita J, Coelho R, Vale E. Endometriose cutânea. *Dermatol Online J.* 2010;16:9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
8. Bulun SE. Endometriosis. *N Engl J Med.* 2009;360:268-79. [[PubMed](#)].
9. Dougherty LS, Hull T. Perineal endometriosis with anal sphincter involvement: report of a case. *Dis Colon Rectum.* 2000; 43: 1157-60. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
10. Marcelli F, Collinet P, Vinatier D, Robert Y, Triboulet JP, Biserte J, Villers A. Ureteric and bladder involvement of deep pelvic endometriosis. Value of multidisciplinary surgical management. *Prog Urol.* 2006; 16: 588-93. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
11. Leng J, Lang J, Guo L, Li H, Liu Z. Carcinosarcoma arising from atypical endometriosis in a caesarean section scar. *Int J Gynecol Cancer.* 2006; 16:432-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
12. Androulaki A, Papatomas TG, Alexandrou P, Lazaris AC. Metastatic low-grade endometrial stromal sarcoma of clitoris: report of a case. *Int J Gynecol Cancer.* 2007; 17: 290-3. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
13. Kvaskoff M, Mesrine S, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. Endometriosis risk in relation to naevi, freckles and skin sensitivity to sun exposure: the French E3N cohort. *Int J Epidemiol.* 2009; 38: 1143-53. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
14. Olson JE, Cerhan JR, Janney CA, Anderson KE, Vachon CM, Sellers TA. Postmenopausal cancer risk after self-reported endometriosis diagnosis in the Iowa Women's Health Study. *Cancer.* 2002; 94: 1612-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

Como citar este artículo: Torres-Cepeda D, Reyna-Villasmil E, Santos-Bolívar J. Endometriosis Vulvar. Reporte de Caso. *Avan Biomed* 2014; 3: 38-41.



Comportamiento inusual de Sarcoma de alto grado de malignidad en abdomen. Reporte de un caso (Unusual behavior of high-grade sarcoma malignancy in abdomen. A case report)

Maryem Seco-Meza¹✉, María Araque-Marquina¹, Cesar Tapia-Martínez¹, Luis Tabares-Contreras¹, María Serrano-Camacho¹, Pedro Fargier-Becerra¹, Alejandro Sabino-Fernández¹, Henry Parra¹, Estrella Uzcátegui²

¹ Estudiante de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela.

² Servicio de Cirugía General, IAHULA. Mérida-Venezuela

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 12 de Septiembre de 2013. Aceptado: 20 de Febrero de 2014.

Resumen

Los sarcomas de tejidos blandos aparecen en cualquier localización y abarcan más de 50 tipos histológicos; se originan del tejido mesodérmico embrionario y del ectodermo o neuroectodermo. Son pocos frecuentes y representan el 1 % de tumores sólidos abdominales de alta agresividad en adultos. Los más agresivos y con mayor capacidad metastásica son los de alto grado, mientras que los de bajo grado son agresivos pero de forma local. Al respecto, se presenta el caso de una paciente femenina de 52 años, del área rural, con 3 meses de evolución del cuadro clínico, quien presentó aumento progresivo de volumen abdominal, sensación de peso y masa palpable, concomitantemente emesis, adinamia, pérdida de peso y edema en miembros inferiores. Se realizó ultrasonografía abdominal que evidenció tumoración ecomixta de 16 x 20 cm en línea media. La Tomografía Axial Computarizada abdominal reportó lesión ocupante de espacio heterogénea, ovalada, de bordes irregulares de 15 x 10 cm que desplaza asas delgadas. La laparotomía exploradora media mostró ausencia de implantes peritoneales y carcinomatosis, tumor muy vascularizado, encapsulado de contextura lisa, consistencia firme, con bordes definidos de 15 x 20 cm. Después de la resección, no se observaron adenopatías ni metástasis locales y a distancia. El reporte histopatológico identificó un sarcoma de alto grado. A dos años de la operación no se encontró metástasis. Contrario a lo que la literatura reporta, se mantuvo un comportamiento "benigno" a pesar de su histología, lo cual es inusual considerando la historia natural de la enfermedad.

Palabras clave

Sarcoma de alto grado, Metástasis, Tumor, Histopatología.

Abstract

Soft tissue sarcomas appear in any location and include more than 50 histological types; they originate from mesodermal embryonic tissue, ectoderm or neuroectoderm. They are infrequent and represent 1% of highly aggressive abdominal solid tumors in adults. The most aggressive and with major metastatic capacity are high-grade sarcomas, while low-grade ones are aggressive but of local form. In this regard, the case of a 52-year-old female patient, from a rural area, with 3 months of onset of symptoms, is presented. The patient showed a progressive increase in abdominal volume, sensation of weight and palpable mass, concomitant vomiting, weakness, weight loss and lower limb edema. Abdominal ultrasound was performed which showed a sonographically mixed tumor of 16 x 20 cm in the midline. A CT scan showed a heterogeneous space-occupying lesion, oval, with irregular borders of 15 x 10 cm that displaces thin bowel loops. The medial laparotomy showed no peritoneal implants and carcinomatosis; the tumor was highly vascularized, encapsulated, of smooth contexture, firm, and with defined edges of 15 x 20 cm. After resection, no lymphadenopathy or local and distant metastases were observed. The pathology report identified a high-grade sarcoma. After two years of surgery, no metastasis was found. In contrast to what is reported in the literature, the sarcoma remained "benign" despite its histology, which is unusual considering the natural history of the disease

Keywords

High-grade sarcoma, Metastasis, Tumor, Histopathology.

Introducción

Los sarcomas de tejidos blandos pueden aparecer en cualquier localización y abarcan más de 50 subtipos histológicos. Son tumores provenientes del tejido mesodérmico embrionario pero también pueden proceder del ectodermo o neuroectodermo (tumores de la vaina nerviosa de los nervios periféricos.), algunos extraesqueléticos y extraviscerales (1). El mesodermo es importante para el desarrollo del tejido conectivo y sólo estos tejidos, cuando sufren transformación maligna se incluyen en la categoría de sarcoma de partes blandas (2). Son poco frecuentes, de alta agresividad y en general, constituyen el 1% de los tumores sólidos en el adulto, pero en la edad pediátrica aumentan hasta el 7%, por lo que requieren un diagnóstico precoz donde además, dependiendo de la edad de presentación, el grado de malignidad, localización, extensión y adecuada resección podremos obtener buenos resultados con mejor sobrevida del paciente.

Aunque la mayoría de los casos no tienen un agente causal identificable, datos recientes sugieren ciertas mutaciones adquiridas en las células madre pluripotenciales, mesenquimatosas, dando lugar a clonas malignas que se diferencian por vías que semejan la histogénesis normal. Las alteraciones de los genes RB, p53, y NF-1, así como la sobreexpresión de factores de crecimiento, como el PDGF-B, EGF-R, y mutaciones de los oncogenes myc y ras (3), contribuyen a cierta predisposición genética, con un sustrato con la mutación de un gen dominante, presente en 8 a 9% de los niños con sarcomas de partes blandas.

Caso Clínico

Paciente femenina de 52 años de edad, natural y precedente de medio rural, quien inicia enfermedad actual de 3 meses de evolución, caracterizada por aumento progresivo del volumen abdominal, con sensación de peso y masa palpable, concomitantemente emesis diarios de contenido alimentario, pérdida de peso, astenia, adinamia y edema en miembros inferiores.

En el examen físico, se observó discreta palidez cutáneo-mucosa, hemodinámicamente estable, y a nivel cardiopulmonar sin alteraciones. El abdomen tenía escaso panículo adiposo, era globoso, tenso, depresible, con onda ascítica presente y tumoración de 20 x 15 cm aproximadamente,

redondeada, móvil, que involucra región umbilical, flanco y fosa ilíaca izquierda. Mostró edema en miembros inferiores de grado II/IV. Presentó un estado neurológico conservado.

En la Ultrasonografía Abdominal se evidencia tumoración heterogénea con áreas hipocogénicas e hiperecogénicas de 16 x 20 cm. A nivel de la línea media, líquido libre en moderada cantidad, hígado, vesícula, riñón y resto de órganos sin alteraciones.

Se realiza Tomografía Axial Computarizada Abdominal que reporta lesión ocupante de espacio heterogénea, ovalada, de bordes irregulares, tabicada de 15 x 10 cm que desplaza asas delgadas (Figura 1).

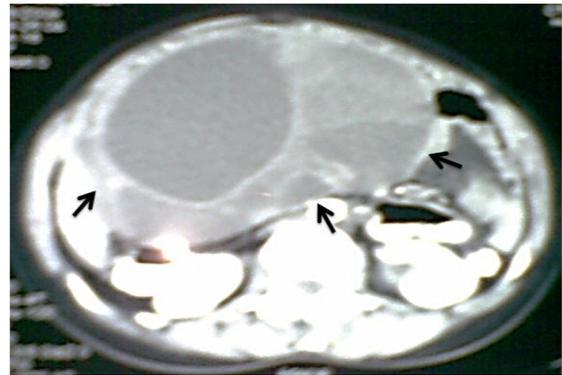


Figura 1. TAC se evidencia gran tumoración a nivel de raíz del mesenterio.

En vista de que en nuestra institución, no se contaba para la fecha, con los equipos necesarios para realizar terapia adyuvante (Radioterapia y Quimioterapia), se decide practicar laparotomía exploradora media, como tratamiento de entrada, con los siguientes hallazgos operatorios: escaso líquido libre en cavidad, predominantemente en fosa pélvica (100cc aproximadamente), ausencia de implantes peritoneales o carcinomatosis, tumor multilobulado, muy vascularizado, encapsulado con membrana serosa de textura lisa y consistencia firme, de bordes definidos, sin adherencias a órganos vecinos, pediculado a nivel de la raíz del mesenterio de 15 x 20cm aproximadamente, realizándose resección R1. No se constatan adenopatías ni metástasis locales o a distancia (Figura 2).

El reporte de anatomía patológica informa: A nivel microscópico, los cortes histológicos muestran neoplasia maligna de extirpe mesenquimático, constituida por células fusiformes con pleomorfismo celular y nuclear dado por hiperchromatismo,



Figura 2. Tumor intraabdominal multilobulado de 15 x 20 cm.

reforzamiento de la membrana nuclear y abundantes mitosis atípicas. Dichas células se disponen disgregadas en un estroma colagenizado alternando con extensas áreas de necrosis tumoral sin invasión vascular con bordes de resección libres de tumor. Concluyendo dicho reporte en: Sarcoma de alto grado, probable Rbdomiosarcoma.

Se realiza estudio de Inmunohistoquímica, con Reacción a Vimentina 3 + (presente en causas de origen mesenquimal y la cual es útil para el diagnóstico de sarcoma) y; Reacción a Desmina 3 + (ésta proteína de tamaño intermedio se encuentra presente en células vasculares, fuertemente expresado en la mayoría de los Rbdomiosarcoma).

Discusión

Existen algunos factores que predisponen el desarrollo de sarcomas de partes blandas como son los antecedentes familiares de sarcomas de tejidos blandos y óseos (por translocación cromosómica que parecen codificar oncogenes y los síndromes asociados), antecedentes personales de neurofibromatosis tipo 1 o síndrome de Li-fraumeni (4), síndrome de carcinomas basocelulares nevoides, esclerosis tuberosa, poliposis colónica, exposición a asbesto el cual se ha relacionado con el desarrollo de mesoteliomas, intoxicación con herbicidas como los ácidos fenoxiacéticos (plaguicidas comunes en trabajos rurales) y preservativos de la madera que contienen clorofenoles, radiaciones ionizantes que incrementan entre 8 a 50 veces más la incidencia de sarcoma (5) y el linfedema crónico (linfangiosarcoma) (6), sin embargo nuestro caso no reporta antecedentes familiares o personales de importancia.

La edad de presentación, más frecuente es entre los 20 y 60 años, en el 45 % de los casos, sin diferencia de frecuencia según sexo. El sarcoma de partes blandas se presenta como una tumoración,

indolora que crece rápidamente; a medida que la tumoración aumenta de tamaño puede provocar dolor al comprimir músculos, terminaciones nerviosa y órganos, posteriormente puede presentar, impotencia funcional y aparición de ganglios linfáticos regionales, en algunos tipos. El motivo de consulta más frecuente es el aumento de volumen (7,8).

En los sarcomas retroperitoneales, la tomografía abdominal se considera una modalidad estándar debido a que es el mejor método para evaluar el potencial de reseccabilidad del tumor, establecer su ubicación y la extensión de la enfermedad. También permite descartar metástasis a distancia (9,10)

En la cavidad abdominal podemos encontrar gran variedad de tumoraciones con comportamiento similar por lo que la confirmación histológica posterior a la exéresis es fundamental, ya que estas masas pueden localizarse también a nivel del intestino delgado, grueso, retroperitoneo y como en nuestro caso, en la raíz del mesenterio.

Estos tumores suelen clasificarse como de bajo y alto grado. Sin embargo otros autores los dividen en bajo, intermedio y alto potencial metastásico. Para determinarlo se recurre a la morfología celular, presencia de necrosis, morfología nuclear, grado de celularidad, vascularidad, cantidad de estroma y número de mitosis, entre otros. La tendencia a formar metástasis a distancia así mismo depende del grado, donde los de bajo grado tienden a ser más agresivos localmente y poseen escasa capacidad metastásica, mientras que los de alto grado forman metástasis con mayor probabilidad (5,6). En éste caso a pesar de que según el reporte histopatológico es de alto grado, no hay presencia de metástasis local o a distancia.

Los sarcomas en líneas generales son tumores de crecimiento rápido y muy agresivos y cuando se encuentran a nivel abdominal son de ubicación retroperitoneal, afortunadamente son poco frecuente tal como lo demuestra un estudio realizado en el Servicio de Cirugía General del Hospital Universitario de Los Andes (11), que incluyó 12 pacientes con el diagnóstico de tumor retroperitoneal, para 10 años de estudio. La mayoría alcanza grandes dimensiones e involucran estructuras adyacentes, lo que hace difícil su resección y en los que se logra su extirpación mantener márgenes de resección adecuados. La mayoría de los estudios informan que los sarcomas retroperitoneales afectan por igual a hombres y mujeres, sin embargo, en esta serie, predomina el sexo femenino representando el 66,6% de los casos (11).

El presente caso es una paciente femenina con tumoración de gran tamaño, a quien se le realiza resección total (R1) sin evidencia macroscópica de enfermedad a pesar de que el comportamiento habitual de estos sarcomas es la infiltración de estructuras y órganos vecinos, por lo que la resección quirúrgica como tratamiento único, fue eficaz en este caso ya que en la mayoría de los casos, sólo se aplica en tumores pequeños menores de 5cm y sobre todo los que son de bajo grado. Sin embargo, quizás por tratarse de un sarcoma de alto grado, se logra la resección total de dicha masa ya que estos manejan una menor tendencia de infiltración local pero mayor a distancia; más aún así no se realizó linfadenectomía ya

que no existían metástasis ganglionares evidentes al momento de la cirugía.

Durante el seguimiento de estos tumores, la recaída es usual en los primeros 24 meses y se encuentra entre el 80 al 90%. En los casos de bajo grado, la recaída local es lo más común posterior a la resección total del tumor, siendo los de alto grado los que tienen mayor riesgo de recaída sistémica de hasta el 40% a los 24 meses a nivel de pulmón, hígado y cerebro; en estos casos, la quimioterapia puede dar un beneficio en el control de la enfermedad sistémica.

Referencias

- Gallo MA, Gogorza MI, Ramos JJ, Martínez AR, Pilchik W. Tumor de mesenterio. Reporte de un caso. *Rev. Postgrado Via. Cátedra Med.* 2003; 125:25-6. [\[Google Scholar\]](#).
- Díaz-Plasencia Juan, Salazar Roncal Jorge, Pomatanta Plasencia Jorge, Tantalean Enrique, Guzman Carlos. Cuadro clínico patológico y factores pronósticos de sobrevida en adultos con sarcomas de partes blandas. *Rev Med Hered.* 2013; 8: 129-41. [\[Google Scholar\]](#)
- Álava E. Patología Molecular de los Sarcomas. *Oncología.* 2005; 28 :426-42. [\[Google Scholar\]](#)
- Hueman MT, Thornton K, Herman JM, Ahuja N. Tratamiento de los sarcomas de partes blandas de las extremidades. *Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica.* 2008; 88: 539-57. [\[Google Scholar\]](#)
- Barry W. Feig, David H. Berger, George M Fuhrman. *Oncología Quirúrgica.* M.D. Anderson Surgical Oncology Handbook, 3rd ed, 2005.
- Gómez A, Granados M, González M. Manual de Oncología. Procedimientos medico quirúrgicos. Vol 1. 3a ed. México: Mc Graw Hill. Interamericana editores; 2006.
- Sepúlveda MH. General considerations and clinical manifestations of soft tissue sarcoma. *Medwave.* 2004; 4: e3284. [\[Google Scholar\]](#)
- Butte JM, Torres E, Llanos O; valencia I, González S, Reveco M. Liposarcoma retroperitoneal: Experiencia clínica y revisión de la literatura. *Rev Chil Cir.* 2004; 56: 40-5 [\[Google Scholar\]](#)
- García Del Muro X1, Martín J, Maurel J, Cubedo R, Bagué S, de Álava E, Pousa AL, Narváez JA, Ortiz E, Pomés J, Poveda A, Romasanta LP, Tendero O, Viñals JM; Grupo Español de Investigación en Sarcomas (GEIS). Soft tissue sarcomas: clinical practice guidelines. *Oncología (Barc).* 2011; 136: 408.e1-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Medina-Villaseñor EA, Martínez-Macías R, Díaz-Rodríguez L, Barra-Martínez R, Garza-Navarro JM, Quezada-Adame I, Neyra-Ortiz E. Sarcomas retroperitoneales. *Cir Gen.* 2006; 28: 77-82. [\[Google Scholar\]](#)
- Labastida C, Olivares A, Silva M, Gordillo B, Uzcátegui E, León G. Sarcomas retroperitoneales. Experiencia de 12 casos en el Hospital Universitario de Los Andes. *Rev Méd Exten Port – ULA.* 2008; 2: 6-10. [\[Google Scholar\]](#).

Como citar este artículo: Seco-Meza M, Araque-Marquina M, Tapia-Martínez C, Tabares-Contreras L, Serrano-Camacho M, Fargier-Becerra P, Sabino-Fernández A, Parra H, Uzcátegui E. Comportamiento Inusual de Sarcoma de alto grado de malignidad en abdomen. Reporte de un caso. *Avan Biomed* 2014; 3: 42-5.

Instrucciones a los autores

Se aceptan solamente artículos inéditos relacionados con cualquier aspecto de las ciencias biomédicas. Todo trabajo que se desee publicar debe enviarse a la Revista utilizando el correo electrónico: avanbiomed.idic@gmail.com, el mismo debe distribuirse en (4) archivos diferentes identificados de la siguiente manera:

- **Carta al Editor:** debe contener el nombre de todos los autores y sus respectivos correos electrónicos, título del trabajo, descripción corta del trabajo detallando el impacto de los resultados obtenidos, conflictos de interés, el tipo de artículo (Revisiones, estado actual del problema, Artículos originales, Casos clínicos, Cartas al editor, Comunicaciones rápidas o noveles) y el área (Ciencias Básicas ó Clínicas).
- **Manuscrito:** compuesto por el cuerpo del trabajo en el siguiente orden: primera página con el título, autores con sus direcciones institucionales, e información del autor de correspondencia; segunda con el resumen; tercera página con el resumen en inglés; cuarta página con el cuerpo del trabajo; referencias; y la última página con las leyendas de las figuras debidamente identificadas. El trabajo puede ser publicado en idioma Inglés o Español. Debe incluir los datos del autor de correspondencia: dirección completa, número telefónico, número de fax, y correo electrónico. El Resumen y Abstract debe ser entre 250 palabras, incluyendo un máximo de 10 palabras clave.
- **Tablas:** las cuales se enumeran según orden de aparición en números arábigos, en formato sencillo (sin color). Cada una de las tablas debe tener un título breve, y si es necesario aclaratorias se deben hacer como notas al pie de página de la misma. Las unidades de medidas y estadísticas deben ser debidamente identificadas.
- **Figuras:** en formato TIFF de 200 – 300 dpi en resolución CMYK (para impresión). Cada figura ocupa una página del archivo, y la leyenda de ellas deben estar contenidas en el manuscrito.

Los documentos y las tablas deben ser enviados como archivo WORD 2003 compatible (.DOC). Las figuras deben ser enviadas como archivo POWERPOINT 2003 (.PPT). En caso de utilizar figuras, fotos o tablas de una fuente externa, debe ir acompañada de la respectiva carta de autorización de uso.

Tipos de publicación y distribución:

- **Artículo Original:** la primera página debe incluir: Título, en español y en inglés (máximo 20 palabras), Autores con sus afiliaciones, título corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (250 palabras máx.) y palabras clave (máx. 10), Abstract (250 palabras máx.) y keywords (máx. 10), Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias, y Leyenda de Figuras. Número máximo de palabras del manuscrito sin referencias: 5.000. En Metodología, debe incluir una cláusula de aprobación por el comité de ética correspondiente, cuando aplique. Máximo 5 figuras y/o fotos y 2 tablas.
- **Artículo de Revisión y "estado actual del problema":** la primera página debe incluir: Título, en español y en inglés (máximo 20 palabras), Autores con sus afiliaciones, título corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (250 palabras máx.) y palabras clave (máx. 10), Abstract (250 palabras máx.) y keywords (máx. 10), Manuscrito, Agradecimientos, Referencias, y Leyenda de Figuras. Número máximo de palabras del manuscrito sin referencias: 5.000. Máximo 5 figuras y/o fotos y 2 tablas.
- **Casos Clínicos:** la primera página debe incluir: Título, en español y en inglés (máximo 20 palabras), Autores con sus afiliaciones, título corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (250 palabras máx.) y palabras clave (máx. 10), Abstract (250 palabras máx.) y keywords (máx. 10), Introducción, Caso Clínico, Discusión, Reconocimiento, Referencias, Leyenda de Figuras. En Metodología, debe incluir una cláusula de aprobación por el comité de ética correspondiente. Número máximo de palabras del manuscrito sin referencias: 3.000. Máximo 2 figuras y/o fotos y 1 tabla Se aceptan fotos con edición de la cara del paciente (pixelado ó barra sobre los ojos).
- **Comunicaciones Rápidas:** la primera pagina debe incluir: Título en inglés y español (máx. 20 palabras), autores con sus afiliaciones, título

corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (150 palabras máx.) y palabras clave (máx. 5), Abstract (150 palabras máx.) y 5 keywords, Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias, y Leyenda de las Figuras. Los resultados y discusión pueden combinarse. Número máximo de palabras del cuerpo del manuscrito que incluye: Resumen o abstract, Introducción, Metodología, Resultados, Discusión y Agradecimientos, es de 2.500. En Metodología, debe incluir una cláusula de aprobación por el comité de ética correspondiente. Máximo 3 figuras y/o fotos y 1 tablas.

- **Cartas al editor** manuscrito de máximo 1.000 palabras y sus referencias.

Referencias:

Las referencias bibliográficas se citan de acuerdo a orden de aparición utilizando números Arábigos entre Paréntesis, por ejemplo: (1). A la hora de escribir la referencia se utiliza el formato Vancouver tomando en consideración que se deben incluir todos los autores, y el nombre de la revista debe ser abreviado acorde con el sistema adoptado por el Index Medicus, según los ejemplos anexos:

Revistas:

1. Petteersen FO, Torheim EA, Dahm AE, Aaberge IS, Lind A, Holm M. An exploratory trial of cyclooxygenase type 2 inhibitor in HIV-1 infection. *J Virol* 2011; 85:6557-66.

Libros:

2. Berrueta L, Goncalves L, Salmen S. Respuesta inmune frente a virus, 1era Ed. Mérida: CODEPRE-ULA, 2005.

Sitio web:

3. McCook A. Pre-diabetic condition linked to memory loss [internet]. 2010 [cited 2010 Apr 14]. Available from: <http://prevent.com/ns.htm>.

Declaración de los autores y transferencia de derechos

Los autores de un manuscrito aceptado para publicación en la revista deben descargar el formato Word de la **declaración de la autoría** y la **transferencia de derechos de autor**. Los autores del manuscrito deben firmar el documento confirmando la originalidad del mismo, la participación de cada uno de los autores firmantes, las condiciones éticas del trabajo, financiamiento, y que no ha sido publicado en otra revista. En el caso de la transferencia de derechos de autor, el autor de correspondencia, en nombre de todos los autores, firma el formulario de transferencia de derechos de autor Los documentos deben ser llenados, firmados y enviados por correo electrónico a la revista: avanbiomed.idic@ula.ve ó avanbiomed.idic@gmail.com.

Sistema de arbitraje

Todos los trabajos sometidos a la Revista son enviados a arbitraje, siempre y cuando cumpla con las normas editoriales mínimas, por lo que en una primera fase los manuscritos serán revisados por el comité editorial a fin de determinar si esta dentro del alcance de la revista y cumple con las normativas de la revista. Una vez aprobado por el comité editorial será enviado a revisores externos, con experticia en el área, quienes determinarán de manera anónima, si el manuscrito es: 1) aceptado sin correcciones, 2) aceptable con correcciones menores, 3) aceptable con correcciones mayores y amerita nueva evaluación por el revisor o 4) rechazado. El arbitraje para los Trabajos Originales, Revisiones, Reporte de Casos Clínicos y Comunicaciones Rápidas es realizado por al menos dos (2) expertos en el área. Los árbitros tienen un plazo de tiempo no mayor a 15 (quince) días hábiles para enviar su respuesta. Si las opiniones de dos de los árbitros coinciden, el Comité Editorial puede aceptar la respuesta de dos árbitros; en caso de discrepancia se pueden consultar árbitros adicionales. Las opiniones de los árbitros, así como la autoría de los trabajos, son estrictamente confidenciales. Los autores reciben las opiniones completas de los árbitros consultados. La Revista da un plazo no mayor a dos (2) meses a los autores, para responder punto por punto las opiniones de los árbitros y realizar las modificaciones sugeridas; estas últimas deben ser resaltadas en el texto a fin de facilitar la evaluación de los revisores. Si éstos toman más tiempo del estipulado el trabajo es rechazado o considerado como nuevo.

Instructions for authors

The Journal will only allow original articles to be published, which have to relate with any aspect of biomedical sciences. Every research that wishes to be published first has to be sent to the magazine using the following email: avanbiomed.idic@gmail.com; the work has to be distributed in four (4) different files, as follow:

- **Letter to the editor:** should provide authors name and email, manuscript title, short description of the article highlighting the obtained results, main points, kind of article (Review articles and state of the art, original articles, case reports, letters to the editor, Short communications, novel) and the area of research (Basics or Clinical Science)
- **Manuscript:** composed by the body work in the following order: first page with the title, authors with their institutional directions and information of correspondence of the author; second page with the abstract; third page with the abstract in Spanish, fourth page with the body work; references; and the last page with the figure legends properly identified. The article can be published in English as well as in Spanish. It must include the information of the corresponding author: complete address, phone number, fax number and email. The abstract and the Spanish abstract must have 250 words, including up to 10 keywords.
- **Tables:** which are numerated according to order of apparition in Arabic numbers, in simple layout (without color). Each one of the tables must have a proper, and if it's necessary, any commentaries must be added as a foot note of the same page. The measurement units and statistics have to be properly identified.
- **Figures:** in layout TIFF of 200 – 300 dpi on CMYK resolution (for printing). Each figure occupies one page of the file, and the legend of this must contained the manuscript.

The documents and the tables have to be sent as a file WORD 2003 compatible (.DOC). The figures must be sent as a file POWERPOINT 2003 (.PPT). In case of using figures, pictures or tables of a external source, must be accompanied by the authorization letter of use.

Types of publication and distribution:

- **Original article:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Introduction, Methodology, Results and Figure legends. Manuscript maximum number of words without references: 5.000. In Methodology, it must include an approbation clause for the committee of correspondent ethic when it applies. Figures or pictures: Up to 5. Table: 3.
- **Review articles and state of the art:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Manuscript, Summary, Acknowledgments, References and Figures legend. Manuscript maximum words without references: 5.000. Maximum of 5 figures and pictures and 2 tables.
- **Case reports:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Introduction; Clinic case, Discussion, Acknowledgment, References; Figure legends. The Methodology, most include the approbation clause from the correspondent ethic committee. The Manuscript maximum word numbers without references: 3.000. Maximum of 2 figures and pictures and 1 table. Pictures of the patient with face edition will be accepted (pixed or with black bars covering the eyes).
- **Short communications:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Introduction, Results, Discussion;

Methodology, Acknowledgement, References and Figure Legends. The Manuscript maximum word numbers without references: 2.500. The Methodology must include an approbation clause from the correspondent ethic committee. Up to 3 figures or pictures and one table.

- **Letters to the editor** Manuscript maximum words: 1.000; and references.

References:

The Bibliographic references will be cited in order of apparition using Arabic numbers between parenthesis, for example: (1). The writing style should be according to the Vancouver Format having in consideration that it must include every author. The journal name should be abbreviated according to the system adopted by Index Medicus. For example

Journals:

1. Pettersen FO, Torheim EA, Dahm AE, Aaberge IS, Lind A, Holm M. An exploratory trial of cyclooxygenase type 2 inhibitor in HIV-1 infection. *J Virol* 2011; 85:6557-66.

Books:

2. Berrueta L, Goncalves L, Salmen S. Respuesta inmune frente a virus, 1era Ed. Mérida: CODEPRE-ULA, 2005.

Web site:

3. McCook A. Pre-diabetic condition linked to memory loss [internet]. 2010 [cited 2010 Apr 14]. Available from: <http://prevnt.com/ns.htm>.

Author's declaration and Copyright transfer

The authors of a accepted manuscript for publication in this journal must access to the following links **Author's declaration** and **copyright transfer** to download the Word format. All authors must sign the author's declaration to confirm its originality, their participation in the elaboration process, the ethic conditions of the work, financing, and that it hasn't been published elsewhere. The copyright transfer must be signed for the correspondent author. The documents must be filled, signed and sent to the journal via email: avanbiomed.idic@ula.ve or avanbiomed.idic@gmail.com.

Arbitrage system

Every article that wishes to be published in the journal must be sent by the arbitrage and has to have the minimum editorial requirement, so that in a first phase, the manuscripts will be reviewed by the editorial committee to establish if is within the scope and fulfills with the standards of the journal. Once approved by the editorial board, the manuscript will be sent to external reviewers with expertise in the area, who anonymously determine if the manuscript is: 1) accepted without corrections, 2) acceptable with minor corrections, 3) acceptable with major corrections and warrants further evaluation by the reviewer or 4) rejected. Arbitration to the original papers, reviews, reports of clinical cases and rapid communication is performed by at least two (2) experts in the area. The arbitrage for the Original Article, Revisions for the clinical cases and fast communications will be done by at least 2 experts in the area. The arbiters will have a period of time of 15 working days to send their response. If the opinions of two of them matches, the Committee Editorial may accept the response of two arbitrators, in case of discrepancy, it may need to consult additional referees. The opinions of the referees and authorship of the work are strictly confidential. The authors will receive full views of the referees consulted. The journal will provide two (2) months for the authors to reply to the referees acknowledgement and make the suggested changes, that must be highlighted on the text in order to facilitate the assessment of the reviewers. If they take longer than stated, the work will be rejected or considered new.

Avances en Biomedicina se asegurará de que los editores, revisores y autores sigan rigurosamente las normas éticas internacionales durante el proceso de arbitraje y publicación.

Avances en Biomedicina sigue el Código de normas de conductas éticas: [Code of Conduct | Committee on Publication Ethics: COPE](#) publicado por el Comité de Ética para las Publicaciones científicas.

Todos los trabajos que no estén acordes con estas normas, y si se revela mala praxis en cualquier momento, incluso después de la publicación, serán eliminados de la revista. Los manuscritos sometidos a Avances en Biomedicina serán sometidos a un proceso de revisión por pares doble ciego y de verificación por plagio, fabricación de resultados, falsificación (manipulación de los datos existentes de investigación, tablas o imágenes) y la utilización indebida de personas o animales en la investigación. Avances en Biomedicina se reserva el derecho a utilizar en cualquier fase del proceso de publicación software de detección de plagio para evaluar los documentos sometidos y publicados.

De conformidad con estas normas:

Los editores deben: 1) Utilizar métodos de revisión por pares que mejor se adapte a la revista y la comunidad de investigación. 2) Asegurarse de que todos los manuscritos publicados han sido revisados por evaluadores calificados. 3) Alentar la originalidad de las propuestas y estar atentos a la publicación redundante y plagios. 4) Asegúrese de seleccionar revisores apropiados. 5) Alentar a los revisores que comentan sobre las cuestiones éticas y la posible mala conducta de investigación planteado por las presentaciones. 6) Publicar instrucciones a los autores claras. 7) Fomentar un comportamiento responsable y desalentar la mala praxis.

Los autores deben: 1) Plantearse trabajos conducidos de una manera ética y responsable, y debe cumplir con todas las normativas

vigentes. 2) Presentar sus resultados de forma clara, honesta y sin falsificación o manipulación. 3) Describir los métodos de manera clara para que sus resultados pueden ser reproducidos por otros investigadores. 4) Cumplir con el requisito de que el trabajo presentado es original, no es plagiado, y no ha sido publicado en otra revista. 5) Asumir la responsabilidad colectiva de los trabajos presentados y publicados. 6) Divulgar las fuentes de financiación y los conflictos de interés pertinentes cuando existe.

Los revisores deben: 1) Informar a los editores de la posible mentira, la falsificación, la mala praxis o la manipulación inapropiada de los resultados. 2) Argumentar con precisión las razones por las cuales se rechazó un manuscrito. 3) Cumplir con los tiempos acordados para la entrega de las revisiones. 4) Llevar a cabo revisiones objetiva, evitando críticas personales al autor. 5) Identificar y proponer las publicaciones clave de la investigación no citados por los autores.

Publication Ethics & Malpractice Statement

Avances in Biomedicine will ensure that editors, reviewers and authors strictly follow international ethical standards during the peer-reviewed and publication process.

Avances in Biomedicine follows the code of ethical conduct rules: [Code of Conduct | Committee on Publication Ethics: COPE](#): published by the Ethics Committee for Scientific Publications.

All work not in accordance with these rules, and if malpractice is revealed at any time, even after the publication will be removed from the journal. Manuscripts submitted to Advances in Biomedicine will undergo a double-blind peer review process, check for plagiarism, fabrication of results, falsification (manipulating existing research data, tables or pictures) and misuse of people or animals in research. Advances in Biomedicine reserves the right to use at any stage of the publishing process software to detect plagiarism.

In accordance with these rules:

Editors must: 1) Using peer review methods best suited to the journal and the research community. 2) Ensure that all manuscripts are revised by qualified and appropriate reviewers. 3) Encourage the originality of the proposals and be aware of plagiarism and redundant publication. 4) Encourage reviewers to comment on the ethical issues and possible research misconduct raised by the presentations. 5) Publish clear instructions for authors. 7) Encourage responsible behavior and discourage malpractice.

Authors must: 1) Conducted work with ethical and responsibility, and shall comply with all regulations. 2) Present results clearly, honestly and without falsification or manipulation. 3) Describe the methods clearly so that their results can be reproduced by other researchers.

4) Meet the requirement that the work submitted is original, not plagiarized, and has not been published in another journal. 5) Assume collective responsibility of the papers presented and published. 6) Disclose the sources of funding and conflicts of interest relevant when there.

Reviewers must: 1) Inform the editors of the possible fabrication, falsification, malpractice or improper handling of the results. 2) Arguing precisely why a manuscript was rejected. 3) Comply with the agreed time for delivery of reviews. 4) Undertake reviews objective, avoiding personal criticism to the author. 5) Identify and propose key research publications not cited by the authors.



Tabla de contenido

EDITORIAL

- 1 **¿Vivimos en situación de desastre?**
Elia Figeira Petit

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 2-7 **Doppler obstétrico posterior al uso de Betametasona para la maduración pulmonar fetal**
Obstetric doppler after use of Betamethasone for fetal lung maturation
Keibis Jiménez-Castillejo, Yolima Ruiz-Lopez, Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Jhoan Aragón-Charris, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil
- 8-15 **Utilidad de la biopsia transbronquial en el diagnóstico de enfermedades pulmonares en pacientes VIH/SIDA**
Utility transbronchial biopsy in the diagnosis of pulmonary disease in patients HIV/AIDS
Carmen Elena Fuenmayor, Maryori García, Ivy Contreras, Jhoana Santeliz, Melisse Milano, Anna García, Antonio Faieta, Rafael Pérez
- 16-24 **Correlación entre niveles de ferritina sérica y unidades de transfusión recibidas por pacientes con anemias hereditarias hemolíticas en el estado de Zulia, Venezuela**
Correlations between ferritin levels and transfusion units received by patients with hereditary hemolytic anemia in the state of Zulia, Venezuela
Ana Gregoria Ruiz Medina, Olga Briceño, Melvis Arteaga-Vizcaíno, María Eugenia Vizcaíno, Zaida Plumacher, Jesús Quintero, Maczy González, Maribel Quintero1, José Urdaneta

REVISIONES Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

- 25-33 **PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización**
PCR and PCR-Multiplex: critical parameters and standardization protocol
Ana Maria Bolivar, Agustina Rojas, Pablo Garcia-Lugo

CASOS CLÍNICOS

- 34-37 **Bocio multinodular gigante deformante. Presentación de un caso sin síntomas obstructivos.**
Giant multinodular goiter. A case report with no obstructive symptoms
Paul Bogucki, César Labastida-Moreno, Anny Sánchez, José Tapia-González, Nelson Miliani
- 38-41 **Endometriosis Vulvar. Reporte de Caso**
Vulvar Endometriosis. Case Report
Duly Torres-Cepeda, Eduardo Reyna-Villasmil, Joel Santos-Bolívar



- 42-45 **Comportamiento inusual de Sarcoma de alto grado de malignidad en abdomen. Reporte de un caso.**
Unusual behavior of high-grade sarcoma malignancy in abdomen. A case report
Maryem Seco-Meza, María Araque-Marquina, Cesar Tapia-Martínez, Luis Tabares-Contreras, María Serrano-Camacho, Pedro Fargier-Becerra, Alejandro Sabino-Fernández, Henry Parra, Estrella Uzcátegui
- 46 **INSTRUCCIONES A LOS AUTORES**
- 47 **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**
- 48-49 **ÉTICA DE LAS PUBLICACIONES & DECLARACIÓN DE MALA PRAXIS/ PUBLICATION ETHICS & MALPRACTICE STATEMENT**