

José María Segovia de Arana "in memoriam"

Generación y caracterización de un modelo lesional corneal ex vivo para su uso en ingeniería tisular

Evaluación de la viabilidad celular en constructos tisulares. Estudio preliminar

La estabilidad emocional y su relación con el daño psíquico en mujeres españolas víctimas de violencia de género

Validación del sistema automatizado Bact/Alert en el control microbiológico de productos celulares de Terapias Avanzadas

Estudio del tratamiento quirúrgico mediante cierre precoz de ileostomía en cáncer de recto: impacto en la calidad de vida, descenso de morbilidad y gasto sanitario

Hábitos de exposición solar, prácticas de fotoprotección, conocimientos y actitudes de los adolescentes andaluces

Lipoinfiltración en paciente con Síndrome de Parry-Romberg

Localización atípica del glomangioma: seno etmoidal

Mujer de 70 años con Lupus Eritematoso sistémico y fiebre de seis semanas de evolución

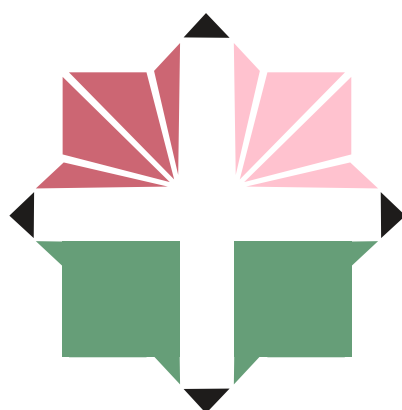
Cartas al editor

Aulas de oncología

Pensamiento médico

HÁBITOS DE EXPOSICIÓN SOLAR, PRÁCTICAS DE FOTOPROTECCIÓN, CONOCIMIENTOS Y ACTITUDES DE LOS ADOLESCENTES ANDALUCES

Con el patrocinio de:



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

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

Comité editorial

Editor

Salvador Arias Santiago
Complejo Hospitalario de Granada. España

Editores adjuntos

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

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

Juan Jiménez Jaimez
Complejo Hospitalario de Granada. España

Miguel Ángel Martín Piedra
Facultad de Medicina de Granada

Comité científico y asesor

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

Jorge Alvar Ezquerro
OMS
Ginebra, Suiza

Juan Rodés Teixidor
Hospital Clinic
Barcelona, España

Pasquale Quattrone
Istituto Nazionale dei Tumori
Milán, Italia

Comité de redacción

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

Publicación cuatrimestral
(3 números al año)

© 2016. Actualidad Médica

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

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

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

Comité rector

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

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

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

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

Antonio Rendas
Universidade Nova de Lisboa
Portugal

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

Duarte Nuno Vieira
Universidade de Coimbra,
Coimbra, Portugal

Alice Warley
King's College
Londres, Reino Unido

Robert Brown
University College
Londres, Reino Unido

Sebastián San Martín
Universidad de Valparaíso
Valparaíso, Chile

Antonio Alcaraz Asensio
Hospital Clinic
Barcelona, España

Diseño y maquetación

ARP Producciones

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

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

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

Impreso en España.

Depósito Legal: GR-14-1958

ISSN: 0365-7965

DOI: 10.15568/am

Imprenta

Gráficas Alhambra

Revista editada por:



Real Academia de Medicina y Cirugía
de Andalucía Oriental
Granada



Facultad de Medicina.
Universidad de Granada



Asociación de Antiguos Alumnos
de Medicina de Granada

Con el patrocinio de:



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

**ACTUALIDAD
MÉDICA**

www.actualidadmedica.es

© 2015. Actual. Med. Todos los derechos reservados

Actualidad Médica incluida en Latindex, IME y Google Scholar

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

Actualidad Médica

EDITORIAL

- 5** José María Segovia de Arana "in memoriam"
José María Segovia de Arana "in memoriam"
Antonio Campos Muñoz

ORIGINAL

- 7** Generación y caracterización de un modelo lesional corneal ex vivo para su uso en ingeniería tisular
Generation and characterization of an in vivo model of corneal lesion for use in tissue engineering
González-Andrades, E. et al
- 13** Evaluación de la viabilidad celular en constructos tisulares. Estudio preliminar
Cell viability evaluation in tissue constructs. A preliminary study
Fernando Campos et al
- 18** La estabilidad emocional y su relación con el daño psíquico en mujeres españolas víctimas de violencia de género
Emotional stability and its relationship with the psychic damage among spanish victims of gender violence
Antonio Molina-Rodríguez et al
- 24** Validación del sistema automatizado Bact/Alert en el control microbiológico de productos celulares de Terapias Avanzadas
Validation of Bact/Alert automatic system in the microbiological control of cell medicinal products of Advanced Therapies
Antonio Ruiz-García et al
- 30** Estudio del tratamiento quirúrgico mediante cierre precoz de ileostomía en cáncer de recto: impacto en la calidad de vida, descenso de morbilidad y gasto sanitario
Study surgical treatment of early closing of ileostomy in rectal cancer: impact on the quality of life, morbidity and mortality and health spending
Tania Gallart Aragón, et al

REVISIÓN

- 33** Hábitos de exposición solar, prácticas de fotoprotección, conocimientos y actitudes de los adolescentes andaluces
Sun exposure habits, sun protection practices, knowledge and attitudes of andalusian teenagers
Teresa Fernández-Morano et al

CASO CLÍNICO

- 38** Lipoinfiltración en paciente con Síndrome de Parry-Romberg
Lipoinfiltration in a patient with Parry Romberg syndrome
Romero-Álvarez, Fatima
- 41** Mujer de 70 años con Lupus Eritematoso sistémico y fiebre de seis semanas de evolución
A 70-year-old woman with systemic lupus erythematosus and a sixweek history of fever
Isabel Sánchez-Berná et al

CARTAS AL EDITOR

- 44** Drenaje percutáneo de linfocele y esclerosis con povidona yodada
Percutaneous drainage of lymphocele and sclerosis with povidone iodine
María del Carmen Cano-García
- 46** Localización atípica del glomanpericitoma: seno etmoidal
Atypical location of glomanpericitoma: ethmoid sinus
Javier Gómez-Hervás et al
- 48** Mujer de 60 años con edema labial y lengua fisurada
60 year old woman with lip edema and fissured tongue
Sánchez Berná et al

AULAS EN ONCOLOGÍA

- 49** Melanoma
Melanoma
Salvador Arias Santiago et al

PENSAMIENTO MÉDICO

- 50** La autonomía sanitaria: análisis sobre la construcción de un valor
Health autonomy: analysis on the construction of a value
Antonio Leopoldo Santisteban Espejo

José María Segovia de Arana “in memoriam”

José María Segovia de Arana “in memoriam”

Antonio Campos Muñoz

Presidente del Consejo Rector de Actualidad Médica

La formación de los médicos, el modelo de investigación biosanitaria y la organización de la práctica asistencial constituyen tres factores esenciales en el proceso de implementación de los avances médicos en una sociedad. En la España de la segunda mitad del siglo XX una figura destaca sobremanera en el impulso y desarrollo de estos tres factores. Se trata del Profesor D. José María Segovia de Arana que el pasado 4 de enero ha fallecido en Madrid a la edad de 96 años.

El Profesor Segovia de Arana nació en Toledo el 16 de septiembre de 1919. Tras realizar la licenciatura y el doctorado en la Universidad Central de Madrid, formarse en la clínica de la Concepción y ampliar estudios en Estados Unidos, alcanza la cátedra de patología y clínica médica en la Universidad de Santiago de Compostela en 1962. En Madrid es, posteriormente, el primer decano de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma entre 1967 y 1979 a la vez que funda y dirige la Clínica Puerta de Hierro, recién comprada a los dominicos, para convertirla en el primer centro de la seguridad social en el que se realiza simultáneamente asistencia, docencia e investigación. A partir de 1979 asume altas responsabilidades en la sanidad nacional e internacional siendo en España Secretario de Estado, director del Fondo de investigaciones sanitarias (FIS), presidente del Consejo Nacional de Especialidades Médicas y presidente del Consejo Asesor de Sanidad y, a nivel internacional, miembro del Consejo Ejecutivo y del Comité Consultivo Mundial de investigaciones médicas de la Organización Mundial de la Salud. En 1998 ingresa en la Real Academia Nacional de Medicina y en la Real Academia de Ciencias Morales y Políticas.

Si hubiera que sintetizar, en breves palabras, la labor del Profesor Segovia de Arana habría simplemente que decir que ha sido uno de los grandes arquitectos y constructores del Sistema Nacional de Salud que hoy disfrutamos en España.

Tres han sido básicamente sus aportaciones fundamentales, precisamente en los tres factores que, como señalábamos al principio de este editorial, mas inciden en el desarrollo de una medicina avanzada y de su traslación a la sociedad: la formación MIR, la creación del Fondo de investigación sanitaria (FIS) y el impulso asistencial a la medicina familiar y comunitaria y los trasplantes. Sin la concurrencia de estos tres ingredientes no existiría en España el Sistema Nacional de Salud que hoy conocemos.

En relación con el MIR, tras las experiencias iniciales en la Clínica Puerta de Hierro inspiradas por el Prof. Segovia, los hos-

pitales más importantes de España implicados en la formación de especialistas constituyeron voluntariamente en 1968 el denominado “Seminario de hospitales con programas de postgraduados” que fue progresivamente consensuando los programas de formación y acreditando a los hospitales afiliados. A partir de 1971 la administración comienza a estructurar legalmente el sistema hasta que en 1978 se publica el Real Decreto 2015 por el que se regula la obtención de títulos de las especialidades médicas y en 1984 un nuevo Real Decreto que establece el sistema MIR como la única vía de especialización médica. El sistema MIR ha logrado una alta capacitación de los profesionales sanitarios españoles y generado como consecuencia de ello una mayor calidad asistencial en la atención sanitaria en España.

En la clínica Puerta de Hierro, y de la mano del Prof. Segovia, comienza asimismo la incorporación de la investigación a los hospitales de la Seguridad Social, que ya entonces comenzaban a ser los más dotados del sistema sanitario español. El FIS, el fondo de investigación sanitaria, se crea en 1980, siendo Segovia Secretario de Estado, como continuación del fondo del descuento complementario, creado en 1968 por el Instituto Nacional de Previsión en colaboración con la industria farmacéutica, para apoyar el desarrollo científico hospitalario. El FIS ha sido desde entonces el organismo que ha sustentado la investigación biosanitaria en España articulando la investigación básica y clínica en los hospitales y estimulando la colaboración de estos con las universidades.

Convencido del importante papel que debe desempeñar la atención primaria en un sistema de salud equilibrado su posición como presidente del Consejo Nacional de Especialidades Médicas va a facilitar la creación de la especialidad de Medicina Familiar y Comunitaria en 1978 inspirada en los modelos europeos y especialmente en el norteamericano, pero adaptada a las características del sistema español de salud. Aunque la especialidad no conto al principio con muchos adeptos su posterior desarrollo y vinculación a los centros de salud en el organigrama sanitario español así como la potenciación de estos últimos han convertido a esta especialidad en uno de los ejes asistenciales de la medicina en España. En 1979 siendo Secretario de Estado consigue aprobar una innovadora y modélica ley de extracción de órganos y trasplantes que hizo posible posteriormente la creación de la Organización Nacional de Trasplantes.

En el año 2011, cuando con motivo del centenario de *Actualidad Médica* se impulsó una reforma y actualización de la revista, se invitó al Profesor Segovia de Arana a formar parte de

su Comité Científico y Asesor. Tras explicarle que el fin primordial de la Revista, en su nueva etapa, era canalizar los primeros trabajos de los médicos jóvenes en formación y ofrecer revisiones de síntesis muy rigurosas al servicio de los profesionales de la medicina a partir de la experiencia de los más veteranos, su aceptación fue inmediata. **Actualidad Médica** ha tenido el gran honor de contar en su Comité Científico y Asesor, desde entonces y hasta este número, con uno de los artífices de la moderna medicina española; una medicina y un sistema de salud que, como él mismo solía relatar, es objeto de admiración allende nuestras fronteras por sistemas sanitarios de países a los que desde España se suele mirar, a mi juicio erróneamente, con cierto complejo de inferioridad desde la baja autoestima nacional que habitual e incomprensiblemente posee nuestro País.

Cuando alguien le atribuía al Prof. Segovia los meritos que más arriba hemos indicado solía comentar que el trascendente cambio de médico liberal independiente a médico colaborador integrado en un equipo tanto en la formación MIR, como en la investigación o en la atención primaria, no fue un cambio impuesto de arriba abajo por ninguna consigna administrativa o política sino un cambio que nació de abajo arriba por la fuerza y la exigencia de la medicina científica. Seguramente eso es cierto pero también lo es que sin personas capaces de ver anticipadamente los cambios, de impulsarlos y de adaptarlos a las realidades sociales de un País, esos cambios no existen o se retrasan sine die hasta que llegan tarde, mal o nunca. Por eso la obra renovadora e innovadora de Segovia de Arana figura ya, y con mayúscula, entre las mejores páginas de la historia de la medicina de España.

Generación y caracterización de un modelo lesional corneal ex vivo para su uso en ingeniería tisular

Generation and characterization of an in vivo model of corneal lesion for use in tissue engineering

González- Andrades, E¹; Ionescu, AM²; Cardona, JC²; Ghinea, R²; Garzón, I¹; Carriel, V¹; González- Andrades, M¹.

¹ Grupo de Ingeniería Tisular, Departamento de Histología, Universidad de Granada. Instituto de Investigación Biosanitaria IBS.

² Departamento de Óptica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada.

Resumen

Objetivos: En el presente estudio se pretende generar y caracterizar un modelo lesional corneal *ex vivo*, con el fin de poder evaluar la viabilidad de los tejidos artificiales creados mediante Ingeniería Tisular a través de la aplicación de una causticación controlada con NaOH sobre córneas de cerdo.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio descriptivo tomando 18 ojos de cerdos adultos, inmediatamente después de morir. Los globos oculares se introdujeron en NaOH 1,5 M durante 1, 2, 3 y 5 minutos. Tras lo cual se lavaron con agua corriente (5 minutos) y se realizó un lavado rápido con PBS, seguido de un lavado de 2 minutos en PBS. Se incluyeron dos grupos control: uno de córneas no tratadas, y otro de córneas a las que se les realizó lavados de agua corriente y PBS. Las muestras fueron procesadas para el análisis histológico mediante microscopía óptica con las tinciones de hematoxilina eosina, picrosirius y azul alcian. Se determinó la significación de los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico ANOVA.

Resultados: Se observó una pérdida del endotelio y del epitelio corneal en todos los grupos tratados con NaOH. Asimismo se objetivó una tendencia a la compactación de las fibras colágenas tras el tratamiento con NaOH en la tinción de picrosirius y la pérdida de fibras de coloración verde en las muestras tratadas con NaOH con respecto a los controles. Pese a observarse una menor intensidad en la tinción de azul alcian en la región posterior con respecto a las otras dos y entre las distintas muestras tratadas con NaOH, no se encontraron diferencias significativas en este aspecto.

Conclusiones: se ha logrado crear un modelo lesional sencillo, de bajo coste y que no implica problemas éticos, que permitiría evaluar los tejidos artificiales creados mediante Ingeniería Tisular.

Abstract

Purpose: This study aims to generate and characterize an *ex vivo* corneal injury model, in order to assess the feasibility of artificial tissues created by using tissue engineering through the application of a corneal alkali burn with NaOH on porcine corneas.

Methods: We conducted a descriptive study taking 18 eyes of adult pigs immediately after their death. Eyes were introduced on 1.5M NaOH for 1, 2, 3 and 5 minutes. After, they were washed with running water (5 min) and rapid washing with PBS, followed by a 2 minute wash in PBS was performed. Two control groups were included: untreated corneas and another corneas were performed running water washes and PBS washes. Samples were processed for histological analysis by light microscopy with hematoxylin and eosin, alcian blue and picrosirius staining. The significance of the results was determined by ANOVA statistical analysis.

Results: We observed a loss of endothelium and the corneal epithelium in all groups treated with NaOH. A tendency to compaction of collagen fibers after treatment with NaOH and picrosirius stain loss of green coloration fibers in samples treated with NaOH with respect to controls was also observed. Despite lower intensity observed in alcian blue staining in the posterior region compared to the other two and between samples treated with NaOH, no significant differences were found in this area.

Conclusions: it has created a single lesion model, low cost and does not involve ethical issues, to assess the tissue created by Tissue Engineering.

Palabras clave: Ingeniería tisular; córnea artificial; causticación, modelo lesional, modelo *ex vivo*.

Keywords: Tissue engineering; artificial cornea; caustic burn, injury model, *ex vivo* model.

INTRODUCCIÓN:

Las enfermedades que afectan a la córnea son una de las principales causas de ceguera en el mundo, situándose entre las tres más prevalentes a nivel mundial (1). Actualmente los únicos tratamientos disponibles son la queratoplastia o trasplante de córnea mediante un injerto de donante, y la queratoprótesis (2). El acceso a ambos tratamientos en los países donde más se precisan es muy limitado por la falta de donantes y medios sanitarios (3). Además, en relación con el trasplante de córnea, existe una baja supervivencia del injerto. Esto se debe a la alta probabilidad de rechazo inmunológico asociada a la neovascularización e insuficiencia limbar que presentan la mayoría de los pacientes con ceguera corneal (4).

En relación a este contexto, la Ingeniería Tisular emerge con el objetivo de dar respuesta a la ausencia de una terapia eficaz para estos pacientes mediante la creación de tejidos artificiales que reemplacen la córnea dañada del paciente. Existen múltiples propuestas de sustitutos para la córnea, realizadas a partir de diversos biomateriales como la fibrina (5), la fibrina agarosa (6), el colágeno (7), la seda (8), o las córneas descelularizadas (9). Los sustitutos corneales han de biointegrarse con la zona dañada de la córnea nativa del paciente para conseguir una unión perfecta con el tejido receptor. Dicha región, se caracteriza generalmente por una reacción de fibrosis donde los queratocitos cambian su fenotipo para convertirse en fibroblastos corneales o en miofibroblastos (10). De este modo, se hace necesario realizar una evaluación óptima en la fase preclínica de la integración de las córneas artificiales en un órgano previamente dañado.

La evaluación de un sustituto corneal sobre una córnea previamente dañada se puede realizar usando modelos lesionales previamente caracterizados. Idealmente, dichos modelos han de mimetizar las condiciones patológicas que se encuentran en las córneas de los pacientes que precisan estos tratamientos, como son: la desestructuración del estroma corneal asociando una reacción de fibrosis, así como una pérdida de transparencia. Hasta la fecha, sólo se han descrito modelos lesionales corneales in vivo basados la mayoría en quemaduras alcalinas infligidas sobre animales de experimentación (11,12).

Ante los inconvenientes tanto éticos como materiales que subyacen al uso de modelos in vivo, es preciso encontrar nuevos modelos lesionales corneales que puedan emplearse en el laboratorio sin la necesidad de usar animales de experimentación. El objetivo de nuestro estudio es generar y caracterizar un modelo lesional corneal ex vivo para la evaluación de tejidos artificiales creados por Ingeniería Tisular mediante la aplicación de una quemadura caústica sobre córneas porcinas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Obtención de córneas y proceso de causticación:

Se obtuvieron 18 ojos de cerdos adultos de un matadero local, inmediatamente después de su muerte. Tras ello, se realizó un proceso de causticación con NaOH 1,5 M a tiempos crecientes (1, 2, 3 y 5 minutos) sobre los globos oculares completos (n=3). A continuación, se realizó un lavado con agua corriente continua durante 5 minutos, seguido de una inmersión rápida en PBS, para continuar con un nuevo lavado en PBS de 2 minutos. Posteriormente, se trepanaron los 8mm centrales corneales usando un punch de 8mm (Integra® Miltex®) para su evaluación histológica. Se incluyeron dos grupos control para su comparación con los anteriores (n=3): córneas no tratadas, trepanadas directamente tras la extracción del globo ocular y córneas sólo tratadas con los lavados de agua corriente y PBS sin inmersión en NaOH.

Evaluación histológica:

Las muestras fueron fijadas en formaldehído al 4%, se deshidrataron en una serie de etanol, tras lo cual se incluyeron en parafina. Las secciones transversales fueron cortadas, a 5 micras de espesor, se tiñeron con tinciones de: Hematoxilina y Eosina (HE), Picrosirius y Azul Alcian. En primer lugar, la parafina fue retirada de los cortes de tejido empleando xileno. Posteriormente la muestra se rehidrató con agua a

través de una serie decreciente de alcoholes (100%, 96%, 70%, 50%, y agua). Tras este proceso se realizaron las diferentes tinciones.

Para evaluar el patrón de tejido con el fin de reconocer los núcleos de las células, el material citoplásmico, la membrana celular y algunas estructuras extracelulares, se realizó una tinción con HE. Para evaluar la presencia de fibras de colágeno, el componente mayoritario del estroma corneal, se realizó tinción Picrosirius Red usando solución Sirius F3B roja durante 30 minutos, que se contrastó con hematoxilina de Harris durante 5 minutos, usando para su visualización microscopía de luz polarizada. Para determinar el contenido de proteoglicanos, componente fundamental para la organización característica de las fibras de colágeno en el estroma corneal, las muestras se incubaron en solución de azul Alcian durante 30 minutos y se contrastaron con solución de rojo nuclear rápido durante 1 minuto.

Las imágenes histológicas se tomaron con un microscopio óptico empleando las mismas condiciones para todos los grupos (tiempo de exposición, balance de blancos, fondo, etc.) a diferentes aumentos (4x, 10x y 20x). Posteriormente, para cuantificar los daños producidos en el tejido corneal, las muestras se analizaron cuantitativamente utilizando el software de análisis de imagen ImageJ. Se analizaron de forma independiente tres regiones diferentes del estroma corneal de cada muestra, correspondiente a la región anterior, la región media y la región posterior de cada córnea, tomando para ello una selección rectangular del mismo área para las tres regiones analizadas.

Para cuantificar la intensidad de la tinción específica de cada componente de la matriz extracelular (ECM), tanto de las muestras como de los controles, se usó el software de análisis de imagen ImageJ. Con cada una de las regiones seleccionadas (anterior, media y posterior) de las imágenes captadas con el aumento de 10x, se llevó a cabo el mismo procedimiento: se seleccionó el color de interés que deseábamos analizar (para seleccionar el azul alcian y el rojo picrosirius se usó la función Color Function- Color deconvolution, y para seleccionar el verde se usó la función Color Split Channel), se pasó la imagen a 8 bits y después se invirtieron los colores de la imagen mediante el comando Invert. Tras esto, se seleccionó el área rectangular y se cuantificó la intensidad media de los pixels de la imagen mediante el uso de la función Analyze/Measure del software ImageJ.

Para evaluar el grado de compactación estromal, se tomó en cuenta el grado de separación de las fibras colágenas en la tinción de Picrosirius. Todo ello se calculó mediante el programa ImageJ, tras seleccionar las regiones anterior, media y posterior. Para ello, se seleccionó el canal rojo y se convirtió la imagen a binario, se invirtieron los canales y se analizó posteriormente mediante un histograma la cantidad de pixels de intensidad 0 (color máximo negro, correspondiente al colágeno) y de intensidad 255 (color máximo blanco, correspondiente al espacio vacío entre fibras). El grado de separación de las fibras colágenas se calculó dividiendo el número de pixels blancos entre los pixels negros.

Análisis estadístico:

El análisis estadístico se realizó usando ANOVA con normalización de Bonferroni para el análisis de las diferencias entre los diferentes grupos para cada región corneal evaluada. Para la comparación entre los dos grupos controles utilizados en el estudio, se realizó la prueba T-Test. Para la evaluación entre las regiones dentro de cada grupo, se usó T-Test con corrección de Bonferroni. Para el análisis estadísticos ANOVA, se usó el software estadístico Stata/SE 12.0. Para el resto de análisis, se empleó el software Excel 2010. $p < 0.05$ se consideró como significativo en todos los tests realizados.

RESULTADOS:

Evaluación histológica

La tinción con HE (Figura 1) mostró la ausencia de epitelio y endotelio corneal en los cuatro grupos tratados con NaOH. No se observaron alteraciones evidentes, tanto a nivel estromal entre las muestras tratadas con NaOH y los controles, siendo el componente celular como extracelular similares entre los grupos.

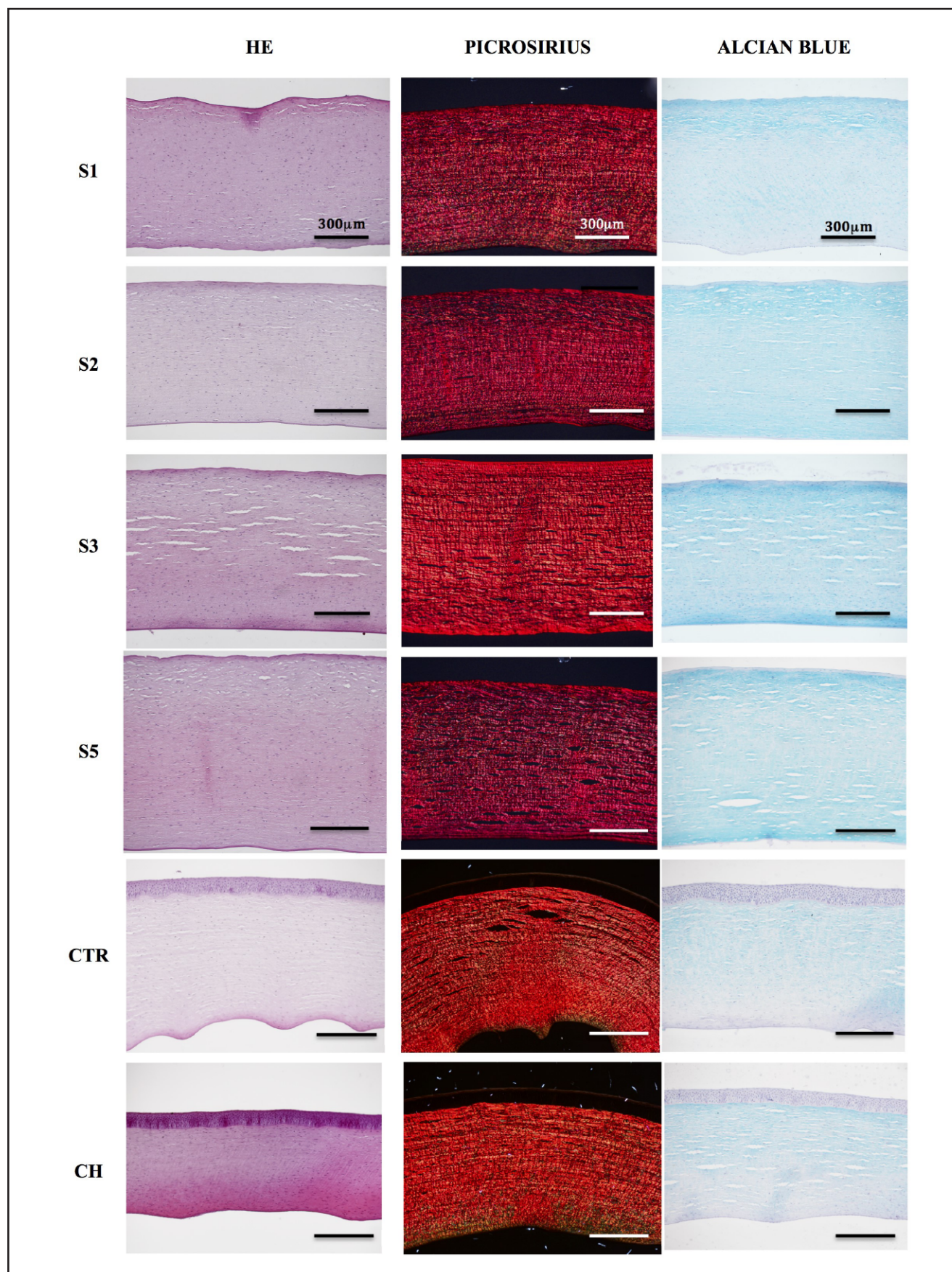


Figura 1. Análisis histológico con hematoxilina y eosina (HE), picrosirius y azul alcian. Primera fila: córneas en NaOH 1 minuto; segunda fila: córneas en NaOH 2 minutos; tercera fila: córneas en NaOH 3 minutos; cuarta fila: córneas en NaOH 5 minutos; quinta fila: control de córnea; sexta fila: control hidratado de córnea. Escala: 300 micras.

La evaluación mediante tinción de Picrosirius (Figura 1) reveló la existencia de un patrón de separación de las fibras colágenas con una tendencia a la compactación de las fibras tras el tratamiento con NaOH (Figura 2). Se observó una mayor separación de fibras en los controles hidratados respecto al resto de grupos, siendo estadísticamente significativo en los grupos de las regiones medias y posteriores.

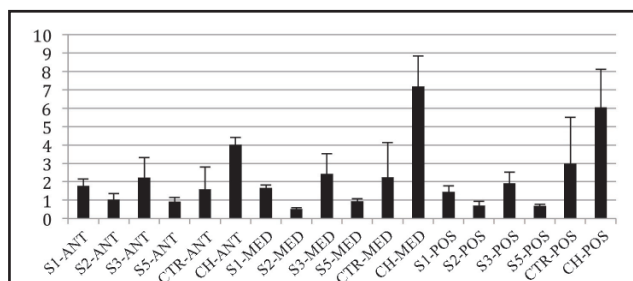


Figura 2. Grado de separación de fibras colágenas de la córnea observado en la tinción de picrosirius. S1: córneas en NaOH 1 minuto; S2: córneas en NaOH 2 minutos; S3: córneas en NaOH 3 minutos; S5: córneas en NaOH 5 minutos; CTR: control de córnea; CH: control hidratado de córnea. ANT: área anterior; MED: área intermedia; POS: área posterior.

En relación con las diferencias de intensidad de rojo, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los distintos grupos evaluados, no existiendo tampoco diferencias regionales dentro de los mismos ($p>0.05$). Sin embargo, la evaluación de la intensidad de verde en la tinción de Picrosirius, reveló diferencias estadísticamente significativas entre el control hidratado y las muestras tratadas con NaOH durante 1, 2 y 5 minutos tanto para la región anterior como para la posterior ($p<0.05$) (Figura 3). En la región intermedia, sólo los tiempos de 1 y 2 minutos fueron diferentes al control hidratado significativamente ($p<0.05$). No hubo diferencias significativas entre los controles no hidratados e hidratados, ni tampoco entre el resto de grupos ($p>0.05$). Sin embargo, se observó una tendencia a la pérdida de verdes de las muestras tratadas con NaOH respecto de los controles. En relación con las muestras tratadas con NaOH, se apreció una tendencia irregular en los cambios de intensidad del verde, presentando una disminución a los 2 minutos respecto al tiempo de 1 minuto, para ascender nuevamente a los 3 minutos y volver a caer a los 5 minutos (Figura 3).

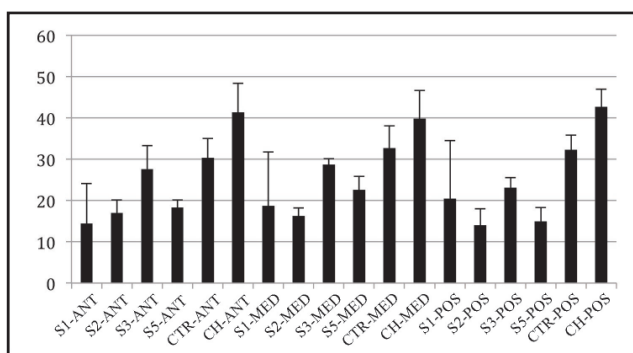


Figura 3. Intensidad de las fibras verdes observadas en la tinción de picrosirius tras el tratamiento con NaOH. S1: córneas en NaOH 1 minuto; S2: córneas en NaOH 2 minutos; S3: córneas en NaOH 3 minutos; S5: córneas en NaOH 5 minutos; CTR: control de córnea; CH: control hidratado de córnea. ANT: área anterior; MED: área intermedia; POS: área posterior.

La evaluación de proteoglicanos mediante la tinción Alcian Blue (Figura 1) reveló que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los controles no hidratados y los hidratados

($p>0.05$) (Figura 4). En relación con las diferentes regiones analizadas en los controles, no existieron diferencias significativas entre éstas aun cuando se observa una menor intensidad en la región posterior respecto a las dos regiones más superficiales analizadas. A pesar de las diferencias observadas entre las distintas concentraciones de NaOH en relación con la intensidad de tinción mostrada por las distintas áreas, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas en la región anterior del grupo tratado durante 2 minutos con NaOH frente al grupo de controles hidratados ($p<0.05$), mostrando una mayor intensidad las muestras tratadas con NaOH (Figura 4).

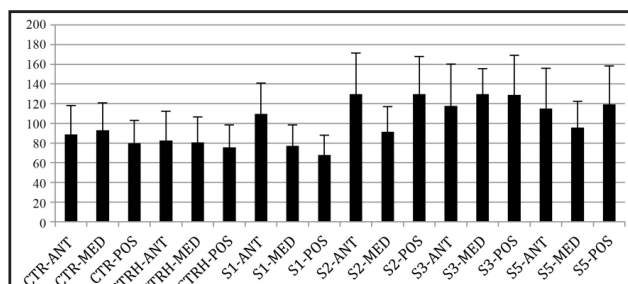


Figura 4. Intensidad de azul alcian tras la tinción de azul alcian tras el tratamiento de las córneas con NaOH. S1: córneas en NaOH 1 minuto; S2: córneas en NaOH 2 minutos; S3: córneas en NaOH 3 minutos; S5: córneas en NaOH 5 minutos; CTR: control de córnea; CH: control hidratado de córnea. ANT: área anterior; MED: área intermedia; POS: área posterior.

DISCUSIÓN:

En este trabajo hemos logrado generar y caracterizar un modelo lesional corneal a través de la causticación de córneas provenientes de cerdos. Dicho modelo facilitaría evaluar los tejidos artificiales creados mediante Ingeniería Tisular sin la necesidad de emplear para ello animales de experimentación.

La caracterización del modelo se llevó a cabo a través de una evaluación histológica mediante diversas tinciones. En primer lugar pudimos observar cómo el epitelio y el endotelio se pierden en su totalidad tras la aplicación de NaOH, independientemente del tiempo aplicado. Además, la tinción de Picrosirius reveló la existencia de un patrón de separación de las fibras colágenas con una tendencia a la compactación de las fibras tras el tratamiento con NaOH.

En relación con las variaciones en la composición estromal evaluadas con la medición de intensidades de las distintas tinciones empleadas, no se observaron alteraciones evidentes en la mayoría de los grupos tras la aplicación de NaOH. Este hecho puede deberse posiblemente a que el colágeno y los proteoglicanos soportan en gran medida la acción de los agentes químicos (13). Sí pudimos observar ciertas tendencias de daño tisular que no demostraron significación estadística como la pérdida de verdes de las muestras tratadas con NaOH respecto de los controles. Dicha pérdida de intensidad de verde podría asociarse a una alteración de los distintos tipos de colágenos que existen en la córnea o al grado de compactación de fibras, ya que existe una controversia en relación con el verde en la tinción de picrosirius que lo asocia a ambos aspectos (14,15,16). No obstante, el número de muestras empleados era muy bajo, por lo que la potencia estadística era muy limitada.

Se han empleado con anterioridad otros modelos lesionales de córnea mediante causticación alcalina con NaOH para evaluar una gran variedad de elementos: expresión de diversas proteínas (17), mejora de la cicatrización mediante el bloqueo de receptores (18,19), aceleración de la cicatrización mediante células madre mesenquimales (20,21,22), evaluación de medicamentos (23, 24, 25, 26) o neovascularización (27), etc. Todos ellos se han realizado en modelos in vivo, lo cual implica gran

des limitaciones éticas y materiales para su realización, a excepción de uno de ellos, en el que se llevó a cabo la evaluación de medicamentos en un modelo ex-vivo bovino (26).

En Ingeniería Tisular, la evaluación de constructos para la regeneración corneal suele realizarse en modelos in vivo que no asocian lesión. Sólo en algunos casos se han empleado modelos lesionales in vivo creados a partir de quemaduras alcalinas¹¹¹². Al tratarse de modelos in vivo, asocian las mismas barreras que los anteriores. Por ello, la existencia de un modelo ex vivo lesional que pueda utilizarse en el laboratorio sin ningún tipo de barrera ética o material, puede suponer un avance significativo en la Ingeniería Tisular de la córnea. La importancia de nuestro modelo radica en su fácil empleo para la evaluación de tejidos artificiales y la posibilidad de valorar cómo se integran dichos tejidos en un ambiente tisular dañado.

Además, nuestro modelo lesional podría ser empleado para la evaluación de la farmacodinámica y otros cambios histológicos o fisiológicos en pacientes con patología corneal similar a la provocada por la quemadura alcalina en nuestro modelo lesional.

En relación con el modelo aquí descrito, existen diversas limitaciones en las cuales continuamos trabajando. Por un lado, es necesario comparar nuestro modelo con lo que ocurre en la córnea humana normal tras dañarse con NaOH. Esto conlleva una serie de limitaciones difíciles de franquear. Por un lado, la falta de córneas humanas para experimentación, ya que la mayoría se usan para trasplantes corneales en clínica. Por otro lado, existiría la posibilidad de usar muestras de anatomía patológica obtenidas tras realizar un trasplante corneal en pacientes que han sufrido una causticación. Sin embargo, el número de muestras existentes en nuestro medio es muy bajo y además, presentan un daño tisular crónico, siendo imposible evaluar el daño agudo asociado a la exposición a NaOH como presentamos en nuestro modelo. La realización de un modelo ex vivo que presente daño crónico implicaría mantener las córneas en tratamiento durante largos periodos de tiempo, lo cual conllevaría una gran dificultad y un alto coste. Además, hemos de tener en cuenta que al ser un modelo ex vivo estamos excluyendo la reacción sistémica al daño ejercido ya que no existe sistema inmune o vascularización en este modelo.

En el futuro, y teniendo en cuenta los grandes avances en la Ingeniería Tisular, los constructos corneales y las queratoprótesis podrían representar una nueva alternativa a los donantes humanos de córnea. Por lo tanto, necesitamos modelos corneales donde estos constructos puedan evaluarse de forma óptima. De este modo, si conocemos los diferentes cambios que se producen en la córnea lesionada y su correspondencia con el modelo lesional propuesto, nos permitiría seleccionar el más apropiado para cada caso. Por otra parte, no podemos olvidar el posible uso del modelo ex vivo aquí descrito para la evaluación de fármacos y la posibilidad de evaluar la fisiopatología de la fibrosis corneal.

CONCLUSIÓN

En conclusión, el modelo corneal aquí descrito aporta un modelo lesional para la evaluación de constructos corneales generados por Ingeniería Tisular, el cual es sencillo y de bajo coste, no asociando ningún tipo de barrera ética. Sin embargo, la generación del modelo ha de mejorarse con el aumento del número de muestras y la realización de otro tipo de estudios sobre el mismo, como la evaluación óptica.

AGRADECIMIENTOS

Beca de Iniciación a la Investigación de la Universidad de Granada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. International Agency for the Prevention of Blindness (IAPB). Informe 2010.
2. Klufas MA, Colby KA. The boston keratoprosthesis. *International Ophthalmology Clinics*. 2010;50(3):161–175. John P. Whitcher JP, Srinivasan
3. M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bulletin of the World Health Organization*, 2001, 79: 214- 221.
4. Garralda A, Epelde A, Iturralde E et al. Cornea transplant. *An. Sist. Sanit. Navar*. 2006;29, (2) .
5. Cardona Jde L, Ionescu AM, Gomez-Sotomayor R, et al. Transparency in a fibrin and fibrin-agarose corneal stroma substitute generated by tissue engineering. *Cornea* 2011;30:1428-1435.
6. Gonzalez-Andrades M, Garzon I, Gascon MI, et al. Sequential development of intercellular junctions in bioengineered human corneas. *J Tissue Eng Regen Med* 2009;3:442-449.
7. Mi S, Connon CJ. The formation of a tissue-engineered cornea using plastically compressed collagen scaffolds and limbal stem cells. *Methods Mol Biol* 2013;1014:143-155.
8. Lawrence BD, Marchant JK, Pindrus MA, Omenetto FG, Kaplan DL. Silk film biomaterials for cornea tissue engineering. *Biomaterials* 2009;30:1299-1308.
9. Gonzalez-Andrades M, de la Cruz Cardona J, Ionescu AM, Campos A, Del Mar Perez M, Alaminos M. Generation of bioengineered corneas with decellularized xenografts and human keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:215-222.
10. Jester JV, Brown D, Pappa A, Vasiliou V. Myofibroblast differentiation modulates keratocyte crystallin protein expression, concentration, and cellular light scattering. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Feb 16;53(2):770-8.
11. Luo H, Lu Y, Wu T, Zhang M, Zhang Y, Jin Y. Construction of tissue- engineered cornea composed of amniotic epithelial cells and acellular porcine cornea for treating corneal alkali burn. *Biomaterials* 2013 Sep;34(28):6748-59.
12. Hackett JM, Lagali N, Merrett K et al. Biosynthetic corneal implants for replacement of pathologic corneal tissue: performance in a controlled rabbit alkali burn model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Feb 3;52(2):651-7.
13. Reim M, Redbrake C, Schrage N. Chemical and thermal injuries of the eyes. Surgical and medical treatment based on clinical and pathophysiological findings. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2001 Feb;76(2):79-124.
14. Carriel V, Garzón I, Alaminos M, Campos A. Evaluation of myelin sheath and collagen reorganization pattern in a model of peripheral nerve regeneration using an integrated histochemical approach. *Histochem Cell Biol*. 2011 Dec;136(6):709-17.15.
15. Carriel V, Aneiros- Fernández J, Arias- Santiago S, Garzón I, Alaminos M, Campos A. A Novel Histochemical Method for a Simultaneous Staining of Melanin and Collagen Fibers. *J Histochem Cytochem*. 2011 Mar;59(3):270-7.
16. Lattouf R, Younes R, Lutowski et al. Picrosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen Networks in Normal and Pathological Tissues. *J Histochem Cytochem*. 2014 Oct;62(10):751-8.
17. Li L, Zhou D, Wang XM et al. Metalloproteinases and inhibitor on the cornea tissue in rabbit after implantation of modified

- titanium skirt for keratoprosthesis. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2012 Jan;48(1):20-6.
18. Okada Y, Shirai K, Reinach PS et al. TRPA1 is required for TGF- β signaling and its loss blocks inflammatory fibrosis in mouse corneal stroma. *Lab Invest*. 2014 Sep;94(9):1030-41.
 19. Okada Y, Reinach PS, Shirai et al. TRPV1 involvement in inflammatory tissue fibrosis in mice. *Am J Pathol*. 2011 Jun;178(6):2654-64.
 20. Yao L, Li ZR, Su WR et al. Role of mesenchymal stem cells on cornea wound healing induced by acute alkali burn. *PLoS One*. 2012; 7 (2): e30842.
 21. Jiang TS, Cai L, Ji WY et al. Reconstruction of the corneal epithelium with induced marrow mesenchymal stem cells in rats. *Mol Vis*. 2010 Jul 14; 16: 1304-16.
 22. Yang W, Gu GZ, Song E et al. Transplantation of human limbal cells cultivated on amniotic membrane for reconstruction of rat corneal epithelium after alkali burn. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2007 Feb; 43 (2): 134- 41.
 23. Sekundo W, Augustin AJ and Strempel I (2002) Topical allopurinol or corticosteroids and acetylcysteine in the early treatment of experimental corneal alkali burns: a pilot study. *Eur J Ophthalmol* 12, 366-372 10.
 24. Dan L, Shi-long Y, Miao-li L et al (2008) Inhibitory effect of oral doxycycline on neovascularization in a rat corneal alkali burn model of angiogenesis. *Curr Eye Res* 33, 653-660 11.
 25. Guler M, Yilmaz T, Ozercan I and Elkiran T (2009) The inhibitory effects of trastuzumab on corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 147, 703-708.
 26. Bhasker S, Kislay R, Rupinder KK, Jagat KR. Evaluation of nanoformulated therapeutics in an ex- vivo bovine corneal irritation model. *Toxicol in vitro*. 2015 Feb 13;29(5):917-925.
 27. Figueroa-Ortiz LC, Martín Rodríguez O, García-Ben A et al. Neovascular growth in an experimental alkali corneal burn model. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2014 Aug;89(8):303-7.

Evaluación de la viabilidad celular en constructos tisulares. Estudio preliminar

Cell viability evaluation in tissue constructs.

A preliminary study

Fernando Campos^{1,3}, Ingrid Garzón¹, Ismael Rodríguez², Miguel Ángel Martín-Piedra¹

¹ Grupo de Ingeniería Tisular. Departamento de Histología. Instituto de Investigación Sanitaria. Ibs. Granada.

² Catedra B de Histología Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba (República Argentina)

³ Programa Doctorado Biomedicina. Fundación San Francisco Javier y Santa Cándida (F-SFJYSC)

Resumen

Objetivo: Aplicar la microscopía electrónica analítica por energía dispersiva de rayos X a la evaluación de la viabilidad celular en constructos tisulares de fibrina agarosa y determinar la viabilidad celular en el seno del constructo.

Material y Métodos: Se evalúan fibroblastos aislados y fibroblastos en el seno del constructo a los 7 y 21 días con la técnica de Live/Dead y de microscopía electrónica analítica por energía dispersiva de rayos X.

Resultados: El estudio demuestra que la aplicación de la técnica es factible y que la viabilidad es elevada en los constructos a los 21 días sin que existan signo de apoptosis en la población celular.

Conclusión: La microscopía electrónica analítica por energía dispersiva de rayos X permite evaluar la viabilidad celular en los constructos tisulares y establecer un control de calidad más exigente para su aplicación terapéutica.

Palabras clave: Viabilidad celular, constructo, microanálisis

Abstract

Objective: Apply X-ray microanalytical electron microscopy to evaluate cell viability in fibrin agarose tissue constructs and determine cell viability within the construct.

Material and Methods: Isolated fibroblasts and fibroblasts within the construct are evaluated at 7 and 21 days with the technique of Live/Dead and with X-ray microanalytical electron microscopy.

Results: The study shows that the application of the technique is feasible that viability is high in the constructs at 21 days without sign of apoptosis in the cell population.

Conclusion: X-ray microanalytical electron microscopy allows the evaluation of cell viability in tissue constructs and establish a more demanding quality control for therapeutic application.

Keywords: Cell viability, construct, microanalysis

INTRODUCCIÓN

La elaboración en el laboratorio de constructos tisulares artificiales útiles para la terapéutica constituye el reto más importante de la ingeniería tisular. En las últimas décadas se han elaborado en este sentido constructos tisulares de muy distinta naturaleza con el objeto de reparar o sustituir los tejidos lesionados (1).

Los componentes fundamentales de los constructos tisulares son las células madres y los biomateriales, elementos ambos que deben cumplir exhaustivos criterios de calidad antes de que el constructo resultante sea autorizado para su aplicación a la clínica. La viabilidad de las células que participan en los constructos es uno de los criterios básicos a cumplir ya que solo una viabilidad elevada asegura la eficacia terapéutica del medicamento tisular y por tanto su aprobación como medicamento de terapia avanzada (2, 3).

La viabilidad de las células que participan en los constructos se realiza habitualmente con carácter previo a la generación de los mismos sin que, hasta el momento, existan estudios significativos que evalúen la viabilidad celular una vez que las células forman ya parte del constructo y, por tanto, se encuentran inmersas en el seno del biomaterial y sometidas a sus efectos. La razón de la falta de estudios estriba básicamente en la carencia de métodos idóneos para evaluar la viabilidad en tales circunstancias.

Entre los métodos que más se utilizan para evaluar la viabilidad celular destacan técnicas que permiten identificar las alteraciones de la membrana y del estado metabólico de las células. Dichas técnicas, sin embargo, no son lo suficientemente precisas como para identificar los estadios iniciales de la muerte celular. Por el contrario una de las técnicas más sensibles para lograr dicho propósito es la microscopía electrónica analítica por emisión de rayos X, que permite cuantificar las concentraciones

intracelulares de los principales elementos químicos vinculados a la viabilidad celular como el potasio, el sodio y el cloro. La utilización de esta técnica ha permitido cuantificar la viabilidad celular en cultivo de tipos celulares muy diversos (4-8). Uno de los retos existentes en el momento presente consiste precisamente en adaptar esta técnica para su utilización en los constructos ya elaborados al objeto de poder evaluar la viabilidad de las células que lo componen.

En el presente trabajo se realiza un estudio preliminar sobre la adaptación y aplicación de dicha técnica a los constructos tisulares de fibrina agarosa, cuya versatilidad y ventajas biomiméticas han sido ampliamente demostradas (9-11), con el objeto de disponer en el futuro de una metodología idónea para evaluar la viabilidad de las células insertas en el mismo. Ello podría conducir a un control de calidad más exigente de acuerdo con los requerimientos que demanda este nuevo tipo de terapia.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. GENERACIÓN DE CONSTRUCTOS TISULARES

Los fibroblastos, procedentes de mucosa oral de cinco sujetos sanos, según el protocolo previamente descrito (8, 12, 13), fueron introducidas DMEM (Sigma-Aldrich) suplementado con antibióticos (500 U/ml de penicilina G y 500 µg/ml de estreptomycin) y antimicóticos (1,25 µg/ml de anfotericina B) (Sigma-Aldrich). Tras el lavado en una solución estéril de PBS con penicilina, estreptomycin y anfotericina B (500 U/ml, 500 µg/ml y 1,25 µg/ml, respectivamente) las muestras fueron incubadas a 37°C en una solución estéril de colagenasa tipo I de Clostridium histolyticum (Gibco BRL Life Technologies Ref. 17100-017, Karlsruhe, Alemania) al 2% en medio de cultivo DMEM durante 10-12 horas. Para los cultivos primarios se utilizó DMEM enriquecido en glucosa (Sigma-Aldrich) suplementado con antibióticos y antimicóticos (100 U/ml de penicilina G y 100 µg/ml de estreptomycin y 0,25 µg/ml de anfotericina B; Sigma-Aldrich) y suero bovino fetal (SBF) (Sigma-Aldrich) al 10%. Las células fueron incubadas a 37°C y 5% de dióxido de carbono, en condiciones estándar de cultivo celular. Los cultivos de fibroblastos se expandieron hasta el cuarto subcultivo, en nuevos frascos de cultivo, antes de su uso para la fabricación los constructos tisulares.

Para la generación de biomateriales de fibrina humana y agarosa tipo VII (Sigma-Aldrich) al 0,1%, se utilizó plasma sanguíneo humano siguiendo las normas y recomendaciones de la Asociación Española de Bancos de Tejidos (AEBT). Como agente inhibidor de la fibrinólisis del biomaterial utilizamos ácido tranexámico (Amchafibrin®, Fides Ecofarma, Valencia, España) y Cl₂Ca 1% (p/v) para inducir la polimerización del plasma y la conversión del fibrinógeno en fibrina. Se realiza el control microscópico de la elaboración del biomaterial mediante microscopía electrónica de barrido en un microscopio PHILIPS Quanta 200, siguiendo procedimientos estandarizados (9).

La elaboración del constructo, se lleva a cabo utilizando el protocolo descrito para la generación constructos de córnea, mucosa oral y piel (8, 12, 14, 15). Para ello, 500.000 fibroblastos fueron resuspendidos en 2 ml de medio de cultivo DMEM, y añadidos al biomaterial de fibrina agarosa elaborado según se ha indicado previamente. Se realiza el control microscópico mediante microscopía electrónica de barrido en un microscopio PHILIPS Quanta 200, siguiendo los procedimientos estandarizados (9).

2. DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR EN LOS FIBROBLASTOS AISLADOS Y DEL CONSTRUCTO TISULAR

La determinación de la viabilidad mediante la técnica de LIVE/DEAD nos permite realizar un ensayo funcional, en base a la integridad de su membrana plasmática. Para la realización de este ensayo de viabilidad en células aisladas se cultivaron 10000 fibroblastos en placa estéril, de cultivo celular, de 96 pocillos

(Lab-Tek II, Nunc, Rochester, NY, USA), durante 7 y 21 días respectivamente. Se utilizaron los fluorocromos del kit comercial LIVE/DEAD Viability/citotoxicity kit for mammalian cells (Invitrogen, Oregon, USA) diluidos en PBS. Se añadió a cada pocillo 100 µl de solución con fluorocromos y se dejó incubar durante 10 minutos. Inmediatamente después se procedió a la toma de imágenes con un microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse Ti-U (Nikon Instruments Inc, NY, USA). Las longitudes de onda de excitación de los fluorocromos fueron 494 nm para la calceína y 528 nm para el bromuro de etidio, respectivamente. Posteriormente, los recuentos celulares se efectuaron con ayuda del software ImageJ.

Para la determinar la viabilidad en los constructos tisulares se tomaron pequeños fragmentos de los constructos cultivados durante 7 y 21 días y se depositaron en unos portas. Posteriormente, se añadió 100µl de una disolución de acetometoxi-calceína y compuesto de etidio y se dejó incubar durante 10 minutos. Inmediatamente después se procedió a la toma de imágenes con un microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse Ti-U (Nikon Instruments Inc, NY, USA), siguiendo el protocolo arriba indicado.

Para realizar el estudio de la viabilidad con Microscopía electrónica analítica por energía dispersiva de Rayos X en los fibroblastos aislados se siguió el siguiente protocolo: tras cubrir las rejillas de oro con pieliformo (SPI-CHEM ref. 2466) las células mantenidas en cultivo se tripsinizaron y se cultivaron sobre dichas rejillas. Se procedió posteriormente al lavado de las rejillas, conteniendo las células, de acuerdo con los criterios establecidos previamente por diferentes autores (4, 16-18) eligiendo como solución lavadora agua destilada a una temperatura de 4°C, durante 5 segundos. La solución lavadora se mantiene en movimiento constante por agitación magnética (16). Las rejillas fueron criofijadas mediante inmersión rápida en nitrógeno líquido. Las rejillas con las células criofijadas se introdujeron en un portamuestras de aluminio preenfriado a -196°C. Las células criofijadas y en el interior del portamuestras fueron posteriormente criodesecadas de forma inmediata en un sistema de criodesecación de alto vacío Emitech K775 (Emitech, Watford, UK) durante un total de 17 horas a una presión de vacío de 10-5 mbar de acuerdo con los criterios de Warley y Skepper (24). Tras la criodesecación las rejillas criodesecadas y montadas sobre portamuestras de aluminio fueron recubiertas con una capa de carbón, durante 30 segundos, en una unidad de recubrimiento sputtering Emitech K775 Watford, UK empleándose argón ($P=10^{-5}$ mbar) (20). El análisis microscópico y microanalítico de las muestras se realizó en un microscopio electrónico de barrido ambiental PHILIPS Quanta 200 provisto de un detector de energía dispersiva de rayos X (EDAX-DX4). Las constantes utilizadas para realizar el estudio microanalítico fueron las siguientes: voltaje 10 kV, aumentos 10000, ángulo de superficie 0°, cuentas por segundo (CPS) registradas por el detector 500, tiempo de acumulación de cuentas 200 segundos, tamaño del haz de electrones (spot size) 5, distancia de trabajo 10mm. La determinación de la viabilidad se realiza a los 7 y 21 días de cultivo.

Para determinar la viabilidad de los fibroblastos en los constructos tisulares de fibrina agarosa se procede al lavado de los mismos siguiendo el protocolo arriba indicado y posteriormente se criofijan mediante inmersión rápida en nitrógeno líquido. Las muestras criofijadas fueron depositadas sobre papel de filtro y colocadas en un portamuestras de aluminio preenfriado a -196°C. La criodesecación, el montaje y el recubrimiento sigue asimismo las pautas previamente descritas. El análisis microscópico y microanalítico de las muestras se realizó en un microscopio electrónico de barrido ambiental PHILIPS Quanta 200 provisto de un detector de energía dispersiva de rayos X (EDAX-DX4) con los mismos parámetros y condiciones indicados con anterioridad.

Para la realización de los estudios microanalíticos cuantitativos se sigue el protocolo previamente descrito para fibroblastos de mucosa oral por Sánchez Quevedo et al., 2007 (8) que utiliza el método de la razón Pico/fondo (4, 21, 22) y estándares elaborados con concentraciones conocidas de sales inorgánicas en 20% de dextrano (16).

RESULTADOS

El cultivo primario de fibroblastos mostró un crecimiento celular muy rápido a partir de los primeros días. A las 24h la mayor parte de las células se encontraban adheridas al fondo del frasco de cultivo y emitían pequeñas prolongaciones a modo de pseudópodos. El crecimiento de los fibroblastos se evidenció entre las 48 y 72 horas de cultivo, configurándose al quinto día, una trama celular, constituida por células con largas prolongaciones, que a partir del séptimo día, se convierte en una masa de células fusiformes que ocupaba toda la superficie del cultivo. Por otra parte la observación con microscopía electrónica de barrido del biomaterial de fibrina agarosa elaborado puso de relieve que el biomaterial está constituido en todo su espesor por una red filamentosa homogénea (Fig. 1a). Los fibroblastos incluidos en los geles de fibrina y agarosa mostraron una morfología alargada o estrellada y una distribución homogénea en la trama reticular de fibrina. En ninguno de los casos se apreció contracción o pérdida de volumen de los geles de fibrina y agarosa después de generar los constructos (Fig. 1b).

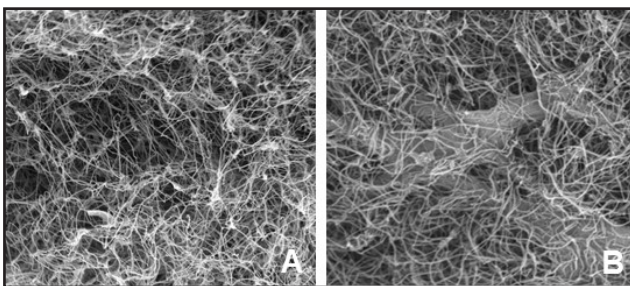


Figura 1. Microfotografía con microscopía electrónica de barrido del biomaterial de fibrina agarosa (A) (3000x) y del constructo de fibrina agarosa con células (B) (5000x).

Los resultados del ensayo de fluorescencia LIVE/DEAD realizados en los fibroblastos en cultivo mostraron siempre un porcentaje de viabilidad superior al 85%. Para los fibroblastos cultivados durante 7 días, las células vivas presentaron un porcentaje promedio de $92,01 \pm 4,66$ y para los fibroblastos cultivados durante 21 días $91,68 \pm 3,90$ (Fig. 2a y 2b). Los resultados del ensayo de fluorescencia Live/Dead en los constructos tisulares mostraron un porcentaje de viabilidad del 87% y del 61,4% respectivamente para los constructos cultivados durante 7 y 21 días respectivamente (Fig. 3a y 3b).

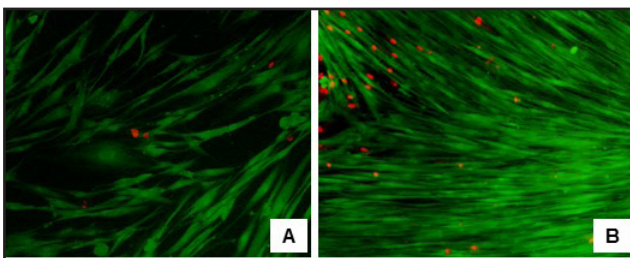


Figura 2. Microfotografía con microscopio óptico invertido de fibroblastos tras el ensayo Live/Dead. En verde (calceína) marcadas las células vivas con actividad esterasa. En rojo (bromuro de etidio) marcados los núcleos de células muertas y con membranas alteradas. A) Fibroblastos cultivados durante 7 días (10x). B) Fibroblastos cultivados durante 21 días (10x).

Para cada una de las células, objeto de estudio, en los ensayos de viabilidad con microscopía electrónica analítica por energía dispersiva de rayos-X (10 en cada ensayo), se obtuvieron espectros individualizados. En cada espectro se observaron los picos correspondientes a los diferentes elementos existentes a nivel intracelular, así como el fondo o background, correspondiente a la emisión de la radiación no característica.

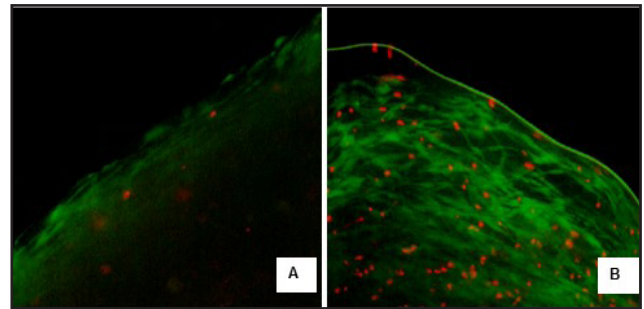


Figura 3. Microfotografía con microscopio óptico invertido de constructos tisulares tras el ensayo Live/Dead. En verde (calceína) marcadas las células vivas con actividad esterasa. En rojo (bromuro de etidio) marcados los núcleos de células muertas y con membranas alteradas. A) Constructos tisulares de 7 días (10x). B) Constructos tisulares de 21 días (10x).

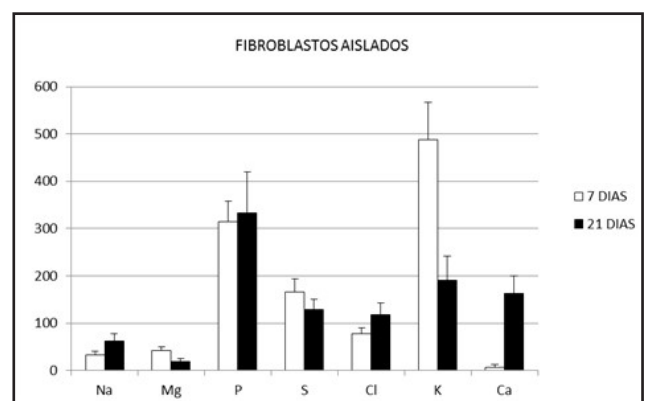


Figura 4. Concentración media y desviación estándar de Na, Mg, P, S, Cl, K y Ca en fibroblastos cultivados en rejillas durante 7 días y 21 días.

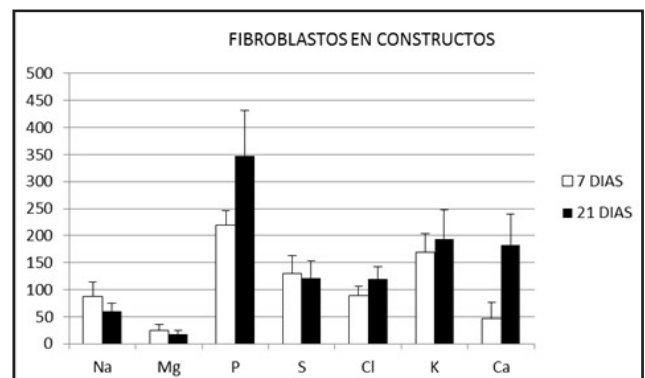


Figura 5. Concentración media y desviación estándar de Na, Mg, P, S, Cl, K y Ca en constructos tisulares a los 7 y 21 días.

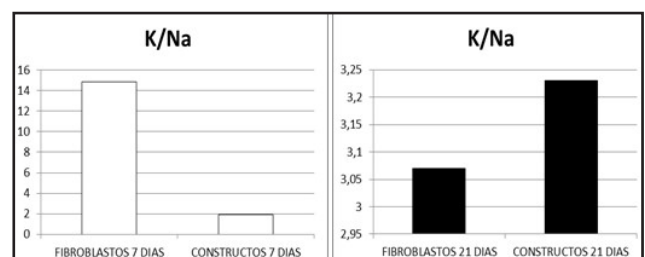


Figura 6. Índice K/Na en fibroblastos aislados y constructos tisulares a los 7 y 21 días

La concentración media en mmoles/kg de peso en seco y la desviación estándar de los elementos químicos intracelulares en los fibroblastos cultivados en rejillas durante 7 y 21 días fueron respectivamente: Na ($32,91 \pm 7,75$ y $61,87 \pm 15,74$), Mg ($42,02 \pm 7,79$ y $18,40 \pm 6,51$), P ($314,13 \pm 43,81$ y $333,82 \pm 85,98$), S ($165,83 \pm 27,40$ y $129,24 \pm 20,78$), Cl ($77,66 \pm 13,09$ y $118,20 \pm 24,02$), K ($488,07 \pm 78,22$ y $190,49 \pm 50,78$) y Ca ($5,95 \pm 6,08$ y $162,08 \pm 38,37$). La concentración media en los fibroblastos presentes en el interior de los constructos a los 7 y 21 días fue respectivamente la siguiente: Na ($87,87 \pm 26,10$ y $59,96 \pm 14,91$), Mg ($24,24 \pm 12,17$ y $18,24 \pm 6,46$), P ($219,01 \pm 27,07$ y $347,94 \pm 83,97$), S ($130,66 \pm 31,57$ y $121,33 \pm 32,73$), Cl ($88,92 \pm 17,80$ y $119,75 \pm 23,51$), K ($169,84 \pm 33,30$ y $193,71 \pm 53,85$) y Ca ($47,00 \pm 28,92$ y $182,23 \pm 57,57$). En las Figs. 4 y 5 se expresa el perfil iónico promedio de los ensayos realizados a los 7 y 21 días. Finalmente los índices de viabilidad celular K/Na en las células en cultivo y en las células del constructo tisular alcanzaron respectivamente los siguientes valores 14,83 y 1,93 a los 7 días y de 3,07 y 3,23 a los 21 días (Fig. 6).

DISCUSIÓN

La eficacia terapéutica de los constructos elaborados por ingeniería tisular depende de factores muy diversos como por ejemplo la naturaleza del biomaterial utilizado y las propiedades reológicas del mismo o del tipo de célula seleccionado. En relación con estas últimas es importante señalar que solo el uso de poblaciones celulares con un grado elevado de viabilidad puede garantizar el éxito y la eficacia terapéutica (5, 6, 23-25).

La evaluación de los perfiles de viabilidad de las células a utilizar en los constructos generados por ingeniería tisular constituye por tanto uno de los objetivos fundamentales en los protocolos de control de calidad a la hora de autorizar su traslación a la clínica. Como se ha indicado en la introducción los métodos habituales de evaluación de viabilidad basados en la identificación de las alteraciones de la membrana celular y del estado metabólico celular presentan limitaciones importantes que la utilización de la microscopia electrónica analítica por dispersión de Rayos X ha comenzado recientemente a superar (5, 6, 23-26). La evaluación de la viabilidad en los protocolos actualmente existentes se realiza sin embargo en las células aisladas con anterioridad a su utilización en el constructo sin que existan datos fidedignos sobre las variaciones en el grado de viabilidad que pueden sufrir las células en seno del constructo.

Entre los biomateriales que recientemente han demostrado una mayor eficacia en la construcción de nuevos tejidos aptos para la terapéutica está la fibrina (27, 28). Se trata de un polímero natural biodegradable que participa de los procesos naturales de reparación tisular y que posee cadenas fibrilares largas que permiten flexibilidad y una elevada fuerza mecánica (29). Recientemente se ha descrito además que la unión de la fibrina con la agarosa, que es un extracto de alga marina, refuerza las propiedades mecánicas del conjunto y que regulando la hidratación y la presión el biomaterial formado puede adquirir, en un amplio espectro, las propiedades biomecánicas deseadas (9, 14, 30). Los constructos elaborados con fibrina agarosa y fibroblastos han demostrado asimismo una gran capacidad para constituir estromas artificiales biomiméticos para distintos tipos de tejidos y órganos (8, 10, 12, 14, 15, 31).

En el presente trabajo se ha aplicado un protocolo de evaluación microanalítica celular con el objeto de cuantificar el perfil iónico de los fibroblastos inmersos en el material de fibrina agarosa de los constructos. A tal efecto la evaluación de la viabilidad de los mismos se llevó a cabo a los 7 y 21 días y se utilizaron como controles para la evaluación los fibroblastos aislados cultivados en el mismo periodo de tiempo. Además se utilizó otra técnica clásica para evaluar viabilidad -la técnica de Live Dead- que constituye una metodología básica utilizada habitualmente para determinar la viabilidad de los elementos celulares aislados.

Los resultados obtenidos con la utilización de la técnica de Live/Dead demuestran que la viabilidad de los fibroblastos orales aislados supera a los 7 y 21 días el 90% y que cuando se aplica a la evaluación de las células que forman parte de los constructos

tisulares de fibrina agarosa la viabilidad se reduce a los 21 días a un 61,4%. De acuerdo con estos datos los constructos tisulares de fibrina agarosa tendrían una elevada viabilidad en su componente celular lo que garantizaría en gran medida su eficacia biológica.

Cuando se evalúan los fibroblastos aislados aplicando el protocolo de microscopia electrónica a analítica se observa un elevado índice K/Na a los 7 días y una disminución significativa a los 21 días aunque alcanza sin embargo un valor de 3,07. El índice K/Na se considera el marcador más importante para determinar la viabilidad celular al reflejar la relación del potasio intracelular con el sodio, que posee baja concentración intracelular en las células viables y elevada concentración intracelular en las células no viables (32).

En los constructos de fibrina agarosa el índice K/Na asciende desde 1.93 a los 7 días hasta 3.23 a los 21 días con cifras de viabilidad similares a las de los fibroblastos aislados. El hecho de que los fibroblastos tengan un índice de viabilidad semejante a los 21 días, tanto en aislamiento como en el seno de los constructos, refleja, con independencia de los medios de cultivo, que en el seno del biomaterial de fibrina agarosa los fibroblastos en ambos casos alcanzan una viabilidad elevada. La existencia de una elevada concentración de fósforo en los fibroblastos aislados y en los de los constructos tisulares, tanto a los 7 días como a los 21 días, es otro signo importante de viabilidad al correlacionarse dicho elemento con el componente orgánico de la célula (32).

Los resultados obtenidos por otra parte en relación con el cloro son importantes en nuestro estudio porque demuestran que las concentraciones de dicho elemento se mantienen elevadas y similares en los fibroblastos aislados y los existentes en el seno de los constructos, tanto a los 7 como a los 21 días. El mantenimiento elevado de la concentración de cloro significa que la población celular en ambos casos no se encuentra en apoptosis ya que la disminución de cloro junto a la bajada de potasio constituye el perfil microanalítico de dicho proceso, lo que se asocia también a una pérdida de volumen celular (33, 34). Ninguna de las dos circunstancias se da en los ensayos realizados.

CONCLUSIÓN

En consecuencia nuestro estudio demuestra que la evaluación de la viabilidad celular en constructos tisulares con microscopia electrónica analítica por dispersión de rayos-X es factible y que los resultados preliminares indican que las células en los constructos de fibrina agarosa poseen una viabilidad elevada a las tres semanas de su elaboración sin signos microanalíticos de apoptosis. Futuros estudios deben determinar si estos resultados pueden generalizarse a constructos elaborados con otros biomateriales o pueden variar en constructos de fibrina agarosa elaborados con protocolos diferentes.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a las Profesoras Allice Warley (King's College, London) y María del Carmen Sánchez-Quevedo (Universidad de Granada) por el asesoramiento recibido en el desarrollo de las técnicas de microscopia electrónica analítica por energía dispersiva de rayos-X.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lee N, Robinson J, Lu H. Biomimetic strategies for engineering composite tissues. *Curr Opin Biotechnol*. 2016; 21; 40: 64-74.
2. Cuende N, Izeta, A. Clinical translation of stem cell therapies: a bridgeable gap. *Cell Stem Cell*. 2010; 6: 508-512.
3. Cuende N, Rico L, Herrera C. Concise review: bone marrow mononuclear cells for the treatment of ischemic syndromes: medicinal product or cell transplantation? *Stem Cells Transl Med*. 2012; 5: 403-408.

4. Fernández-Segura E, Cañizares FJ, Cubero MA, Revelles F, Campos A. Electron probe X-ray microanalysis of cultured epithelial tumour cells with scanning electron microscopy. *Cell Biol Int*. 1997; 21(10): 665-669.
5. Garzón I, Perez-Kohler B, Garrido-Gómez J, Carriel V, Nieto-Aguilar R, Martín-Piedra MA, García-Honduvilla N, Buján J, Campos A, Alaminos M. Evaluation of the cell viability of human Wharton's jelly stem cells for use in cell therapy. *Tissue Eng. Part C Methods*. 2012; 18:408-419.
6. Martín-Piedra MA, Garzón I, Oliveira AC, Alfonso-Rodríguez CA, Carriel V, Scionti G, y Alaminos M. Cell viability and proliferation capability of long-term human dental pulp stem cell cultures. *Cytotherapy*. 2014; 16: 266-277.
7. Salido M, Vilches J, y Roomans GM. Changes in elemental concentrations in LNCaP cells are associated with a protective effect of neuropeptides on etoposide-induced apoptosis. *Cell Biol Int*. 2004; 28(5): 397-402.
8. Sánchez-Quevedo MC, Alaminos M, Capitan LM, Moreu G, Garzón I, Crespo PV, y Campos A. Histological and histochemical evaluation of human oral mucosa constructs developed by tissue engineering. *Histol Histopathol*. 2007; 22(6): 631-640.
9. Scionti G, Moral M, Toledano M, Osorio R, Durán JD, Alaminos M, Campos A, López-López MT. Effect of the hydration on the biomechanical properties in a fibrin-agarose tissue-like model. *J Biomed Mater Res*. 2014; 102(8): 2573-2582.
10. San Martín S, Alaminos M, Zorn TM, Sánchez-Quevedo MC, Garzón I, Rodríguez IA, Campos A. The effects of fibrin and fibrin-agarose on the extracellular matrix profile of bioengineered oral mucosa. *J Tissue Eng Regen Med*. 2013; 7(1): 10-19.
11. Rodríguez IA, López-López MT, Oliveira AC, Sánchez-Quevedo MC, Campos A, Alaminos M, Durán JD. Rheological characterization of human fibrin and fibrin-agarose oral mucosa substitutes generated by tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2012; 6(8): 636-644.
12. Alaminos M, Garzón I, Sánchez-Quevedo MC, Moreu G, González-Andrades M, Fernández-Montoya A, Campos A. Time-course study of histological and genetic patterns of differentiation in human engineered oral mucosa. *J Tissue Eng. Regen Med*. 2007; 1(5): 350-359.
13. Garzon I, Serrato D, Roda O, Del Carmen Sanchez-Quevedo M, Gonzales-Jaranay M, Moreu G, Nieto-Aguilar R, Alaminos M, Campos A. In vitro cytokeratin expression profiling of human oral mucosa substitutes developed by tissue engineering. *Int J Artif Organs*. 2009; 32(10): 711-719.
14. Alaminos M, Del Carmen Sánchez-Quevedo M, Muñoz-Avila JI, Serrano D, Medialdea S, Carreras I, Campos A. Construction of a complete rabbit cornea substitute using a fibrin-agarose scaffold. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47(8): 3311-3317.
15. Carriel V, Garzón I, Jiménez JM, Oliveira AC, Arias-Santiago S, Campos A, Sánchez-Quevedo MC, Alaminos M. Epithelial and stromal developmental patterns in a novel substitute of the human skin generated with fibrin-agarose biomaterials. *Cells Tissues Organs*. 2012; 196(1): 1-12.
16. Warley A. Development and comparison of the methods for quantitative electron probe X-ray microanalysis analysis of thin specimens and their application to biological material. *J Microsc*. 2016; 261(2): 177-84.
17. Von Euler A, Wroblewski R, Roomans GM. Correction for extraneous background in X-ray microanalysis of cell cultures. *Scanning Microsc*. 1992; 6(2): 451-456.
18. Zierold K, Schäfer D. Preparation of cultured and isolated cells for X-ray microanalysis. *Scanning Microsc*. 1988; 2(3):1775-1790.
19. Warley A, Skepper JN. Long freeze-drying times are not necessary during the preparation of thin sections for X-ray microanalysis. *J Microsc*. 2000; 198(Pt 2): 116-123.
20. Sánchez-Quevedo MC, Nieto-Albano OH, García JM, Gómez de Ferraris ME, Campos A. Electron probe microanalysis of permanent human enamel and dentine. A methodological and quantitative study. *Histol Histopathol*. 1998; 13: 109-113.
21. Statham PJ, Pawley JB. A new method for particle X-ray microanalysis on peak to background measurements. *Scanning Electron Microsc*. 1978; 1: 469-478.
22. Boeckstein A, Stols AL, Stadhouders AM. Quantitation in x ray microanalysis of biological bulk specimens. *Scan Electron Microsc*. 1980; (Pt 2): 321-334.
23. Alaminos M, Sánchez-Quevedo MC, Muñoz-Avila JI, García JM, Crespo PV, González-Andrades M, Campos A. Evaluation of the viability of cultured corneal endothelial cells by quantitative electron probe X-ray microanalysis. *J Cell Physiol*. 2007; 211: 692-698.
24. Rodríguez-Morata A, Garzón I, Alaminos M, García-Honduvilla N, Sánchez-Quevedo MC, Bujan J, Campos A. Cell viability and prostacyclin release in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Ann Vasc Surg*. 2008; 22(3): 440-448.
25. Garzón I, Carriel V, Marín-Fernández AB, Oliveira AC, Garrido-Gómez J, Campos A, Sánchez-Quevedo MC, Alaminos M. A Combined Approach for the Assessment of Cell Viability and Cell Functionality of Human Fibrochondrocytes for Use in Tissue Engineering. *PLoS ONE*. 2012; 7: e51961.
26. Martín Piedra MA, Garzón I, Sánchez-Quevedo MC, Alaminos M. Evaluación de la viabilidad celular y patrones apoptóticos en células madre aisladas de la pulpa dental humana *Actual Med*. 2012; 97: 006- 012.
27. Ahmed TA, Dare EV, Hincke M. Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications. *Tissue Eng Part B Rev*. 2008; 14(2): 199-215.
28. De la Puente P, Ludeña D. Cell culture in autologous fibrin scaffolds for applications in tissue engineering. *Exp Cell Res*. 2014; 322(1): 1-11.
29. Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001; 936: 11-30.
30. Ionescu AM, Alaminos M, de la Cruz Cardona J, de Dios García-López Durán J, González-Andrades M, Ghinea R, Campos A, Hita E, del Mar Pérez M. Investigating a novel nanostructured fibrin-agarose biomaterial for human cornea tissue engineering: rheological properties. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2011; 4(8): 1963-1973.
31. Carriel V, Garzón I, Alaminos M, Cornelissen M. Histological assessment in peripheral nerve tissue engineering. *Neural Regen Res*. 2014; 9(18):1657-1660.
32. Roomans GM. X-ray microanalysis of epithelial cells in culture. *Methods Mol. Biol*. 2002; 188: 273-289.
33. Fernández-Segura E, Warley A. Electron probe X-ray microanalysis for the study of cell physiology. En Allen T. *Methods Cell Biol*. Elsevier: UK; 2008.
34. Fernández-Segura E, Cañizares FJ, Cubero MA, Warley A, Campos A. Changes in elemental content during apoptotic cell death studied by electron probe X-ray microanalysis. *Exp Cell Res*. 1999; 253: 454-462.

La estabilidad emocional y su relación con el daño psíquico en mujeres españolas víctimas de violencia de género

Emotional stability and its relationship with the psychic damage among spanish victims of gender violence

Antonio Molina-Rodríguez^{1,2}, Juan de Dios Luna del Castillo³, Sofía Idrissi², María Castellano Arroyo⁴

¹ Department of Legal Medicine, Toxicology and Physical Anthropology. Granada University, Spain.

² Center of Psychology and Legal Medicine. Ronda (Málaga), Spain.

³ Department of Biostatistics and Operations Research. Granada University, Spain

⁴ Department of Surgery, Medical and Social Sciences. Section of Legal and Forensic Medicine. Alcalá de Henares University, Madrid, Spain.

Resumen

Introducción: La violencia contra la mujer constituye un problema de salud pública y se ha convertido en una de las principales causas de problemas de salud en las víctimas que la sufren. Se conoce poco sobre los factores de vulnerabilidad ante estas experiencias.

El objetivo de este estudio es analizar la estabilidad/inestabilidad emocional como factor clave en la capacidad de afrontar una situación de violencia de género y sus consecuencias sobre la salud física y psíquica de las víctimas.

Métodos: Se trata de un estudio trasversal realizado sobre una muestra de 151 mujeres españolas. Las mujeres fueron evaluadas mediante el Cuestionario de Salud General de Goldberg y el Inventario de Personalidad 16PF de Cattell.

Resultados: Encontramos una relación significativa entre la estabilidad emocional y la puntuación total del Goldberg y sus cuatro subescalas de síntomas somáticos, ansiedad, adaptación socio-laboral y depresión ($p < 0.001$).

Conclusión: Niveles altos de estabilidad emocional podrían indicar fortaleza psicológica y menor vulnerabilidad, pudiendo favorecer que el daño psicológico en la mujer víctima sea menor.

Abstract

Introduction: Violence against women is a public health problem and has become one of the main causes of health problems in the victims who suffer. Little is known about the factors of vulnerability to these experiences.

Objective: The aim of this study is to analyze the emotional stability/instability as the key factor for coping with a gender violence situation and its effects on the physical and psychic health of the victims.

Methods: It's a cross-sectional study conducted on a sample of 151 spanish women. The women were evaluated using the Goldberg General Health Questionnaire and Cattells 16PF Inventory.

Results: Emotional stability was found to have a significant correlation with the Total Goldberg score and with its four subscales of symptoms, anxiety, withdrawal and depression ($p < .001$).

Conclusion: A high emotional stability can be seen as an indicator of psychological strength and less vulnerability, hence less psychological damage of the victim.

Palabras clave: Violencia de género. Mujeres maltratadas. Daño psíquico. Estabilidad emocional. Vulnerabilidad psicológica. Violencia familiar.

Keywords: Gender violence. Battered women. Psychic damage. Emotional stability. Psychological vulnerability. Family violence.

INTRODUCTION

Gender violence is one of the most important violations of the rights of women, including the right to health. It is worldwide health problem (1).

Spanish laws regarding violence in the family setting (e.g.

2,3,4), and specifically violence against women (e.g. 5), increased the number of reports in Courts. In all cases a medical-forensic evaluation is required as the basis of judicial decisions (6).

The psychic damage made manifest by the victim is a deed which justifies the judicial appraisal of the facts and the seriousness of the crime. Nonetheless, not all women offer the

same response to violence of similar characteristics (7). Acute psychic damage or damage manifested in the form of emotional sequelae also varies in the case of chronic psychic damage (8). Studies have demonstrated the association between the violence against women, in all its different forms, and physical and mental health (9,10,11,12). Moreover, it has been extensively shown that there are great individual differences in the means of coping a stressful situation, and that these differences in response will determine the effects of such experiences, both in the short-term response and in the long-term effects upon the health (13). Therefore, the personal manners of coping largely determine the individual differences in the psychological responses in stressful contexts (14).

The emotional stability of women sums up their capacity to cope with emotions, the level of tolerance to frustration, and their tendency to experience anxiety. When this stability remains at medium-high levels, it indicates a greater capacity to better face the traumatic events which we interpret as a lesser psychological vulnerability. In exploring these differences in response, we found studies about the influence of factors such as age (15); personality (16); the type of violence (17,11); the relationship between the victim and the aggressor (18); the duration (17); the frequency (19), among others.

In the present contribution, we study the relationship between the emotional stability of a non-clinical sample of women who suffered violence and the psychic damage, as measured by the GHQ-28. We considered additional factors such as age, the relationship between the victim and the aggressor, the type and the persistence of the violence.

We hope to determine that the greater emotional stability of the woman is associated with a greater level of psychic resistance to violence, manifesting lesser psychic damage and a better preparation to overcome the vital traumatic event successfully. Psychic vulnerability expresses a lesser degree of psychological resistance of the individual in the face of traumatic events; it coincides with a reduced capacity to cope and elaborate the experiences that represent suffering.

MATERIALS AND METHODS

2.1. Sample.

The population of study consisted of 151 women who had reported intimate partner aggressions (aged 18-75 years; mean = 38.5 ± 10.64). All the women had presented a criminal court accusation, in the judicial area of Eastern Andalucía (Spain) of gender violence. Previous to our study there was no clinical intervention or specific protection of any sort.

2.2. Instruments and Evaluative Measures.

The data were processed by the Unit of Medical-forensic Evaluation of Family Violence of the Department of Legal Medicine, University of Granada (Spain) between 2002 and 2008.

By means of a semi-structured survey and psycho-diagnostic examination, we obtained data relative to medical, psychological and psychiatric aspects. In all the cases, the assessment was requested by a court Judge. We obtained the written consent of the victim, and to carry it out we went to the family setting to obtain information in the family context most immediate.

2.2.1. Psychological-Psychiatric Variables.

2.2.1.1. Emotional stability.

This was evaluated using the Questionnaire of 16 personality factors (16PF), version C (20), adapted to Spanish population (21). This tool is designed to evaluate the personality profile. The items are grouped into 16 factors of the first order: Affectivity, Intelligence, Emotional Stability, Dominance, Impulsivity, Conformity to the

Group, Sensitivity, Mistrust, Imagination, Cleverness, Apprehension, Openness to change, Self-sufficiency, Self-control, and Anxiety; and four of the second order (Anxiety, Extraversion, Control of Socialization and Independence). The factors were scored on a Likert scale from 1 to 10. "Emotional stability" is understood to express maturity, a good management of emotions, feelings and impulses, with a low tendency toward anxiety and good tolerance in the face of adverse situations. We considered "emotional stability" from two standpoints: as a independent and unique factor, and in association with the rest of the factors of the PF16; in this sense we refer to it as "associated factors". We grouped the women as either "emotionally stable" (ES) or "emotionally unstable" (EU).

"Emotional stability" as a single factor was assigned a score from 0 to 10. A score of 5-6 would be considered mid-range, ≤ 4 indicative of emotional instability and a score of ≥ 7 is indicative of emotional stability.

Given that the focus was emotional stability, any further information provided by the 16PF was not analyzed.

2.2.1.2. General health.

Evaluated using the Goldberg General Health Questionnaire (GHQ-28), abbreviated version (22), validated for Spanish population (23). This tool was originally designed to measure the risk of developing non-psychotic psychiatric disorders, and was later applied for the detection of psychosocial problems in the general population. It has four subscales: GHQ-A (somatic symptoms), GHQ-B (anxiety), GHQ-C (withdrawal) and GHQ-D (depression), which are scored binomially (0 = no symptoms; 1 = symptoms). The maximum score of each one of the subscales is 7 points, > 4 points the need for pharmacological treatments is considered necessary. The T-GHQ gathers the total score of the four subscales, meaning a maximum of 28 points. Up to 8 points is considered to be an "acceptable" level of general health; 9-16 points is "moderately affected"; and ≥ 17 points signals that the level of health is "substantially affected", in which case pharmacological treatment is deemed necessary.

2.2.2. Epidemiological variables.

We consider the following information: 1) **Age** (at the time of the accusation); 2) **Type of violence**, either "psychic violence", when consisting of insults, contempt, coercion, threats, or control behaviors; and "complex violence", when, in addition to the above, there was physical abuse entailing blows of different intensity, the use of weapons, or sexual violence; 3) **Relationship with the aggressor**, which we classified as either "stable", when the couple was legally bound or persistently living together, or "transitory" for couples who were together occasionally; 4) **Persistence of violence**, categorized as "habitual" or "not habitual", these terms used in following the judicial criteria of Spain of the severity of criminal behavior, whereby more than three aggressions constitute "habitual" conduct.

2.2.3. Statistical method.

Descriptive analysis of the epidemiological data, to "emotional stability", and the scores of the four subscales and T-GHQ. This study considered the distribution of frequencies when the variables were qualitative. In the case of quantitative variables, other basic means of summing up were added to the distribution of frequencies.

The women were grouped using the conglomerated k-means method, determining the number by means of the Calinski methodology. The variable that we denominated "associated factor" characterized quite precisely these two groups of women in terms of the association of "emotional stability" with the rest of the 16PF factors.

Bivariate analysis, through simple linear regression, was applied to the following correlations:

a) Between the epidemiological variables and the score of the GHQ-28; b) Between the score in "emotional stability" and the

score of the GHQ-28; these, in both cases, as indicators of the psychic damage; and c) In turn, these GHQ scores were studied according to the distribution of the women into the two groups of ES or EU.

The statistical software package used was STATA-12-1.

RESULTS

3.1. Descriptive analysis of the epidemiological variables.

3.1.1. Age.

The age range was found to be 31-40 years old, with 59 cases (39.1%), followed by 41-50 years old, with 38 cases (25.2%) and 18 to 30 years old, with 34 cases (22.5%).

3.1.2. Type of Violence.

We found that 31 (20.53%) of the study population had reported insults, coercion, contempt, personal control, etc.; and additionally there was physical or sexual abuse or use of arms in the case of 120 women (79.47%).

3.1.3. Relationship with the aggressor.

The number of women who had a stable relationship with the aggressor was 118 (78.50%), as opposed to 22 (14.57%) who had a transitory relationship; the remaining 11 women responded to other types of relationships.

3.1.4. Persistence of violence (duration and frequency).

The results show that 108 (71.52%) women suffered repeated aggressions, whereas 43 (28.48%) reported a isolated event.

3.2. Descriptive analysis of the psychological variables.

3.2.1. "Emotional stability" and its "associated factors".

The scores obtained are as follows: With > 4 points, indicating EU there were 73 women (48.34%). There were 51 women (43.58%) who obtained intermediate scores of 5-6; and 23 (8.08%) scored ≥ 7 , indicating "high emotional stability".

According to the grouping for "associated factors", the group of ES women comprised 72 individuals (47.68%), and the group of EU women

was somewhat greater, 79 (52.32%).

3.2.2. Goldberg's General Health Questionnaire-28.

3.2.2.1. T-GHQ.

Our results gave a mean GHQ-T of 10.5 points ($SD = 7.35$). The 25 percentile was established at 5 points, percentile 50 at 9 points, and percentile 75 at 16 points. The mode was the scores of 7 and 8, with 11 cases each. The second most frequent value was a score of 0, in ten cases. The cutoff for necessitating treatment is 17 points.

The frequencies grouped according to the level of health were: 115 women (76.16%) scored ≤ 16 , while 36 (23.84%) scored ≥ 17 .

A score of ≤ 8 indicates an "acceptable" level of health in 73 women (48.34%). There were 42 women (27.81%) who obtained a score between 9-16 points, corresponding to "moderate deterioration"; and 36 women (23.84%) scored from 17-28 points.

Pharmacological treatment was indicated in at least 36 women scoring over 17.

3.2.2.2. Score on GHQ-28 sub-scales.

GHQ-A: The mean score was 3.1 ($SD = 2.2$). The number of women who scored ≤ 4 was 106 (70.2%); 45 (29.8%) presented scores 5-7; these women manifested psychic illness calling for treatment.

GHQ-B: The mean score was 3.5 ($SD = 2.15$). Whereas 104 women (68.87%) obtained scores from 0 to 4 points, indicating a moderate level of anxiety, the remaining 47 (31.13%) scored 5-7, indicating a high level of anxiety requiring treatment.

GHQ-C: The mean score was 1.8 ($SD = 1.95$). It is noteworthy that 135 (89.4%) of the women scored ≤ 4 , indicating an acceptable level of social/work adaptation. In turn, just 16 (10.60%) had scores that signaled *withdrawal*.

GHQ-D: The mean score was 2.4 ($SD = 2.38$). In this indicator, 127 women (77.48%) scored ≤ 4 ; 34 women (22.52%) scored 5-7, indicating a need for treatment.

3.3. Bivariate analysis of the epidemiological and psychological variables.

The statistically significant correlations are presented in Table 1.

Variables			GHQ-28 scores									
			GHQ-A		GHQ-B		GHQ-C		GHQ-D		T-GHQ	
	Reference	Risk	b	p	b	p	b	p	b	p	b	p
C Factor			-.541	<.001	-.590	<.001	-.363	<.001	-.574	<.001	-2.062	<.001
Associated factors	ES	EU	1.355	<.001	1.651	<.001	1.084	.001	1.675	<.001	5.471	<.001
Relationship with aggressor	Stable	Transitory					.881	.052				
Type of violence	Psychic	Complex	.930	.038	.853	.049			.914	.056	2.916	.049

Table 1 Bivariate analysis of the variables chosen in view of GHQ-28 scores.

3.3.1. Correlation of epidemiological variables and GHQ-28.

The age of the women and the persistence of the violence showed no correlation with the GHQ-28. The type of relationship showed signs of statistical significance with the GHQ-B.

In contrast, when the type of violence is "complex", it is directly correlated with the following variables: T-GHQ; GHQ-A; GHQ-B. The type of violence showed no correlation with GHQ-C. There were indications of its association with GHQ-D that did not reach the level of significance.

3.3.2. Correlations between emotional stability and GHQ-28.

We analyzed the scores on the GHQ-28 with regard to ES or Factor C as a trait.

GHQ-A: The correlation between Factor C and "somatic symptoms" proved to be significant and inverse, fewer emotional stability is associated with a greater GHQ-A value. When we focus on the variable "associated factors" a direct and significant association is also found with the somatic symptoms. The correlation evidences that the mean score obtained for the GHQ-A by the EU women of study was 1.355 points greater than the mean score obtained by the ES group. In short, the group EU expresses a greater number of somatic symptoms when exposed to violence.

GHQ-B: We arrived at an significant inverse association between the score in anxiety and factor C. The results obtained for this subscale showed a significant direct association with the variable "associated factors". This indicates that the mean scores for GHQ-B among the EU women is 1.651 points higher than for the ES ones. Group EU expresses greater levels of anxiety when exposed to gender violence.

GHQ-C: The score obtained for GHQ-C manifests a significant inverse correlation with factor C. The results relating withdrawal with the variable "associated factors" also establish a direct and significant association between the two. The mean score obtained for GHQ-C by the group EU is 1.084 points higher than that of the group ES. The group EU is the one exhibiting more withdrawal in the workplace or the social realm as a result of gender violence.

GHQ-D: The evaluation of depression on this subscale also leads to a significant inverse correlation with factor C. This subscale is found to have a direct and significant association with the variable "associated factors". The mean score obtained for the evaluation of depression among the group of EU women was 1.675 points higher than that of the ES women. The group EU is the one expressing greater levels of depression when exposed to violence.

T-GHQ: The correlation between the GHQ-Total score and Factor C proved to be inversely significant. Correlating the GHQ-T score with the variable "associated factors" led to a direct and significant association. The mean scores obtained in the GHQ-T by group EU is 5.471 points higher than the mean of the ES women.

Thus, the ES women can be said to suffer lesser deterioration of their state of psychophysical health and can resist better despite the loss of their emotional well-being.

DISCUSSION

The present study was conducted to examine the relationship between the psychic damage of women who suffered gender violence and the emotional stability and factors such as age, the relationship with the aggressor, the type and the persistence of the violence.

Regarding the age of the victims, the figures coincide with other studies; concluding that the greatest prevalence of gender violence involved women in the age range of 31-40 years (24). This would suggest that violence is consecutive with the initial period of living together, when the compatibility of characters and vital

projects is tested. Also noteworthy is the elevated prevalence of gender violence among the youngest age bracket studied here, 18 to 30 years of age (22.5%). These are early relationships, and it would be logical to assume that the education of the persons involved is less patriarchal and more based on respect and equality. This social influence on the attitudes of gender violence has been explored by a number of studies (25), previous authors observed violence and lack of equality in the secondary school setting (26) and the university (27), making these populations at a risk to be addressed by preventive studies.

Further, the results of this study come to underline that physical damage most often accompanies the attitude of disrespect and humiliation, experiences that are very damaging to the psychophysical health (28). Our findings are in line with the results of studies that report that "complex violence" appears with high frequency in the cases of violence against women who file in court (24,15). Accusations of violence in the family setting in Spain were traditionally dealt with as general misdemeanors of lesions. In the Penal Code reform of 1989 and 1995, the misdemeanor of family violence was typified, considering only physical violence. Then psychic violence was added with the same consideration of seriousness in the Penal Code reform of 1999. This made it necessary to evaluate the psychic damage of victims in order to prosecute in court according to the real seriousness. Among women reporting that they were the victims of violence, the percentage of complex violence is greater, and this may be due to the fact that there are more evident lesions, which makes prosecution somewhat easier (15). Nonetheless, we also find studies that indicate that the percentage of psychological violence is on the rise (29). Similarly, studies show that among young couples there is increasing psychological violence, however, when the relationship is more stable, physical violence increases (30).

The findings indicate that the situation of greater stability in the relationship prevailed, and violence arose when there was a stronger link. Similar findings are reported in studies that conclude that a high percentage of stable relations are found in the cases of violence in intimate relationships (24). It may also be true that it is more difficult to break off a relationship of greater stability, whether legal or affective, as it is complicated to arrive at agreements about common goods, the children, etc. (31,32,15).

In line with previous research, most women endure psychic and physical violence that is persistent, before reporting the incidents to the police or judge (31). These authors associate the frequency of the aggressions with their duration over time, considering that before a formal accusation the woman has suffered the violent conduct frequently, over a long period.

Notwithstanding, the fact that abuse can involve women with very different types of personality makes come to show that, even though emotional stability has an important influence in the process, other factors may be equally important. Thus, although personality traits bear an influence, at the same time they can be modulated by extreme or continuous events (33,19) that may appear in the victims as new forms of adapting. Relating these affirmations with our own results, the 52.32% of women found to be unstable according to the "associated factors" would have reflected the group EU; and the 47.68% of the women who were found to be ES may have been influenced by other factors while experiencing and enduring a relationship based on violence. This does not contradict the role of emotional stability in coping with the damaging effects violence.

On the other hand, we should stress that the evaluation using the T-GHQ must be done on an individual basis, as the score on some of the subscales may suffice to prescribe treatment. Of all the women, just over half (51.65%) showed a general deterioration in their health, yet pharmacological treatment was indicated for just 23.84%. Therefore, nearly half the women (48.34%) can be said to have an acceptable health. These results highlight the inconsistency when different studies explore the damage deriving from violence against women, and point to the need for further research into the factors that facilitate and protect against this traumatic experience. Golding (10) arrived at

results very similar to ours. One finding upheld by the literature consulted is that women victims of gender violence show an association between the traumatic experience and its effect on mental health (9,11). Other studies aiming to determine the time of response between the onset of violence and the time of appearance of symptoms came to the conclusion that the symptoms in women with no previous mental disorder tended to appear within the range 1-5 years (12); our future research efforts we will take into account this "window" for the appearance of symptoms.

Specifically, the scores on GHQ-28 sub-scales indicate that the poor health and the need for medication appear in roughly 30% of the women regarding both psychosomatic symptoms and anxiety. Just over 20% required treatment for depression. Only 10% presented a pathological situation in terms of their social/work environment. In general, a moderate effect is seen for the scales A, B and D. This result is in line with the findings of other studies in that a moderate-serious association exists between gender violence and depression, anxiety and stress (9,11). This could be attributed to the high percentage of women who exhibited good social/work adaptation. In this case, work is experienced as a positive force, providing security and self-esteem. It therefore facilitates a proper management of the stress that violence may generate. Studies show that one socio-demographic variable characterizing battered women is the prolonged relationship with the aggressor, with the additional circumstance of the woman's not having a job (34). Accordingly, having a job and economic autonomy favors decision-making and can help lead the way out of the situation of abuse. Furthermore, work can "counter-act" the negative symptoms in these women, serving as an escape valve. Rothman et al. (35) confirmed how important having a job can be for women who are victims of gender violence. Among the benefits, they found improved self-esteem, increased social contact, "breathing room", and a vital objective.

As indicated, neither age nor the persistence of violence, nor the type of relationship with the aggressor had a correlation with the general state of health of the woman victim. There was a correlation between the scores in somatic symptoms, anxiety, withdrawal, depression and T-GHQ score and the "complex violence", the combination of physical and psychic violence that is known to cause greater damage to the general health. These data support the findings of previous authors, who affirm that undergoing complex violence increases the symptoms of deterioration of mental health (17,10,11). In our review of the literature addressing the duration and frequency of aggressions, we encountered different terms used as synonyms. We chose to denominate the existence of violence over time and occurring frequently as "persistence of violence". The studies consulted reflect some disparity in results when there are correlations of the duration and/or frequency of the violence and the damage for the health. Golding (10) refers to a dose-response relationship between violence and depression. Bonomi et al. (17) also found an association between the duration of abuse and the affectation of the health of women. Nonetheless, Beydoun et al. (9) found that only a small proportion of women who had been exposed to gender violence for a long time suffered from depressive symptoms. Patró Hernández et al. (16) likewise found no relationship between the duration of abuse and the levels of depression in victims of gender violence, but conclude there is a relationship with the frequency of the episodes of abuse. Nonetheless, various studies have demonstrated a connection between exposure to violence and stressors (9). We found no significant correlation between the age and the general state of health. Other authors arrive at a significant association, the younger women presenting more depressive symptoms and a greater deterioration of self-esteem (15). Regarding the type of relationship between the victim and the aggressor, there was no statistically significant association with the health. This result coincided with the findings reported by Stewart (36).

Finally, the results give a significant association between "emotional stability" and psychic damage in the women suffering gender violence. This correlation is even greater when the

"emotional stability" is studied as a trait within the variable "associated factors". Comparatively, the results obtained on the GHQ subscales offer scores that double or triple the effect of abuse when the emotional stability is associated with the rest of the 16PF factors.

Generally speaking, we may affirm that our results point to emotional stability as a protecting factor for the health of women subjected to gender violence. These results are in line with previous reports. Lazenbatt et al. (37) studied the means of coping with gender violence among a population of women over 50 years of age, as well as the consequences for their health. Their results point to the existence of pathological mechanisms of adaptation such as the abuse of alcohol and self-medication, concluding that their state of health was at an elevated risk. Although the concept of *coping* may not mean exactly the same thing to everyone who uses the term (13), it can be said in general that *coping focused on the emotional* is less effective as a procedure in order to minimize the negative emotions. Proving more effective would be *coping focused on the problem*, whose objective is to influence and eliminate the source of stress (33). In the context of gender violence, these findings have been confirmed. It is our understanding that the means of avoiding this situation by focusing on emotional aspects and resorting to avoidance behaviors bears a relation with a profile of emotional instability. Thus, Lilly and Graham-Bermann (38) report that women using a coping mechanism based on emotion showed more symptoms of post-traumatic stress and were more likely to expose themselves to situations of violence again. Similarly, studies involving other populations, such as Viet Nam veterans, revealed that the individuals who scored low in emotional stability (measured using the 16PF) developed more post-traumatic stress symptoms (39).

CONCLUSIONS

In this article "emotional stability" is dealt with as a specific trait having a particularly important influence on the response of the women who suffer from gender violence. Our main conclusion is that there is a strong statistical correlation between emotional instability and the psychic damage to women. This allows us to identify the more vulnerable women who require attention, to approach them in a preventive stage.

Acknowledgments: The authors wish to express their gratitude to Spain's *Administración de Justicia*, to the women participating in this study, and to the *Instituto de la Mujer* (Ministry of Social Affairs).

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Ellsberg M, Jansen HAFM, Heise L, Watts CH, García-Moreno C. Intimate partner violence and women's physical and mental health in the WHO multi-country study on women's health and domestic violence: An observational study. *Lancet*. 2008;371(9619):1165-1172.
2. Ley 10/1995 de Reforma del Código Penal. BOE nº281, pp 33987-34058, (24-noviembre).
3. Ley Orgánica 14/1999 en materia de protección a las víctimas de malos tratos y de la Ley de Enjuiciamiento Criminal, BOE nº138, pp 22251-22253, (10-junio).
4. Ley Orgánica 4/2015 del Estatuto de la Víctima del Delito, BOE nº101, pp 36569-36598, (28-abril).
5. Ley Orgánica 1/2004 de Medidas de Protección Integral contra la Violencia de Género, BOE Nº 313, pp 42166-42197, (29-diciembre).
6. Castellano Arroyo M., Lachica López E, Molina Rodríguez A, Villanueva de la Torre H. Violencia contra la mujer. El perfil del

- agresor: criterios de valoración del riesgo. *Cuad Med Forense*. 2004;35:15-28
7. Rogers MJ, Follingstad DR. Women's exposure to psychological abuse: Does that experience predict mental health outcomes? *J fam violence*. 2014;29: 595-611.
 8. Echeburua E, Corral P. ¿Cómo evaluar las lesiones psíquicas y las secuelas emocionales en las víctimas de delitos violentos? *Psicopatol Clín Leg Forense*. 2005;5:57-73.
 9. Beydoun HA, Beydoun MA, Kaufman JS, Lo B, Zonderman AB. Intimate partner violence against adult women and its association with major depressive disorder, depressive symptoms and postpartum depression: A systematic review and meta-analysis. *Soc Sci Med*. 2012;75(6):959-975.
 10. Golding JM. Intimate partner violence as a risk factor for mental disorders: A meta-analysis. *J Fam Violence*. 1999;14(2):99-132.
 11. Lagdon S, Armour C, Stringer M. Adult experience of mental health outcomes as a result of intimate partner violence victimisation: A systematic review. *Eur J Psychotraumatol*. 2014;5.
 12. Rees S, Steel Z, Creamer M, et al. Onset of common mental disorders and suicidal behavior following women's first exposure to gender based violence: a retrospective, population-based study. *BMC psychiatry*. 2014;14:312.
 13. Skinner EA, Edge K, Altman J, Sherwood H. Searching for the structure of coping: A review and critique of category systems for classifying ways of coping. *Pol Psychol Bull*. 2003;129(2):216-269.
 14. Lazarus RS, Folkman S. Stress, appraisal, and coping. New York: Springer; 1984
 15. Sarasua B, Zubizarreta I, Echeburua E, de Corral P. Perfil psicopatológico diferencial de las víctimas de violencia de pareja en función de la edad. *Psicothema*. 2007;19(3):459-466.
 16. Patró Hernández R, Corbalán Berná FJ, Limiñana Gras RM. Depresión en mujeres maltratadas: Relaciones con estilos de personalidad, variables contextuales y de la situación de violence. *An. Psicol*. 2007;23(1):118-224.
 17. Bonomi AE, Thompson RS, Anderson M, et al. Intimate partner violence and women's physical, mental, and social functioning. *Am J Prev Med*. 2006;30(6):458-466.
 18. Anderson DK, Saunders DG. Leaving an abusive partner: An empirical review of predictors, the process of leaving, and psychological well-being. *Trauma Violence Abuse*, 2003;4(2):163-191.
 19. Rutter M. Resilience as a dynamic concept. *Dev Psychopathol*. 2012;24(2):335-44.
 20. Cattell RB. Cuestionario factorial de personalidad (adolescentes y adultos). 15ª Ed. Madrid: TEA Ediciones; 1998
 21. Cattell RB. Cuestionario de Personalidad 16 PF. Madrid: TEA Ediciones; 1975.
 22. Goldberg DP, Hillier VF. A scaled version of the general health questionnaire. *Psychol Med*. 1979;9(1):139-145.
 23. Lobo A, Pérez-Echeverría MJ, Artal J. Validity of the scaled version of the general health questionnaire (GHQ-28) in a Spanish population. *Psychol Med*. 1986;16(1):135-140.
 24. Rajini S, Vell CK, Senthil S. Prevalence of domestic violence and health seeking behavior among women in rural community of puducherry - A cross sectional study. *Int J Cur Res Rev*. 2014;6(16):20-23.
 25. Ferrer-Pérez VA, Bosch-Fiol E. Gender violence as a social problem in Spain: Attitudes and acceptability. *Sex Roles*. 2014;70(11-12):506-521.
 26. Pérez SR. Violencia en parejas jóvenes: estudio preliminar sobre su prevalencia y motivos. *Pedagog Soc*. 2015;25:251-275.
 27. McDermott RC, Lopez FG. College men's intimate partner violence attitudes: Contributions of adult attachment and gender role stress. *J Couns Psychol*. 2013;60(1):127-136.
 28. Taft CT, Murphy CM, King LA, Dedeyn JM, Musser PH. Posttraumatic stress disorder symptomatology among partners of men in treatment for relationship abuse. *J Abnorm Psychol*. 2005;114(2):259-268.
 29. Follingstad DR, Edmundson M. Is psychological abuse reciprocal in intimate relationships? Data from a national sample of American adults. *J Fam Violence*. 2010;25(5):495-508.
 30. Schwartz JP, Magee MM, Griffin LD, Dupuis CW. Effects of a group preventive intervention on risk and protective factors related to dating violence. *Group Dynamics: Theory, Research and Practice*. 2004;8(3):221-231.
 31. Amor PJ, Echeburua E, de Corral P, Zubizarreta I, Sarasua B. Repercusiones psicopatológicas de la violencia doméstica en la mujer en función de las circunstancias del maltrato. *Int J Clin Health Psychol*. 2002;2(2):227-246.
 32. McFarlane J, Pennings J, Symes L, Maddoux J, Paulson R. Predicting abused women with children who return to the abuser: Development of a risk assessment tool. *Journal of Threat Assessment and Management*. 2014;1(4):274-290.
 33. Connor-Smith J, Flachsbart C. Relations between personality and coping: A meta-analysis. *J Pers Soc Psychol*. 2007;93(6):1080-1107.
 34. Terrazas-Carrillo E, McWhirter PT. Employment status and intimate partner violence among Mexican women. *J Interpers Violence*. 2015;30(7):1128-1152.
 35. Rothman EF, Hathaway J, Stidsen A, de Vries HF. How employment helps female victims of intimate partner violence: A qualitative study. *J Occup Health Psychol*. 2007;12(2):136-143.
 36. Stewart MC. The Effect of Victimization on Women's Health: Does the Victim-Offender Relationship Matter? [dissertation]. University of Cincinnati; 2011
 37. Lazenbatt A, Devaney J, Gildea A. Older women living and coping with domestic violence. *Community Pract*. 2013;86(2):28-32.
 38. Lilly MM, Graham-Bermann S. Intimate partner violence and PTSD: The moderating role of emotion-focused coping. *Violence Vict*. 2010;25(5):604-616.
 39. Hyer L, Woods MG, Boudewyns PA, Harrison WR, Tamkin AS. MCMI and 16-PF with Vietnam veterans: Profiles and concurrent validation of MCMI. *J Pers Disord*. 1990;4(4):391-401.

Validación del sistema automatizado Bact/Alert en el control microbiológico de productos celulares de Terapias Avanzadas

Validation of Bact/Alert automatic system in the microbiological control of cell medicinal products of Advanced Therapies

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

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

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

³ Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas.

Resumen

Objetivo. El Control de calidad para demostrar que un producto está libre de agentes microbianos adventicios es un aspecto clave de control de procesos y evaluación de la calidad de todas las preparaciones medicinales celulares y en la ingeniería tisular. El objetivo de este estudio es validar el sistema de detección por hemocultivo Bact / ALERT para el control microbiológico de las células mesenquimales para terapia celular, según la Farmacopea Europea (EU.PH), 2.6.27. "Control microbiológico de productos celulares" (1). **Método.** Para el cálculo del límite de detección las botellas de hemocultivo fueron inoculadas e incubadas con 4 réplicas de 30 UFC, 5 réplicas de 15 UFC y 5 réplicas de 6 UFC de los microorganismos en ausencia de producto celular. Se llevaron a cabo también experimentos en presencia de producto con 400.000 células mesenquimales. Este método se ha comparado con el método de referencia de Esterilidad de la EU.PH (2). La especificidad se ensayó inoculando 5 réplicas con 400.000 células mesenquimales sin microorganismos.

Resultados. Todas las botellas inoculadas con células mesenquimales sin microorganismos permanecieron negativas después de 7 días de incubación. Todas las botellas inoculadas con cepas bacterianas aerobias y anaerobias fueron detectadas como positivas por el sistema, en el caso del límite inferior (6 UFC) en menos de 36 horas. Se detectaron como positivas las botellas inoculadas con *Candida albicans* (6 UFC) en menos de 48 horas y con *Aspergillus niger* (6 UFC) en menos de 72 horas. No hubo diferencias notables en el tiempo de detección entre botellas inoculadas con y sin la presencia de células mesenquimales.

Conclusión: El sistema de detección de hemocultivos Bact/Alert es un método fiable para la detección de la contaminación microbiana de medicamentos a base de células mesenquimales y cumple los requisitos de la UE PH, 2.6.27, para el control microbiológico de productos celulares.

Abstract

Objective. Quality control to demonstrate that a product is free from adventitious microbial agents is a key aspect of process control and quality evaluation of all cell medicinal preparations and in tisular engineering.

Evaluate the validation of the Bact/ALERT Blood Culture System for the microbial control of mesenchymal cells for cell therapy according European Pharmacopoeia (EU.PH), 2.6.27. "Microbiological control of cellular products" (1).

Method. Blood culture bottles were challenged with 4 replica of 30 cfu, 5 replica of 15 cfu and 5 replica of 6 cfu of the test microorganisms. Test were also carried out in the presence in each contaminated culture bottle of 400.000 mesenchymal cells. This method has been compared with the reference method for Sterility of the EU.PH (2). Specificity was tested inoculating 5 replicas of broth culture media with 400.000 cells without microorganisms.

Results. All bottles challenged with mesenchymal cells without microorganisms remained negative after 7 days of incubation. All inoculated bottles with aerobic and anaerobic bacterial strains were flagged as positive for the system, in case of low inoculum (6 cfu) in less than 36 hours. *Candida* inoculated bottles (6 cfu) were detected in less than 48 hours and *Aspergillus* (6 cfu) in less than 72 hours. There were no significant differences in the detection time between bottles inoculated with and without the presence of mesenchymal cells.

Conclusion: The Bact/ALERT blood culture detection system and is a reliable method for detection of microbial contamination of mesenchymal cells medicinal products that fulfils the requirements of the EU PH, 2.6.27, for the microbiological control of cellular products.

Palabras clave: esterilidad, control microbiológico, terapias avanzadas.

Keywords: sterility, microbiological control, advanced therapies.

INTRODUCCIÓN

El control de calidad para demostrar que un producto está libre de agentes microbianos adventicios es un aspecto clave de control de procesos y evaluación de la calidad de todas las preparaciones medicinales celulares, tanto para terapia celular como para ingeniería tisular.

El método clásico para la detección de agentes microbianos es el Test de Esterilidad de la Farmacopea Europea (2), que para productos celulares se lleva a cabo mediante inoculación directa en medios de cultivo líquidos (Thioglicolato y TSB) y que tiene un periodo de incubación de 14 días a $32 \pm 2^\circ\text{C}$ en el caso del Thioglicolato y a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ en el caso del TSB. Uno de los inconvenientes es por tanto el tiempo de incubación, que el caso de productos celulares en muchos casos es inviable, y otra es que la detección se hace de forma visual, con lo que está sujeta a la subjetividad del individuo.

Existen nuevos métodos disponibles que aportan resultados más rápidamente con la posibilidad de tomar antes acciones correctivas en caso necesario.

Los sistemas de detección por hemocultivo han demostrado ser métodos robustos, fiables y además están automatizados, por lo que ahora se incorporan a la Farmacopea Europea para el control microbiológico de productos celulares.

Sin embargo, estos métodos tienen que ser validados en la presencia del tipo de preparación para ser examinado con respecto a la especificidad (ausencia de falsos positivos), la sensibilidad (límite de detección) y la reproducibilidad. Se debe comprobar por tanto que el método es adecuado para controlar la presencia de agentes microbianos en el producto, y que éste no interfiere en el crecimiento de microorganismos.

Por tanto el objetivo de este estudio es demostrar que el método de detección por hemocultivo Bact/Alert (3) es válido para el control microbiológico del producto celular "Células mesenquimales troncales de tejido adiposo (CMTTAd)"

MATERIAL Y MÉTODOS

Los materiales y equipos utilizados son:

Medios de cultivo: BacT/ALERT® botellas de hemocultivo para industria aerobios (iFA) y anaerobios (iFN). Tubos de Thioglicolato y TSB.

Sistema de detección: BacT/ALERT 3D60®, tiempo de incubación 7 días a $35\text{--}37^\circ\text{C}$.

Producto celular: Suspensión de células mesenquimales obtenidas de tejido adiposo a $2.000.000$ células /ml en Lactato de Ringer y Albumina al 1%.

Cepas de microorganismos: Staphylococcus aureus. Bacillus subtilis. Pseudomonas aeruginosa. Candida albicans. Aspergillus niger y Clostridium sporogenes.

Los inóculos se preparan a partir del preparado comercial BioBall® (4) soluble en agua que contienen 30 ± 2 microorganismos/bola.

Para verificar y documentar la capacidad de los medios de cultivo para detectar microorganismos aerobios, anaerobios, levaduras y hongos filamentosos en presencia del material a ensayar, se ha llevado a cabo la validación del control microbiológico, según indicaciones de European Pharmacopoeia 2.6.27. "Microbiological control of cellular products".

Los frascos de hemocultivos aerobios y anaerobios contienen un medio líquido y carbón activo, capaces de neutralizar de antibióticos y otras sustancias inhibitoras, que permiten el

crecimiento de microorganismos. El crecimiento microbiano se detecta mediante un sistema incubador/lector automático.

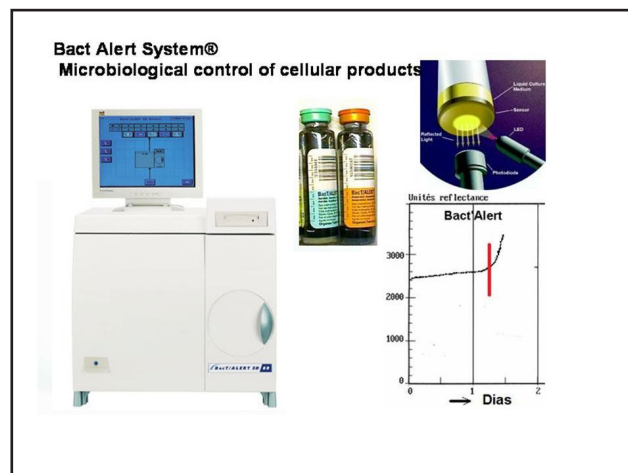


Fig. 1 Sistema automatizado Bact/Alert 3D60®.

La validación se realiza respecto a esterilidad de los medios (frascos sin inocular) especificidad (ausencia de falsos positivos), sensibilidad (límite de detección), idoneidad del ensayo con las muestras y reproducibilidad. Adicionalmente, debido a que el sistema automatizado permite determinar el tiempo de detección de los microorganismos, se ha calculado la media de los tiempos de detección en presencia o no de del medicamento.

Para verificar y documentar la **esterilidad de los medios y la especificidad** de los medios de cultivo utilizados en el ensayo de control microbiológico de productos celulares, se ha comprobado que los frascos no inoculados e inoculados con el producto celular sin microorganismos no dan resultados falsamente positivos.

Para verificar y documentar la **sensibilidad** o límite de detección, es decir, la capacidad de los medios de cultivo para detectar pequeñas cargas de microorganismos aerobios, anaerobios, levaduras y hongos filamentosos, así como comprobar esta capacidad en presencia del material a ensayar, se ha llevado a cabo el ensayo añadiendo a los frascos de cultivo un inóculo de microorganismos viables, conteniendo 30, 15 y 6 unidades formadoras de colonias (UFC) respectivamente de las cepas a estudiar. Estos inóculos son inferiores al señalado en la Farmacopea (Eu Ph 2.6.27), que indica que los medios de cultivo utilizados para el control microbiológico de productos celulares, han de superar el ensayo de promoción de crecimiento cuando se inoculan con menos de 100 microorganismos viables de las cepas de referencia.

El inóculo de microorganismos viables se prepara a partir de BioBall® SingleShot (Biomérieux), de las cepas patrón de microorganismos recomendadas por la Farmacopea. Las BioBall® son unas esferas hidrosolubles que contienen 30 ± 2 UFC (SingleShot) de microorganismos viables, envasadas en viales individuales, lo que disminuye la variabilidad del inóculo y la posibilidad de contaminación con otras cepas. Estas esferas se reconstituyen en 1 ml de solución salina estéril, de modo que en 1- 0,5 – 0,2 mL de suspensión bacteriana habría exactamente las 30 – 15 – 6 UFC necesarias para grupo del ensayo.

Se han comprobado los inóculos de cada cepa utilizada, sembrando una Bioball® en una placa de agar sangre.

Para verificar y documentar la **idoneidad** se han inoculado estos microorganismos en botellas de hemocultivo en presencia y en ausencia del producto celular a ensayar, de manera que se compruebe que el producto no interfiere significativamente en el ensayo.

Para verificar y documentar la **reproducibilidad** de la técnica se han realizado cuatro réplicas de 30 UFC, cinco réplicas de 15 UFC y cinco réplicas de 6 UFC de cada una de las determinaciones (con

y sin producto celular a ensayar). Se han realizado 4 réplicas de los frascos inoculados sólo con el producto a ensayar (especificidad) o sin inocular (esterilidad).

Como comparador de referencia se han realizado dos réplicas de 30 UFC y 5 de 15 y 6 UFC respectivamente siguiendo el método de inoculación directa en medio de cultivo descrito en la Eu Ph 2.6.1 para el ensayo de esterilidad. Se han utilizado 5 réplicas con un inóculo de 15 y 6 UFC para minimizar la variabilidad de Poisson que establece para una probabilidad de resultado negativo debido al azar (siembra de menos de 1 UFC, del orden $1/e-6$) de aproximadamente 0.25.

Se han analizado los tiempos de detección de los microorganismos en el caso del inóculo menor (6 UFC) considerado como peor caso, comparando los datos obtenidos en las botellas con y sin medicamento.

RESULTADOS

Comprobación de esterilidad de los medios de cultivo microbiológicos.

Se ha verificado la esterilidad de los medios de cultivo microbiológicos utilizados en este estudio de validación (botellas de hemocultivo aerobios y anaerobios, tubos de tioglicolato y TSB), incubando 4 frascos o tubos de cada medio y comprobando que no hay detección ni crecimiento microbiano durante el periodo de incubación.

En ninguna de las botellas de hemocultivo incubados se detectó crecimiento microbiano tras siete días de incubación a 35-37°C.

En ninguno de los tubos de tioglicolato y TSB incubados se detectó crecimiento microbiano tras 14 días de incubación a 32,5°C ó 22,5°C respectivamente.

Especificidad de los medios de cultivo microbiológicos

Se ha realizado por cuadruplicado la prueba de especificidad (ausencia de falsos positivos) inoculando 4 botellas de cada uno de los medios (frascos de hemocultivo aerobios y anaerobios, tioglicolato y TSB) con el producto a ensayar (medicamento: CMMTAd en lactato de Ringer con albúmina) y comprobando que no hay detección ni crecimiento microbiano durante el periodo de incubación.

En ninguno de los frascos de inoculados con el producto a ensayar se detectó crecimiento microbiano tras siete días de incubación a 35-37°C.

En ninguno de los tubos de tioglicolato y TSB inoculados con el producto a ensayar se detectó crecimiento microbiano tras 14 días de incubación a 32,5°C ó 22,5°C respectivamente.

Límite de detección y reproducibilidad de la técnica

Se ha calculado el límite de detección añadiendo a los medios de cultivo (frascos de hemocultivo, tioglicolato y/o TSB) un inóculo de microorganismos viables conteniendo 30, 15 y 6 UFC respectivamente de cada una de las cepas a estudiar (*Aspergillus niger* ATCC 16404, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Clostridium sporogenes* ATCC 1437, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538).

Se han inoculado cuatro botellas de hemocultivo con 30 UFC, cinco con 15 UFC y cinco con 6 UFC (aerobio o anaerobio según la cepa inoculada) y 2 tubos de medios de cultivo del ensayo clásico de esterilidad (TSB o Tioglicolato según la cepa inoculada) con 30 UFC, dos con 15 UFC y cinco con 6 UFC. Se han comprobado los inóculos de cada una de las cepas sembrando una Bioball[®] en placa de agar sangre y haciendo recuento visual de las UFC.

Así mismo, se ha realizado el límite de detección en presencia del material a ensayar, en nuestro caso con el medicamento (suspensión de CMMTAd en lactato de Ringer con albúmina). La técnica

es la misma que la anteriormente descrita con la única diferencia de que se han inoculado los frascos y tubos con los microorganismos en presencia del medicamento.

(*Ver tabla 1 en página 27)

Tiempos de detección

Para cada cepa en el caso del inóculo inferior (6UFC) en el sistema automatizado se han determinado los tiempos de detección en presencia o no de la suspensión celular.

(*Ver tabla 2 y 3 y fig. 2 en página 28)

DISCUSIÓN

El uso de un sistema automatizado de detección de contaminación microbiana es de una gran utilidad en el control microbiológico de productos celulares, por lo que resulta de gran aplicación en el campo de las Terapias Avanzadas. Actualmente se utiliza en el control microbiológico de médula ósea, sangre de cordón y otros tejidos (8), en el control de condrocitos para terapia celular (9) y otros medicamentos inyectables (6).

Una de las características de los medicamentos de terapias avanzadas es su corta vida, por lo que es necesario disponer de un sistema que aporte resultados en el menor tiempo posible.

En nuestro estudio hemos demostrado que el sistema es adecuado para el control microbiológico de un medicamento de terapias avanzadas elaborado a partir de células madre mesenquimales de tejido adiposo.

A la vista de los resultados del valor P, no existen diferencias significativas entre el tiempo de detección de los microorganismos en presencia del producto a ensayar o en ausencia del mismo, por lo que podemos concluir que el medicamento no produce interferencias en el ensayo.

Comparando éste método automatizado con el método clásico de esterilidad de la Farmacopea Europea, se observa que son equivalentes en cuanto a la obtención de resultados, si bien el sistema automatizado proporciona resultados con mayor rapidez y no es necesario esperar 14 días como en el método clásico para considerar que un producto es estéril ya que con 7 días es suficiente. Otra ventaja del sistema automatizado es la temperatura única de incubación para bacterias, hongos y levaduras a 35-37 °C, mientras que el método clásico requiere temperaturas de 30-35 °C para bacterias y de 20-25 °C para hongos y levaduras. Esto permite obtener resultados en menor tiempo en consonancia con otros estudios (5, 7, 10)

También es un método más fiable ya que no depende de la pericia del ojo humano para detectar la turbidez en los medios, si no que lo detecta el equipo automáticamente por un cambio de color en un reactivo colorimétrico que se encuentra en la parte inferior de la botella y que es detectado por una célula fotoeléctrica, por lo tanto el equipo es susceptible de ser calibrado y cualificado, aspecto no realizable en un método manual.

Otra ventaja es que el equipo emite una alerta visual en la pantalla de control que avisa en caso de que exista una botella positiva, incluso alerta previamente de que hay botellas que son susceptibles o próximas a ser positivas, por lo que en caso de que sea necesario tomar acciones correctivas, éstas puedan ser más inmediatas.

Como conclusión, el sistema de detección por hemocultivo Bact / ALERT es un método válido para el control microbiológico de las células mesenquimales para terapia celular, según la Farmacopea Europea (EU.PH), 2.6.27. Control microbiológico de productos celulares. Los productos celulares a ensayar no alteran el límite de detección de los sistema de cultivo automatizados Bact/Alert para las seis cepas ensayadas, que es ≤ 6 UFC". La técnica es reproducible ya que se obtienen los mismos resultados en las réplicas realizadas del ensayo.

INOCULO 30 UFC	Medios en ausencia de medicamento			Medios con presencia de medicamento		
	Hemocultivo	TG	TSB	Hemocultivo	TG	TSB
<i>A. niger</i> ATCC 16404	4/4	NA	2/2	4/4	NA	2/2
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	4/4	NA	2/2	4/4	NA	2/2
<i>C. albicans</i> ATCC10231	4/4	NA	2/2	4/4	NA	2/2
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	4/4	2/2	NA	4/4	2/2	NA
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	4/4	2/2	NA	4/4	2/2	NA
<i>C. sporogenes</i> ATCC 1437	4/4	2/2	NA	4/4	2/2	NA
INOCULO 15 UFC	Medios en ausencia de medicamento			Medios con presencia de medicamento		
	Hemocultivo	TG	TSB	Hemocultivo	TG	TSB
<i>A. niger</i> ATCC 16404	5/5	NA	5/5	5/5	NA	5/5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	5/5	NA	5/5	5/5	NA	5/5
<i>C. albicans</i> ATCC10231	5/5	NA	5/5	5/5	NA	5/5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5/5	5/5	NA	5/5	5/5	NA
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	5/5	5/5	NA	5/5	5/5	NA
<i>C. sporogenes</i> ATCC 1437	5/5	5/5	NA	5/5	5/5	NA
INOCULO 6 UFC	Medios en ausencia de medicamento			Medios con presencia de medicamento		
	Hemocultivo	TG	TSB	Hemocultivo	TG	TSB
<i>A. niger</i> ATCC 16404	5/5	NA	5/5	5/5	NA	5/5
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	5/5	NA	5/5	5/5	NA	5/5
<i>C. albicans</i> ATCC10231	5/5	NA	5/5	5/5	NA	5/5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5/5	5/5	NA	5/5	5/5	NA
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	5/5	5/5	NA	5/5	5/5	NA
<i>C. sporogenes</i> ATCC 1437	5/5	5/5	NA	5/5	5/5	NA

Tabla 1: Resultados medio tradicional Vs sistema de hemocultivo.

TIEMPOS DE DETECCIÓN EN HORAS					
Microorganismo	Sin medicamento	Con medicamento	Microorganismo	Sin medicamento	Con medicamento
A. niger ATCC 16404	50,16	52,32	P. aeruginosa ATCC 9027	19,20	18,96
	51,36	51,12		19,44	18,96
	54,00	54,96		19,44	18,72
	55,68	56,64		19,20	18,72
	57,36	45,84		18,96	18,00
B. subtilis ATCC 6633	14,64	15,36	S. aureus ATCC 6538	18,96	19,68
	15,84	15,12		19,44	19,92
	15,36	15,12		19,44	19,2
	15,84	15,84		20,64	19,44
	15,84	15,12		20,16	19,68
C.albicans ATCC10231	41,27	42,72	C. sporogenes ATCC 1437	21,36	23,04
	40,25	40,56		20,88	27,36
	45,32	44,88		23,28	26,16
	43,65	44,64		21,60	21,60
	44,20	44,40		24,96	22,56

Tabla 2: Tiempos de detección de microorganismos en Bact/Alert.

TIEMPO MEDIO DE DETECCION			
CEPA	SIN MEDICAMENTO	CON MEDICAMENTO	Valor P
A. Níger	53,71	52,18	0,52
B. subtilis	15,50	15,31	0,50
C. albicans	42,94	43,44	0,70
P. aeruginosa	19,25	18,67	*0,02
S. aureus	19,73	19,58	0,66
C. sporogenes	22,42	24,14	0,23

Tabla 3: Tiempos medios de detección en Bact/Alert.

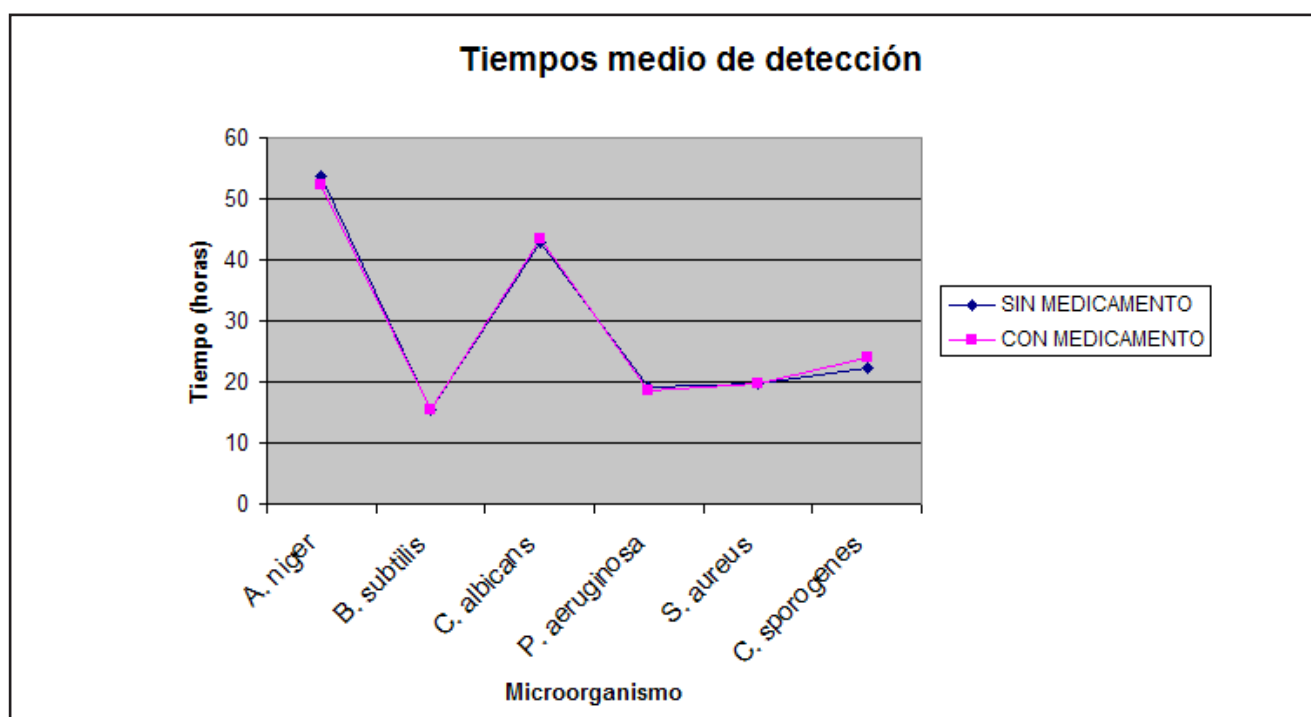


Fig. 2 Comparativa de tiempos medios de detección en presencia y ausencia de medicamento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. European Pharmacopoeia 7.0 01/2008 2/6/27 Microbiological control of cellular products.
2. European Pharmacopoeia 7.0 01/2008:20601 2.6.1. Sterility test
3. Literatura técnica e instrucciones de uso del incubador lector de frascos de hemocultivo Bact/Alert.
4. Literatura técnica e instrucciones de uso de BioBall®, (BioMerieux, Francia).
5. Almuhayawi M, Altun O, Abdulmajeed AD, Ullberg M, Özenci V. The Performance of the Four Anaerobic Blood Culture Bottles BacT/ALERT FN, -FN Plus, BACTEC-Plus and -Lytic in Detection of Anaerobic Bacteria and Identification by Direct MALDI-TOF MS. PLoS ONE. 2015; 10(11): e0142398.
6. Bugno A, Lira RS, Oliveira WA, Almodovar AAB, Saes DPS, de Jesus Andreoli Pinto T. Application of the BacT/ALERT® 3D system for sterility testing of injectable products. Brazilian Journal of Microbiology. 2015; 46(3):743-747.
7. Ericson EL, Klingspor L, Ulbberg M, Özenci V. Clinical comparison of the Bactec Mycosis IC/F, BacT/Alert FA, and BacT/Alert FN blood cultures vials for the detection of candidemia. Diagnostic Microbiology and Infect Disease. 2012; 73:153-156.
8. Khuu HM, Patel N, Carter CS, Murray PR, Read EJ. Sterility testing of cell therapy products: parallel comparison of automated methods with a CFR-compliant method. Transfusion. 2006; 46: 2071–2082.
9. Kielpinski G, Prinzi J, Duguid J, du Moulin G. Roadmap to approval: use of an automated sterility test method as a lot release test for Carticel®R, autologous cultured chondrocytes. Chemotherapy. 2005; 7:531-541.
10. Parveen S, Kaur S, David SA, Kenney JL, McCormick WM, Gupta RK. Evaluation of growth based rapid microbiological methods for sterility testing of vaccines and other biological products. Vaccine. 2011; 29:8012- 8023.

Estudio del tratamiento quirúrgico mediante cierre precoz de ileostomía en cáncer de recto: impacto en la calidad de vida, descenso de morbilidad y gasto sanitario

Study surgical treatment of early closing of ileostomy in rectal cancer: impact on the quality of life, morbidity and mortality and health spending

Tania Gallart Aragón, Carolina Fernández Lao, Carlos Garde Lecumberri, Benito Mirón Pozo, Francisco Pérez Benítez, José Antonio Jiménez Ríos
Servicio Cirugía General Hospital San Cecilio de Granada.
Universidad de Granada, Facultad de Fisioterapia.

Resumen

Introducción: Los pacientes sometidos a cirugía de recto con anastomosis bajas y que portan ileostomías de protección, ven prolongado el intervalo entre la realización del estoma y la cirugía de reconstrucción a veces durante meses, mientras dure el tratamiento adyuvante. El objetivo de este estudio es valorar el impacto de la calidad de vida, modificaciones en la morbilidad y el gasto sanitario ante el cierre de la ileostomía previo al tratamiento adyuvante.

Material y métodos: Revisión retrospectiva. Se analizaron los pacientes sometidos a cierre de ileostomía entre enero 2012 y diciembre de 2013. El número de pacientes estudiado ha sido de 55: 41 varones (74,54%) y 14 mujeres (25,45%). En 27 pacientes se realizó cierre de ileostomía al año de su creación y en 28 al mes. En ambos grupos se analizó la morbilidad, coste sanitario y calidad de vida, este último parámetro mediante la aplicación del cuestionario GIQLI de calidad de vida.

Resultados: El número de pacientes estudiado es 55. La edad media 63,83 años. Los pacientes con cierre precoz de ileostomía presentaron una estancia media hospitalaria menor, 11,87 días respecto a los pacientes con cierre anual, 14,96 días, descendiendo así el coste sanitario. El 18,33 % de los pacientes con cierre precoz de ileostomía presentó íleo postoperatorio frente a un 65,3% del cierre tardío. La calidad de vida (bienestar total) valorada en pacientes con cierre precoz ha sido de un 61, 2% frente a un 33,44 % en pacientes con cierre tardío.

Conclusiones: La realización de ileostomías de protección en las anastomosis rectales bajas ha demostrado ser una medida preventiva eficaz para disminuir la morbilidad de las dehiscencias de las mismas. El cierre precoz de la ileostomía reduce el íleo postoperatorio, la estancia media hospitalaria, mejora la calidad de vida y el coste sanitario.

Abstract

Introduction: Patients undergoing rectal surgery with low anastomosis and carrying ileostomy protection, can see extended the interval between placing the stoma and the reconstructive surgery, sometimes during months, while the adjuvant treatment is being developed. The aim of this study was to assess the impact on the Quality of Life, changes in morbidity and mortality and health costs before the closure of the ileostomy prior to the adjuvant treatment.

Material and methods: Retrospective study. 55 patients underwent closure of the ileostomy between January 2012 and December 2013 were studied. The sample consisted on 41 (74.54%) men and 14 (25.45%) women. In 27 Patients the closure of the ileostomy was performed in 1 year from its creation and in 28 patients was closed in one month. Morbidity and mortality, medical cost and Quality of Life were analyzed.

Results: The average age was 63.83 years. Patients with early closure of ileostomy had a mean hospital stay lower, 11.87 days compared to patients with annual closure, 14.96 days, and so descending health costs. 18, 33% of patients with early closure of ileostomy presented postoperative ileus against the 65.3% of late closure. Quality of Life in Patients with early closure has been assessed 61, 2% compared to 33.44% in patients with late closure.

Conclusions: Performing protection ileostomy in low rectal anastomosis has proven to be a preventive effective measure in reducing morbidity and mortality dehiscence. Early closure of the ileostomy reduces postoperative ileus, the average of hospital stay, and improves quality of life and health costs.

Palabras clave: Cáncer de recto, ileostomía, calidad de vida.

Keywords: Rectal cancer, ileostomy, quality of life

INTRODUCCIÓN:

El uso de la ileostomía en el cáncer de recto tras neoadyuvancia (radioterapia), nos permite la protección de la anastomosis. Sin embargo, las ileostomías no están desprovistas de inconvenientes, ya que suponen una disminución de la calidad de vida de los pacientes, alterando su imagen corporal, su estilo de vida y sexualidad y presentan una morbilidad no despreciable: alteraciones hidroelectrolíticas, hernia paraestomal, fístula intestinal, alteraciones cutáneas... Además los pacientes que reciben tratamiento adyuvante ven prolongado el intervalo de tiempo entre la realización del estoma y la cirugía de reconstrucción, a veces durante meses (1,3).

Si realizamos un cierre precoz de la ileostomía, previo al tratamiento adyuvante (al mes de la cirugía rectal) se reducen las tasas de complicaciones, descendiendo la morbilidad, esto se traduce en una reducción de la estancia hospitalaria y el coste sanitario y mejora en la calidad de vida de nuestros pacientes.

La evaluación de la calidad de vida del paciente permite el análisis de la eficacia de las intervenciones sobre la salud, el conocimiento de dicha calidad de vida, y la mejora de la misma, nos permite mejorar en nuestro plan terapéutico y conocer las implicaciones económicas del proceso asistencial (2,4).

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio retrospectivo. Los datos fueron recogidos a partir de un archivo histórico de los pacientes intervenidos de forma programada en el Servicio de Cirugía General. Se incluyeron a todos los pacientes sometidos a cierre de ileostomía en Hospital San Cecilio de Granada, en la Unidad de Coloproctología, en un periodo comprendido entre 1 de enero de 2012 a 31 de diciembre de 2013. Los parámetros analizados fueron: datos sociodemográficos, antecedentes personales, intervención quirúrgica, complicaciones postoperatorias, reingresos, coste sanitario, estancia media de ingreso, requerimiento de aporte nutricional y test de calidad de vida GIQLI (Gastrointestinal Quality of Life Index), (21) (el cual valora el bienestar gastrointestinal, físico, mental y social).

Se ha considerado cierre de ileostomía precoz cuando se ha realizado a la cuarta semana postoperatoria y tardío cuando se realiza tras finalizar la adyuvancia.

Se procedió al cierre del estoma cuando los pacientes cumplían los siguientes criterios: ausencia de infección local o sistémica, ausencia de complicaciones de la cirugía rectal, funcionamiento normal del estoma y ausencia de fuga anastomótica.

Todos los pacientes fueron intervenidos de forma programada y con anestesia general. Además, todos recibieron profilaxis antibiótica con cefazolina previa a la cirugía. La vía de abordaje fue incisión periestomal, se realizó desinserción de la ileostomía y refrescamiento de los bordes. La anastomosis se realizó en 47 casos de forma manual, con material reabsorbible mediante puntos sueltos extramucosos y en 8 casos de forma mecánica con GIA® 60. Los pacientes fueron dados de alta médica hospitalaria cuando existió integridad del tránsito gastrointestinal (comprobación mediante estudio radiológico) y ausencia de complicaciones graves inmediatas.

Análisis estadístico

La comparación entre los dos grupos de estudio se realizó mediante un test de ANOVA para las variables cuantitativas y la prueba Ji2 de Pearson o exacta de Fisher para variables cualitativas. Se consideró como significación estadística una p inferior a 0,05.

RESULTADOS:

El número total de pacientes estudiado fue de 55, de los cuales 28 pacientes tuvieron un cierre precoz y 27 cierre tardío.

Del total de la muestra 41 (74,54%) eran varones y 14 (25,45%) mujeres. La edad media era de 63,83 años. El riesgo anestésico-quirúrgico según la clasificación de ASA (American Society of Anesthesiologists): el 49,4% de los pacientes fueron ASA II, el 14,6% ASA III y el 36% ASA I. El 16 % de los pacientes sufrieron complicaciones quirúrgicas, siendo la más frecuente la infección de la herida quirúrgica: 4,2 %.

Los resultados de las diferencias entre los grupos están detallados en la Tabla 1.

	Cierre precoz	Cierre tardío	Valor p
Días estancia hospitalaria (media)	11,87	14,96	0,03
Complicaciones (16% del total)			
Íleo postoperatorio (%)	18,33 %	65,3 %	0,18
Calidad de vida (bienestar total, %)	61,2 %	33,44 %	0,02
Valores expresados como media y porcentajes absolutos. Significación estadística, p<0,05.			

Tabla 1. Resultados de las diferencias entre los grupos de estudio.

DISCUSIÓN:

Las complicaciones en la cirugía colorrectal, han ido disminuyendo progresivamente, gracias a la creación de unidades especializadas. Una de las complicaciones más temidas en la cirugía colorrectal es la dehiscencia anastomótica (3,5,6). La realización de un estoma ha demostrado ser la única medida preventiva para disminuir la morbi-mortalidad de dicha complicación, no evitándola, pero sí disminuyendo su impacto y el número de reintervenciones (14,15).

El cirujano debe tener en cuenta el beneficio potencial de la ileostomía para la protección de la anastomosis y los inconvenientes de la misma, uno de los más importantes es la implicación sobre la calidad de vida del paciente (5,8,9).

Actualmente existe cierta controversia en cuanto al intervalo de tiempo óptimo entre la creación del estoma y su cierre. Dicho cierre se debe realizar, según la literatura, cuando la integridad de la anastomosis sea verificada, clínica o radiológicamente (7,10). Existen varias pruebas que nos pueden permitir la comprobación de la integridad de la anastomosis rectal, determinando posibles complicaciones como estenosis o fugas: radiología con gastrográfina, prueba que se realizó en nuestro estudio (17).

Otro de los puntos de discusión es el tipo de anastomosis a realizar en el cierre de la ileostomía, existen grupos que defienden una menor tasa de complicaciones asociadas a la anastomosis mecánica frente a la manual (6,9,11), sobre todo de obstrucción intestinal. Sin embargo, otros estudios, no encuentran ningún tipo de diferencias (12). En nuestro estudio el predominio es de anastomosis manuales.

Al ser menor la estancia operatoria con el cierre precoz de ileostomía se produce un descenso del coste sanitario del 20%, dato que se corresponde con la literatura (11,13,20).

Cuando se ha procedido al cierre de la ileostomía de forma precoz el paciente es valorado de forma individual y diaria. Uno de los aspectos fundamentales es la restauración del tránsito gastrointestinal y el aporte nutricional del paciente, comprobándose en nuestro estudio que es más temprana cuando el cierre es precoz (16,18,19), asociando a esto el tiempo de hospitalización

y el coste sanitario del mismo. La reanudación precoz a las actividades de la vida diaria del paciente y la ausencia de estoma, permiten una mejora notable en su calidad de vida (13,18,20).

CONCLUSIONES:

La realización de ileostomías de protección en las anastomosis rectales bajas ha demostrado ser una medida preventiva eficaz para disminuir la morbilidad y mortalidad de las dehiscencias de las mismas. Su cierre no debe considerarse un procedimiento menor. El cierre precoz de la ileostomía reduce el íleo postoperatorio, la estancia media hospitalaria, mejora la calidad de vida y el coste sanitario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Courtier R, Parés D, Silva CA, Gil MJ, Pascual M, Alonso S, et al. Clinical results of loop ileostomy closures in rectal cancer surgical patients. Effect of chemotherapy in the waiting period. *Cir Esp* 2010; 88(5):308-13.
2. Thalheimer A, Bueter M, Kortuem M, Thiede A, Meyer D. Morbidity of temporary loop ileostomy in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2006;49(7):1011-7.
3. Wong KS, Remzi FH, Gorgun E, Arrigain S, Church JM, Preen M, et al. Loop ileostomy closure after restorative proctocolectomy: outcome in 1,504 patients. *Dis Colon Rectum* 2005;48(2):243-50.
4. Smedh K, Olsson L, Johansson H, Aberg C, Andersson M. Reduction of postoperative morbidity and mortality in patients with rectal cancer following the introduction of a colorectal unit. *Br J Surg* 2001; 88(2):273-7.
5. Peeters KC, Tollenaar RA, Marijnen CA, Klein Kranenbarg E, Steup WH, Wiggers T, et al. Dutch Colorectal Cancer Group. Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer. *Br J Surg* 2005;92(2):211-6.
6. Gastinger I, Marusch F, Steinert R, Wolff S, Koeckerling F, Lippert H; Working Group 'Colon/Rectum Carcinoma'. Protective defunctioning stoma in low anterior resection for rectal carcinoma. *Br J Surg* 2005;92(9):1137-42.
7. Alves A, Panis Y, Lelong B, Dousset B, Benoist S, Vicaut E. Randomized clinical trial of early versus delayed temporary stoma closure after proctectomy. *Br J Surg* 2008;95(6):693-8.
8. Menegaux F, Jordi-Galais P, Turrin N, Chigot JP. Closure of small bowel stomas on postoperative day 10. *Eur J Surg* 2002;168(12):713-59. Perez RO, Habr-Gama A, Seid VE, Proscurshim I, Sousa AH Jr, Kiss DR, et al. Loop ileostomy morbidity: timing of closure matters. *Dis Colon Rectum* 2006;49(10):1539-45. 1
9. Carlsen E, Bergan AB. Loop ileostomy: technical aspects and complications. *Eur J Surg* 1999;165(2):140-3.
10. Chude GG, Ravate NV, Patris V, Koshariva M, Jagad R, Kawamoto J, et al. Defunctioning loop ileostomy with low anterior resection for distal rectal cancer: Should we make an ileostomy as a routine procedure. A prospective randomized study. *Hepatogastroenterology*. 2008;55:1562-7.
11. Rondelli F, Reboldi P, Rulli A, Barberini F, Guerrisi A, Izzo L, et al. Loop ileostomy for fecal diversion after colorectal or coloanal anastomosis: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2009;24:479-88.
12. Tang CL, Seow-Choen F, Fook-Chong S, Eu KW. Bioresorbable adhesion barrier facilitates early closure of the defunctioning ileostomy after rectal excision: A prospective, randomized trial. *Dis Colon Rectum*. 2003;46:1200-7.
13. Shabbir J, Britton DC. Stoma complications: A literature overview. *Colorectal Dis*. 2010;12:958-64.
14. Perez RO, Habr-Gama A, Seid VE, Proscurshim T, Sousa AH, Kiss DR, et al. Loop ileostomy morbidity: Timing of closure matters. *Dis Colon Rectum*. 2006;49:1539-45.
15. Thalheimer A, Bueter M, Kortuem M, Thiede A, Meyer D. Morbidity of temporary loop ileostomy in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2006;49:1011-7.
16. Wijesuriya SR, Hewavisenthi J, Deen KI. Patients with rectal cancer having neoadjuvant chemoradiation do not have increased complications of ileostomy closure. *Ceylon Med*. 2010;55:115-7.
17. Ruiz MD, Durán MC, Rivera S y cols. Calidad de vida y necesidades de personas ostomizadas y sus cuidadores. *Rev ROL Enf* 2003; 26: 309-14.
18. Turnbull GB, Colwell J, Erwin-Toth P. Quality of life : pre, post and beyond ostomy surgery. Clinician strategies for helping people with a stoma lead healthy productive lives. *Ostomy Wound Management* 2004; 50: 2-12.
19. Furlani R, Ceolim MF. Living with a permanent intestinal stoma: changes told by stoma patient. *Rev Bras Enferm* 2002; 55: 586-91.
20. Eypasch E, Williams JJ, Wood-Dauphinee S, Ure BM, Schmülling C, Neugebauer E, et al. Gastrointestinal Quality of Life Index: development, validation and application of a new instrument. *Br J Surg* 1995;82:216-22.

Hábitos de exposición solar, prácticas de fotoprotección, conocimientos y actitudes de los adolescentes andaluces

Sun exposure habits, sun protection practices, knowledge and attitudes of andalusian teenagers

Teresa Fernández-Morano^{1,2}, Magdalena de Troya-Martín^{1,3}, Francisco Rivas-Ruiz^{3,4}, Agustín Buendía-Eisman⁵

¹ Departamento de Dermatología. Hospital Costa del Sol, Marbella, España.

² Doctorando de la Universidad de Granada en el programa de Medicina Clínica y Salud Pública. Granada. España.

³ Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas – REDISSEC España.

⁴ Departamento de Investigación, Hospital Costa del Sol, Marbella, España.

⁵ Área de Dermatología. Departamento de Medicina. Facultad de Medicina. Universidad de Granada, Granada, España.

Resumen

La historia de quemaduras solares y la exposición solar acumulativa durante la infancia y la adolescencia son los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de cáncer de piel. Se conoce que el 85% de esta neoplasia podría evitarse reduciendo la exposición solar, especialmente durante la adolescencia. En este grupo de edad se han intensificado las prácticas de riesgo relacionadas con la exposición solar, motivadas por el deseo del bronceado, el tiempo que pasan al aire libre, la baja percepción del riesgo a desarrollar cáncer de piel y la falta de control paterno. Las campañas de prevención de cáncer de piel tienen como objetivo mejorar los hábitos de exposición solar, reducir las quemaduras solares y la incidencia de cáncer de piel. Los adolescentes son un grupo prioritario al que debe ir dirigida esta campaña. En el presente trabajo se realiza un recorrido por los hallazgos más significativos sobre los hábitos de exposición solar, las prácticas de protección solar, las actitudes y comportamientos de riesgo de los adolescentes, de las intervenciones educativas que se han llevado a cabo en Andalucía y las perspectivas futuras.

Abstract

A history of sunburn and cumulative sun exposure during childhood and adolescence are the most important risk factors for the development of skin cancer. Nevertheless, 85% of the cases of skin cancer could be prevented by reducing sun exposure, particularly during adolescence. In fact, persons in this age group have now increased their sun exposure practices, motivated by the desire for a suntan, and the fact that they spend more time outdoors, have a poor perception of the risk of developing skin cancer, and the lack of parental control. Skin cancer prevention campaigns aim to improve sun protection habits, and reduce sunburns and incidence of skin cancer. In this work, we do a summary about the most significant findings on the sun exposure habits, sun protection practices, attitudes and risk behaviors of adolescents, as well as, educational interventions that have been carried out in Andalusia and the future prospects.

Palabras clave: Adolescentes, Cáncer de piel, Quemaduras solares, Hábitos de exposición solar, Conocimientos, Actitudes

Keywords: Adolescents, Skin cancer, Sunburns, Sun exposure habits, Knowledge, Attitudes

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la incidencia de melanoma cutáneo se ha incrementado de manera constante y marcada en Europa, particularmente en la población caucásica (1). En España, la incidencia se ha triplicado alcanzando la tasa más elevada conocida entre el periodo de 1998-2002 (2). Este aumento de incidencia se ha atribuido a los cambios en el estilo de vida. Se ha incrementado la ex-

posición solar intermitente debido a las actividades recreativas, al deseo del bronceado y al empleo del periodo vacacional en países de climas sub/tropicales o en lugares de alta altitud. La reducción de la capa de ozono y el aumento consecuente de radiación solar ha empeorado aún más la situación (1).

La historia de quemaduras solares y la exposición solar acumulativa durante la infancia y la adolescencia son los factores de

riesgo más importantes para el desarrollo de cáncer de piel (3,4). Se conoce que el 85% de esta neoplasia podría evitarse reduciendo la exposición solar, especialmente durante la adolescencia, siendo el grupo de edad que más se beneficia de las campañas de prevención primaria (5). En este grupo de edad se han intensificado las prácticas de riesgo relacionadas con la exposición solar, motivadas por el deseo del bronceado, el tiempo que pasan al aire libre, la baja percepción del riesgo a desarrollar cáncer de piel y la falta de control paterno.

Andalucía, situada al sur de España, cuenta con una extensión de 87.597 km², que equivale al 17,3% del territorio español y de extensión superior a países como Bélgica, Holanda, Dinamarca, Austria o Suiza. La temperatura media anual es superior a 16 °C. Presenta una gran variabilidad geográfica, ya que dispone de paisajes montañosos y costa en el mar Atlántico y Mediterráneo con un marcado carácter turístico y de ocio. Los adolescentes pasan gran parte de su tiempo al aire libre, además de realizar deportes de exterior tanto acuáticos como en la montaña.

Para abordar la cuestión, hemos realizado una revisión de la literatura en MEDLINE a través del servidor de internet PubMed y en el Índice Médico Español, entre los años 1999 y 2016. Se seleccionaron los artículos que versaban sobre el tema, escogiendo los que se centraban en la adolescencia. Hemos excluido a niños menores de 10 años. Se ha realizado un recorrido por los hallazgos más significativos sobre los hábitos de exposición solar, las prácticas de protección solar, las actitudes y comportamientos de riesgo de los adolescentes, de las intervenciones educativas que se han llevado a cabo en Andalucía y las perspectivas futuras.

En este trabajo, hemos evaluado estudios realizados a los adolescentes en Andalucía (6-13). Los estudios se centraban en dos tipos de perspectivas diferentes; por un lado, el estudio de la incidencia de la fotoprotección, sus tipos y la quemadura solar, con sus factores asociados fundamentalmente de tipo sociodemográfico; por el otro, un tipo de literatura cuya línea de trabajo son los modelos psicosociales que explican la conducta fotoprotectora y el papel de creencias, actitudes, conocimientos e intenciones como factores que influyen en la conducta fotoprotectora. Solo tres estudios fueron de intervención; los demás son estudios de tipo observacional, cortes transversales de una población en un momento determinado (Tabla 1, página 36).

La mayoría de los estudios utilizaron cuestionarios, algunos de ellos se obtuvieron por internet (8) y otros fueron estudios de observación directa (6,7,9-13). El tamaño de muestra fue muy variado, entre 228 y 2170. La mayor dificultad para poder compararlos estriba en su heterogeneidad a la hora de definir operacionalmente la variable quemadura, la estación del año en la que se recoge su incidencia o los ítems relacionados con las actitudes que son diferentes entre los estudios.

CUERPO DE REVISIÓN

Hábitos de exposición solar y quemaduras solares

Los adolescentes permanecen gran parte de su tiempo expuestos a la radiación ultravioleta. El ámbito del estudio ha sido el sur de España, por ello es habitual que los adolescentes acudan frecuentemente a las playas, realicen actividades o deportes de exterior en zonas deportivas o escolares y empleen gran parte de su tiempo al sol. Las tasas de quemaduras solares son elevadas y alarmantes en los adolescentes. El porcentaje de quemaduras solares oscila entre el 74.4% y el 43% (6-13). En Andalucía, los fototipos altos son los que predominan, al contrario de lo que ocurre al norte de España (14). Aún así, refieren frecuentes episodios de quemaduras solares, posiblemente porque al sur del país los niños permanezcan más tiempo al sol a lo largo del año y no sólo durante el periodo estival. La playa es el lugar elegido por la mayoría de los encuestados para tomar el sol (6-13). Otros lugares donde se han registrado los hábitos de exposición solar son en zonas deportivas (6)

En uno de los estudios, el 71% de los encuestados acudía más de 16 días por término medio a la playa, el 67% permanecía más de una hora y el 62.2% más de una hora en horas centrales del día (7). En otro estudio el 81% de los participantes informaron que permanecen más de 1 hora en horas de máxima radiación solar (12). Un estudio de adolescentes andaluces describió que aquellos que se exponían al sol al medio día eran los que presentaban más quemaduras solares: un 54.9% sufrían quemaduras entre las 16:00 y las 18:00 y un 44.9% entre las 12:00 y las 14:00 (9).

Prácticas de protección solar

Los 6 comportamientos de fotoprotección recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) son los siguientes (15): ponerse a la sombra, usar gafas de sol, usar sombrero o gorra, llevar ropa de manga larga o pantalón largo, evitar el sol en horas centrales del día (entre las 11:00 y las 17:00) y utilizar crema de protección solar alta (factor de protección solar mayor o igual a 15).

El uso de crema es la medida de protección solar más habitual, sin embargo no es la mejor medida ni la única. El porcentaje es similar entre los estudios, y aunque sea la más usada (siempre o casi siempre), pero no alcanzan el 50%. Se han descrito quemaduras solares en los usuarios de las cremas y esto puede estar relacionado con el uso incorrecto de la crema, ya sea por la falta de reaplicación cada 2 horas o por no aplicarla 20 minutos antes de la exposición solar (16) o bien porque utilizan las cremas para aumentar el tiempo de exposición solar y todo ello puede incrementar el riesgo (17,18).

Un dato interesante es la diferencia del uso de crema según sexo, de tal forma que las chicas suelen usar más cremas que los chicos (5,19), sin embargo en los estudios de adolescentes andaluces son los chicos los que más la usan (7,8).

El resto de medidas físicas (gorras, sombrilla o permanecer a la sombra, gafas de sol, y ropa) fueron menos usadas por los adolescentes que las cremas, siendo un porcentaje inferior al 40% en la mayoría de los estudios, excepto en el estudio realizado por Buendía y col. que permanecían a la sombra hasta un 46.3% de los participantes (8). Otro dato llamativo es la ropa (camiseta de manga larga o pantalón largo) que es la medida menos usada por los adolescentes siendo inferior al 3% en la Costa del Sol (7,12) pero alcanzan unas cifras del 21.5% (6) y 25.5% en los adolescentes de Granada (8). Esta diferencia puede estar influenciado por el clima y por la geografía.

Con respecto a las medidas horarias (evitar el sol al medio día), los porcentajes son similares, oscilando entre el 19.9% y el 39% de los participantes (6,7,12).

Actitudes relacionadas con el sol y el bronceado

A los jóvenes les gusta tomar el sol y consideran el bronceado como sinónimo de belleza y salud, por tanto, se debe incidir en mejorar las actitudes principalmente disminuyendo el deseo del bronceado. El 70% de los adolescentes les gusta tomar el sol (siendo más frecuente en las chicas) y el 72% consideran que al estar morenos la ropa les sienta mejor (también mayor en las chicas) (7). Estas actitudes positivas frente al sol y el bronceado se repiten en otros estudios de adolescentes andaluces (11-13).

Sin embargo también se han descrito que los adolescentes tienen actitudes positivas frente a la protección solar (les merece la pena usar cremas para prevenir problemas en el futuro, merece la pena usarlas aunque no se pongan morenos y cuando acuden a las playas prefieren estar en la sombra) (11). Este dato es interesante ya que los adolescentes contemplan los posibles efectos de la excesiva exposición solar sobre la salud. Sin embargo, permanecen largos periodos de tiempo expuesto al sol y probablemente se debe a que están experimentando una disonancia cognitiva (20). Una forma de reducir esta disonancia es considerar el riesgo-beneficio que tiene exponerse al sol, es decir, si le merece la pena continuar con la actitud de riesgo de estar bronceado y ser atractivo, teniendo en cuenta que en el futuro este balance riesgo-beneficio cambiará y

los efectos nocivos de la exposición serán más importantes que la apariencia.

Otra explicación podría que ser la baja susceptibilidad del riesgo de enfermar que perciben los adolescentes. Conocen la información de la exposición solar y el cáncer de piel, pero su sentimiento de invulnerabilidad en lo referente a su salud, la influencia de sus amigos y las modas hacen que finalmente prevalezca el deseo del bronceado y el atractivo físico (21).

Se ha descrito que las quemaduras solares en adolescentes aumentaron cuanto mayor era la actitud hacia el bronceado (22) y disminuyeron cuanto mayor era la actitud de protección solar (23). Además las conductas de protección solar de los adolescentes dependen de las actitudes y comportamientos de sus padres y amigos y de la aceptación social de las medidas de protección (24).

Conocimientos sobre el cáncer de piel y su prevención

Los conocimientos de los adolescentes sobre la relación entre la exposición solar y el riesgo de desarrollar cáncer de piel parecen buenos. Algunos de ellos podrían mejorarse, como el conocimiento erróneo sobre el papel protector ilimitado de las cremas que pueden llevar a prolongar el tiempo de exposición y por tanto el mayor riesgo de quemaduras solares (17,18).

En los estudios se describen que a pesar de tener conocimientos sobre el cáncer de piel, presentan malos hábitos y utilizan pocas medidas de protección solar (25). Sin embargo según los resultados del estudio reciente de actitudes, se obtuvieron que aquellos adolescentes con mejores conocimientos asociaban actitudes positivas frente a la protección y el uso de crema (11). Por tanto, pensamos que el conocimiento sobre el cáncer de piel es un precursor esencial para modificar las actitudes y el comportamiento de protección. Las campañas de prevención deben incluir conocimientos para promover actitudes positivas de protección solar (26).

Intervenciones educativas realizadas en Andalucía

En general las intervenciones para reducir la exposición solar son diversas. Teniendo en cuenta esta complejidad, podríamos dividirlas en tres grupos. En primer lugar las estrategias individuales, en las que se realizan intervenciones informativas y conductuales dirigidas a individuos o pequeño grupo de individuos. En este grupo se incluyen colegios o centros de Salud.

Otra son las intervenciones políticas y ambientales, que tratan de proporcionar información y mantener un entorno físico y social que apoyen y promuevan las prácticas de protección solar. En ellas se incluyen la ampliación de lugares con sombras, proporcionar cremas de protección solar e informar sobre los riesgos del cáncer de piel y sobre su prevención. Las políticas establecen reglas o normas que organizan estas acciones y exigen requisitos legales o restricciones en relación a las medidas de prevención. El tercer grupo lo componen las campañas mediáticas que utilizan medios impresos (periódicos, revistas), radio, televisión e internet para difundir información sobre buenos hábitos de fotoprotección. Y por último, las intervenciones multicomponentes, que combinan elementos de los otros tres tipos de estrategias en un esfuerzo integrado en un área geográfica definida (27).

Las intervenciones en los colegios que van dirigidas a adolescentes incluyen al menos una de éstas actividades (28): proporcionar información, realizar actividades adicionales que influyan en el comportamiento del adolescente (por ejemplo role playing), realizar actividades dirigidas a educadores (profesores o padres) y desarrollar e implantar políticas de protección solar en las escuelas.

Hay numerosas campañas de prevención primaria que tienen como objetivo mejorar los comportamientos en relación a la protección solar como las que se han llevado a cabo en USA (29), Australia (30) y Gran Bretaña (31). En España, algunos programas locales se han desarrollado en el ámbito escolar, con escasa eficacia debido a su limitada cobertura o a la falta de adaptación a la población diana a la que van dirigidos (13,32).

En Andalucía, se han llevado a cabo intervenciones en Málaga (Costa del Sol) y Granada. En la Costa del Sol se realizó una intervención educativa a 270 adolescentes de 12 colegios. Se realizó en horario escolar, en un tiempo aproximado de 1 hora y media. Consistía en comunicar a través de una presentación con diapositivas, información sobre exposición solar, beneficios y riesgos del sol y además dar información sobre las medidas de protección solar con mensajes positivos. A continuación, se impartió un taller de cremas, los adolescentes conocieron el uso del dermatoscopio (33) y la regla del ABCDE para la detección precoz del melanoma, así como la visualización de videos didácticos. Como actividad motivadora añadida, cada clase elaboró un collage en el que se transmitían mensajes positivos y negativos sobre fotoprotección (10). Tras la intervención educativa se redujeron las quemaduras solares en los adolescentes, mejoraron los hábitos, las prácticas y hubo incluso algunos cambios de actitudes. Otro estudio realizado en Granada describen una intervención realizada en horario escolar durante 3 días. El primer día se les aportó información sobre los riesgos y beneficios del sol a través de diapositivas con una duración de 30 minutos. El segundo y tercer día se les entregaron videos didácticos, los alumnos realizaron juegos y trabajos educativos, se les aportaron folletos informativos y muestras de cremas. Tras la intervención, los alumnos mejoraron el comportamiento de protección solar (13). Otras intervenciones realizadas en Andalucía utilizan la plataforma web para llevarlas a cabo (8). Tras la intervención se han reducido las quemaduras solares y han mejorado el comportamiento de protección solar. Sin embargo, todas estas intervenciones no se han repetido en el tiempo y desconocemos si los cambios de comportamientos aún permanecen entre los adolescentes estudiados.

Un nuevo proyecto surge en el año 2009, en la Costa del Sol Occidental, enmarcado en el programa de la Campaña de Fotoprotección del Área Sanitaria Costa del Sol "Disfruta del Sol sin dejarte la Piel", que tiene como objetivos fomentar hábitos saludables de fotoprotección, impulsar el diagnóstico y tratamiento precoz, así como reducir la incidencia y costes del cáncer de piel. Va dirigida prácticamente a toda la población, como a los trabajadores de exterior, bañistas de playa, deportistas que practican deporte al aire libre, niños y adolescentes, personas con fototipos I y II (es decir aquellas personas que se queman fácilmente y no se broncean), personas que tienen más de 50 nevos, historia familiar de melanoma e inmunosupresión. Las líneas estratégicas que incluyen son la formación de profesionales sanitarios, intervenciones en escenarios de riesgo, educación en el ámbito escolar, estrategias de comunicación social e investigación epidemiológica (34). La campaña se ha iniciado en el ámbito escolar en el año 2014 y sus objetivos son sensibilizar a toda la comunidad escolar de los riesgos para la salud de una exposición solar excesiva, fomentar en el alumnado el desarrollo de conocimientos, actitudes y hábitos responsables de fotoprotección e implicar a los centros escolares en el desarrollo de políticas y normas de fotoprotección que mejoren la seguridad de toda la comunidad escolar.

CONCLUSIONES

Los adolescentes son un grupo de especial riesgo para el desarrollo de cáncer de piel en la vida adulta y es debido fundamentalmente a los malos hábitos, escasas medidas de protección solar que utilizan y las actitudes positivas frente al bronceado.

Son un grupo prioritario al que deben ir dirigidas las campañas de prevención del cáncer de piel y para que las estrategias sean eficaces es necesario disminuir el deseo de bronceado y potenciar las actitudes favorables de protección solar.

En Andalucía se están llevando a cabo estrategias en determinadas ciudades, si bien es necesario crear un proyecto más amplio que abarque a todas las provincias andaluzas.

La clave está en implicar a la comunidad escolar para que se desarrollen políticas de protección solar en las escuelas y los alumnos se eduquen en buenos hábitos desde la infancia.

AUTOR, AÑO, TIPO DE ESTUDIO	INSTRUMENTOS DE MEDIDA Y ANÁLISIS	RESULTADOS (HÁBITOS, PRÁCTICAS, ACTITUDES Y CONOCIMIENTOS)
Buendía-Eisman et al, 1999, Granada, estudio descriptivo.	Cuestionario. N =617 Edad: 11-16 años.	Porcentaje de quemaduras solares: 66% El 58% no usaban cremas. Buen nivel de conocimientos y malos hábitos.
Peña-Ortega et al, 2004, Granada, estudio descriptivo.	Cuestionario. N= 325 alumnos. Edad: 18- 29 años.	EL 39.07 % evitaba realizar actividades deportivas al medio día. El 43.69% se protegían del sol durante el verano. Uso de cremas siempre o casi siempre: 21.54%, gorra: 12.92% y ropa: 21.54%
Buendía Eisman et al, 2007, Granada, estudio cuasi-experimental pre y post- intervención con grupo control.	Cuestionario. N=367 Edad: 11-16 años	Tras la intervención, el grupo de casos mejoraba ampliamente los resultados en conocimientos, actitudes y conductas sanas con respecto al sol.
De Troya Martín et al, 2009, Costa del Sol Occidental, estudio de cohorte transversal.	Cuestionario. N 422 Edad: > 14 años (edad media de 33.9)	Porcentaje de quemaduras solares: 43.3% Uso de crema siempre o habitualmente: 40.3%, sombra 31.3%, gafas 32.2%, gorra 23.4%, ropa 2.4% y evitar el medio día 19.9%. Buen nivel de conocimientos Actitudes positivas hacia el sol y el bronceado.
Fernández-Morano et al, 2014, Costa del Sol Occidental, estudio descriptivo.	Cuestionario. N=270 alumnos. Edad: 14-17 años.	Porcentaje de quemaduras solares: 74.4% Uso de cremas siempre o habitualmente: 47.8%, sombrilla 35%, gafas 33.2%, evitar el medio día 28.5%, sombrero/gorra 7.2% y Ropa 1.1% Actitudes positivas frente al sol y el bronceado. Buen nivel de conocimientos.
Buendía- Eisman, et al, 2013, Andalucía, estudio cuasi-experimental con grupo control	Cuestionario. N= 2170. Edad: 12-16 años.	Porcentaje de quemaduras solares: 54.7% Crema siempre o casi siempre 36.70%, sombra 46.3%, ropa 25.5%, gorra 15.7%, gafas 14.7%. Buen nivel de conocimientos.
Fernández Morano et al, 2015, Costa del Sol Occidental, estudio cuasi-experimental pre y post- intervención	Cuestionario. N =228. Edad: 14-17 años	Tras la intervención se valoraron diferencias estadísticamente significativas en los hábitos, las quemaduras solares, las prácticas, las actitudes frente al sol y en los conocimientos
Fernández Morano et al, 2016, Costa del Sol Occidental, estudio transversal.	Cuestionario. N=270 Edad: 14-17 años	Las actitudes positivas frente al sol y el bronceado se asociaron a malos hábitos y menor uso de la crema. El uso de la crema se asoció en sentido positivo con las conductas de protección solar. Adecuados conocimientos se asociaron a actitudes positivas frente a la protección solar y uso de cremas.

Tabla 1. Resumen de estudios sobre hábitos de exposición solar, prácticas de fotoprotección y actitudes de los adolescentes en Andalucía (1999-2016)

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del equipo de investigación del Hospital Costa del Sol y al Programa del Doctorado de Medicina Clínica y Salud Pública de la Universidad de Granada.

BIBLIOGRAFÍA

- De Vries E, Bray FI, Coebergh JW, Parkin DM. Changing epidemiology of malignant cutaneous melanoma in Europe 1955-1997: rising trends in incidence and mortality but recent stabilizations in Western Europe and decreases in Scandinavia. *Int J Cancer*. 2003;107(1):119-26.
- Aceituno-Madera P, Buendía-Eisman A, Arias-Santiago S, Serrano-Ortega S. Evaluación de la incidencia del cáncer de piel en el periodo 1978-2002. *Actas Dermosifiliogr*. 2010;101(1):39-46.
- Bränmström R, Brandberg Y, Holm L, Sjöberg L, Ullen H. Beliefs, knowledge and attitudes as predictors of sunbathing habits and use of sun protection among Swedish adolescents. *Eur J Cancer Prev*. 2001;10(4):337-45.
- Jones SE, Saraiya M. Sunscreen use among US high school students, 1999-2003. *J Sch Health*. 2006;76(4):150-3.
- Livingston PM, White V, Hayman J, Dobbinson S. Sun exposure and sun protection behaviours among Australian adolescents: trends over time. *Prev Med*. 2003;37:577-84.
- Peña-Ortega M, Buendía Eisman A, Ortega del Olmo R, Serrano Ortega S. Hábitos de fotoprotección en la Facultad de Ciencias de la Educación Física y el Deporte de la Universidad de Granada. *Piel*. 2004;19(4):179-83.
- Fernández Morano T, De Troya- Martín M, Rivas-Ruiz F, Del Boz-González J, Fernández Peñas P, Buendía- Eisman A. Behaviour, attitudes and awareness concerning sun exposure in adolescents on the Costa del Sol. *Fernández-Morano Eur J Dermatol* 2014; 24(1): 85-93.
- Buendía-Eisman A, Arias- Santiago S, Moreno-Gimenez JC, Cabrera-León A, Prieto L, Castillejo I, et al. An Internet-based programme to promote adequate UV exposure behaviour in adolescents in Spain. *J EADV* 2013, 27, 442-53.
- Buendía-Eisman A, Ferche-Fernández E, Serrano Ortega S. Awareness, attitudes and behaviour of teenagers to sunlight. *Eur J Dermatol* 1999;9:207-10.
- Fernández-Morano T, de Troya-Martín M, Rivas-Ruiz F, Blázquez-Sánchez N, Buendía-Eisman A. Sensitivity to change of Beach Questionnaire on behaviour, attitudes and knowledge related to sun exposure: quasi-experimental before-after study. *BMC Public Health*. 2015;31:15:60.
- Fernández Morano T, Rivas-Ruiz F, De Troya-Martín M, Blázquez-Sánchez N, Padilla Ruiz M, Buendía-Eisman A. Adolescents' attitudes to sun exposure and sun protection. *J Cancer Educ* 2016 [In press]
- De Troya Martín M, Blázquez-Sánchez N, Rivas-Ruiz F, Fernández-Canedo I, Rupérez-Sandoval A, Pons-Palliser J, et al. Validation of a Spanish questionnaire to evaluate habits, attitudes, and understanding of exposure to sunlight: "the beach questionnaire". *Actas Dermosifiliogr*. 2009 Sep;100(7):586-95.
- Buendía-Eisman A, Ferche-Fernández E, Muñoz-Negro JE, Cabrera-León A, Serrano-Ortega S. Evaluation of a school intervention program to modify sun exposure behaviour. *Actas Dermosifiliogr*. 2007 Jun;98(5):332-44.
- Junquera-Llaneza ML, Nosti-Martínez D, Rodríguez-Díaz E, Junquera-Llaneza B, Fernández-Bustillo E, Rendueles-Meléndez C, Sánchez del Río J. Conocimientos, actitudes y prácticas de los adolescentes en torno a los efectos nocivos del sol y la fotoprotección. *Actas Dermosifiliogr*. 1998;89:247-52.
- World Health Organization. Global solar UVindex: Practical guide. Geneva: World Health Organization; 2002. p. 1-18.
- Buendía-Eisman A, Conejo-Mir J, Prieto L, Castillejo I, Moreno-Gimenez JC, Arias-Santiago S. Buen Rayito Study": awareness, attitudes and behavior of teenagers to sunlight through a web based system in Spain. *Eur J Dermatol*. 2013 Jul-Aug;23(4):505-9.
- Branström R, Ullen H, Brandberg Y. Attitude, subjective norms and perception of behavioural control as predictors of sun related behaviour in Swedish adults. *Prev Med*. 2004; 39:992-9.
- Kristjansson S, Ullen H, Helgason AR. The importance of assessing readiness to change sun protection behaviours: a population based study. *Eur J Cancer*. 2004;2004;2773-80.
- Geller AC, Colditz G, Oliveria S, Emmons K, Jorgensen C, Aweh GN, et al. Use of sunscreen, sunburning rates and tanning bed use among more than 10000 US children and adolescents. *Pediatrics*. 2002;109(6):1009-14.
- Festinger L. 1957. A Theory of Cognitive Dissonance. Row-Peterson, Stanford.
- Hayes D, Ross CE. Concern with appearance, health beliefs, and eating habits. *Journal of Health and Social Behavior* 1987; 28: 120-30.
- Davis KJ, Cokkinides VE, Weinstock MA, O'Connell MC, Wingo PA. Summer sunburn and sun exposure among US youths ages 11 to 18: national prevalence and associated factors. *Pediatrics*. 2002;110:27-35.
- Alberg AJ, Herbst RM, Genkinger JM, Duszynski KR. Knowledge, attitudes, and behaviors toward skin cancer in Maryland youths. *J Adolesc Health*. 2002;31(4):372-7.
- Balanda KP, Stanton WR, Lowe JB, Purdie J. Predictors of sun protective behaviors among school students. *Behav Med*. 1999;25(1):28-35.
- Mermelstein RJ, Riesenber. Changing knowledge and attitudes about skin cancer risk factors in adolescents. *Health Psychol*. 1992;11(6):371-6.
- Day AK, Wilson CJ, Hutchinson AD, Roberts RM. The role of skin cancer knowledge in sun-related behaviours: A systematic review. *Journal of Health Psychology* 2014, Vol. 19(9) 1143- 62.
- Saraiya M, Glanz K, Briss PA, Nichols P, White C, Das D, et al. Interventions to prevent skin cancer by reducing exposure to ultraviolet radiation A systematic review. *Am J Prev Med* 2004;27:422-44.
- Coogan PF, Geller A, Adams M, Benjes LS, Koh HK. Sun protection practices in preadolescents and adolescents: a school-based survey of almost 25,000 Connecticut schoolchildren. *J Am Acad Dermatol*. 2001 Mar;44(3):512-9.
- Iverson DC, Scheer JK. School-based cancer education programs: an opportunity to affect the National Cancer Program. *Health Values* 1982;6:27-35.
- Rassaby J, Larcombe I, Hill D, Wake FR. Slip, Slop, Slap: health education about skin cancer. *Cancer Forum* 1992;7:63-9.
- Horsley L, Charlton A, Wiggett C. Current action for skin cancer risk reduction in English schools: a report on a survey carried out for the Department of Health. *Health Educ Res* 2000;15(3):249-59.
- Gilaberte Y, Alonso JP, Teruel MP, Granizo C, Gállego J. Evaluation of a health promotion intervention for skin cancer prevention in Spain: the Solsano program. *Health Promot Int* 2008; 23: 209-19.
- Liebman TN, Goulart JM, Soriano R, Dusza SW, Halpern AC, Lee KK, et al. Effect of dermoscopy education on the ability of medical students to detect skin cancer. *Arch Dermatol* 2012;148:1016-22.
- <http://disfrutadelsol.hcs.es/>

Lipoinfiltración en paciente con Síndrome de Parry-Romberg

Lipoinfiltration in a patient with Parry Romberg syndrome

Romero-Álvarez, Fatima¹; Flores-Oseguera, Johana¹; Argüello-Reyes, José¹; Laínez-Mejía, Carlos²

¹Doctor en Medicina y Cirugía, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Tegucigalpa, Honduras.

²Coordinador de Postgrado de Cirugía Plástica y Reconstructiva. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Tegucigalpa, Honduras.

Resumen

El síndrome de Parry-Romberg es una condición poco frecuente y autolimitada cuya prevalencia se ha estimado en 1/700000 habitantes; caracterizado por degeneración de tejidos blandos del medio de la cara incluyendo la dermis, tejido subcutáneo, grasa, cartílago y a veces el hueso. A continuación se presenta un caso, de paciente mujer de 25 años de edad, con atrofia hemifacial moderada del lado derecho, sin afectación ósea, neurológica, vascular ni oftálmica. Se realizó tratamiento con lipoinfiltración en 5 ocasiones obteniendo una mejoría estética significativa, con resultados satisfactorios para la corrección de dicha deformidad.

Abstract

Syndrome Parry - Romberg is a rare, self-limiting condition whose prevalence is estimated at 1/700000 in habitants; characterized by degeneration of soft tissue of the face through the dermis, including subcutaneous tissue, fat, cartilage and sometimes bone. A 25 year-old woman presented with moderate atrophy hemifacial of right side without bone, neurological, ophthalmic or vascular involvement. Treatment was performed with fat infiltration in 5 occasions obtaining an aesthetic significant improvement, with satisfactory results for the correction of the deformity.

Palabras clave: Hemiatrofia facial, enfermedad de Romberg, atrofia hemifacial progresiva, Lipoinfiltración.

Keywords: Hemiatrophy facial, Romberg's disease, progressive hemifacial atrophy, Lipoinfiltration

INTRODUCCIÓN

Síndrome de Parry-Romberg (SPR) es un trastorno poco frecuente caracterizado por su evolución lenta, progresiva y autolimitada de degeneración de los tejidos blandos del medio de la cara (atrofia hemifacial) incluyendo la dermis, tejido subcutáneo, grasa, cartílago y a veces el hueso. (1) Esto lleva a problemas estéticos, así como problemas funcionales y psicológicos debido a la asimetría de la cara. (2)

Descrito por primera vez por Caleb Parry (1825) y posteriormente Moritz Romberg y Eduard Henoch (1846) realizaron ampliación de los conceptos. Fue Albert Eulenberg quien le dio a la enfermedad su actual nombre en 1871. (3) Esta anomalía es poco frecuente, por lo general comienza en las dos primeras décadas de la vida. Afecta mayormente a las mujeres en una proporción de 1.5/1 y la prevalencia se ha estimado en 1/700000. (1)

La etiología del SPR no es totalmente clara. Diferentes teorías intentan explicar la fisiopatología y se incluyen: neuritis del trigémino, neurovasculitis autoinmune crónica, malformación vascular craneal, trastornos del metabolismo de las grasas, infec-

ción crónica por un virus neurotrófico como el herpes, aumento en la actividad nerviosa simpática, susceptibilidad genética y procesos autoinmunes. (1,3)

Clínicamente, hay atrofia regional de la piel, tejido subcutáneo, musculatura, hueso y cartílago cuando el inicio es antes de la segunda década de la vida. Una línea bien delimitada entre la piel normal y anormal se desarrolla, así llamado golpe de sable, y la zona afectada varía de una lesión discreta a una malformación extensa generalizada. A menudo aparecen alopecia del cuero cabelludo, cejas y pestañas, y pigmentación de la piel afectada. Las otras características importantes de esta patología son el enoftalmos, la desviación de la boca y la nariz hacia el lado afectado, y la exposición unilateral de dientes cuando los labios están involucreados, afectación neurológica (neuralgia del trigémino, epilepsia, migraña); espasmos musculares; malformaciones vasculares intracraneales como aneurismas. (1,4)

Hasta este momento no existe un tratamiento que puede detener la progresión de la enfermedad, pero se realizan cirugías con el objetivo de mejorar la estética facial en beneficio de cada paciente. Siendo la lipoinfiltración el método más conocido y usado

debido a sus numerosas ventajas y resultados significativos. (1) Así como observamos en el presente caso donde la lipoinfiltración en múltiples ocasiones ha alcanzado resultados satisfactorios.

CASO CLÍNICO

Mujer de 25 años de edad, oriunda de Cedros, Francisco Morazán, consultó en múltiples ocasiones por cuadro clínico de lesión deprimida persistente en mejilla derecha desde los 7 años de edad, la lesión evolucionó ocho años con atrofia facial progresiva en hemicara derecha, mostrando áreas de hiperpigmentación. No había antecedentes de trauma, de infección u otra patología. Sin antecedentes de historia clínica familiar.

Al examen físico se observó depresiones atróficas lineales de los tejidos blandos en mejilla, región infraorbitaria y región labial de hemicara derecha. Desviación de la comisura labial hacia el lado derecho y enoftalmos derecho. No atrofia de la lengua.

En el 2011, asistió al servicio de cirugía plástica y reconstructiva donde la diagnosticaron de síndrome de Parry-Romberg. Se interconsulta con los servicios de odontología y neurología y estos descartan alteraciones odontológicas y neurológicas. El servicio de cirugía plástica y reconstructiva le presenta como plan terapéutico infiltraciones grasas, se realizó la primera infiltración grasa en ese mismo año extrayendo grasa abdominal, la cual se reabsorbió rápido. Meses después le realizaron la segunda lipoinfiltración extrayendo grasa de abdomen y muslos, presento efectos postoperatorios de inflamación y dolor en áreas donde se realizó infiltración, pero con resultados estéticos favorables. (Ver Figura 1)



Figura 1: Primera Infiltración 2011. A. Pre-operatorio, B. Post-operatorio.

Hasta la fecha, a la paciente se le han realizado 5 infiltraciones grasas, las cuales fueron extraídas de abdomen, muslos y espalda, alcanzando una buena apariencia física. Y está en espera de programación para la sexta infiltración grasa. (Ver Figura 2)



Figura 2: 2 años después de la quinta infiltración. A. Vista frontal donde se observa depresión en mandíbula. B. Vista lateral.

DISCUSIÓN

El SPR es una enfermedad poco frecuente que afecta principalmente a mujeres con una proporción de 1.5:1. La enfermedad se manifiesta unilateralmente, siendo el lado izquierdo afectado en un 85% y bilateral en un 10%. (1) Clínicamente se puede observar una piel seca y áreas hiperpigmentadas, así como lo describe la paciente.

El SPR se manifiesta principalmente con hemiatrofia facial progresiva en un 100% de los casos, además síntomas neurológicos, como ser neuralgia del trigémino, parestesia facial y epilepsia focal con déficit neurológico; vasculares, como ser aneurismas intracraneales y vasoconstricción reversible; y oftálmicos, como ser enoftalmos han sido reportados; la paciente manifiesta en un 100% la atrofia de grasa y musculo, llegando a presentar manifestaciones oftálmicas. (5, 6)

El diagnóstico es principalmente clínico, ya que su principal signo se manifiesta físicamente, puede facilitarse por resonancia magnética cerebral y electroencefalograma si el paciente presenta convulsiones o síntomas neurológicos o vasculares, estudios que no fueron necesarios en ambos casos ya que ambas pacientes no cursaron con los síntomas antes descritos. (6) Este desorden tiene un amplio grado de severidad, desde un adelgazamiento casi imperceptible de la mejilla hasta una deformidad facial dramática, como se observó en ambos casos. (7)

Inigo y colaboradores propusieron la siguiente clasificación de atrofia hemifacial progresiva basada en la atrofia de los tejidos de la piel y tejido subcutáneo, así como la afectación ósea en los territorios del nervio trigémino. (1)

1. Leve: atrofia de la piel y tejido subcutáneo, que afecta el territorio de una sola rama del nervio trigémino, sin afectación ósea.
2. Moderado: hay afectación de territorio de 2 ramas del nervio trigémino, sin afectación ósea.
3. Grave: hay afectación de territorio de las 3 ramas del nervio trigémino, con afectación ósea.

El tratamiento ofrecido para el síndrome por lo general tiene por objetivo mejorar la apariencia del paciente, debido a que la enfermedad conlleva afectación social y psicológica por la deformación que ésta produce. (7) Son varias las alternativas sugeridas para corregir los defectos de la cara como injerto dérmico, injerto de grasa o lipoinfiltración, injerto de cartilago o hueso, inclusión de tantalio, acrílico y sólido o silicona líquida. El tipo de tratamiento depende de la severidad del caso y el pronóstico del paciente con dicho tratamiento. (8)

La lipoinfiltración es la técnica con mayor ventaja ya que tiene una mejor relación costo-beneficio, una mejor textura de la piel y los contornos y expresiones faciales más naturales. (8) Esta grasa es rica en células pluripotenciales, y tiene la capacidad de autorregeneración y plasticidad, es un tejido autólogo, no produce rechazo. Por todo ello, añadido a su consistencia blanda, la versatilidad de su uso y la baja tasa de complicaciones lo convierten en un ideal material de relleno. La absorción del tejido graso trasplantado se produce en todos los pacientes, y el porcentaje puede variar entre el 0 y el 70%, dependiendo de la región infiltrada (menor cantidad de reabsorción en manos y mamas y una mayor tasa en la región facial), por lo que son necesarias varias sesiones para obtener buenos resultados. (9) La lipoinfiltración es la más utilizada para el caso de SPR de leve a moderada, por ello fue la que se utilizó en la paciente, presentando absorción del tejido graso, efecto que ya se conoce, sin embargo se ha observado que según aumenta el número de infiltraciones la absorción es menor. (7)

Para obtener mejores resultados se debe de extraer la grasa de zonas menos vascularizadas y trasladar a zonas con mayor vascularización como ser el caso de grasa abdominal a cara. (8) El tiempo entre cada injerto tiene que ser mayor a seis meses, ya que a los tres meses aún se encuentra en el sitio receptor una impor-

tante respuesta inflamatoria; también una corrección del 10% para alcanzar una mayor supervivencia de la grasa y evitar la necrosis y la palpación de irregularidad, tiempo aproximado que se ha esperado entre cada lipoinfiltración de ambas paciente, el cual ha demostrado tener excelentes resultados. (10)

Con esto se concluye que SPR es una enfermedad caracterizada por hemiatrofia facial progresiva autolimitada con afectación social y psicológica, su tratamiento está orientado a la mejoría estética, siendo la lipoinfiltración el recomendado por sus numerosas ventajas y su resultado estético con aspecto natural. La única desventaja del tratamiento es la absorción grasa hasta de un 70%, la cual obliga a realizar múltiples infiltraciones, hasta obtener un aspecto natural. Las pacientes han respondido adecuadamente al tratamiento, con resultados naturales, estéticamente favorable, sin complicaciones. Por lo tanto se continuará el tratamiento hasta obtener el aspecto y resultado deseado.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por darnos la sabiduría y guiarnos por el camino de la ciencia y la investigación y a la paciente por dedicarnos tiempo y apoyo para poder realizar y culminar la redacción de este caso clínico.

BIBLIOGRAFÍA

- Reddy S, Devaraju D, Agarwal K. Parry romberg syndrome: Report of two cases with rare dental and skeletal findings. e-Journal of Dentistry. 2015; 2: 1-4. Disponible en: <http://www.ejournalofdentistry.com/articles/e-JOD7BD5F6F930-02FB-4209-8A09-D82006.pdf>
- Al-Aizari NA, Azzeghaiby SN, Al-Shamiri HM, Darwish S, Tarakji B. Oral manifestations of Parry-Romberg syndrome: A review of literatura. Avicenna J Med. 2015; 5(2): 25–28. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4394568/>
- Redondo C, Redondo K, Mendoza L, Barrios R, Buj J. Síndrome de Parry Romberg. ISSN. 2015; 22(15): 1-8. Disponible en: http://www.revista.spotmediav.com/pdf/6-1/18_Parry.pdf
- Arana E, Pérez M, Barret J. Lipoinfiltrado enriquecido con células madre en población pediátrica con síndrome de Parry-Romberg. Actualización. Cir.plást. iberolatinoam. 2015; 39: 1-8. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/cpil/v39s1/original17.pdf>
- Deshingkar SA, Barpande SR, Bhavthankar JD, Humbe JG. Progressive hemifacial atrophy (Parry-Romberg Syndrome). Contemp Clin Dent. 2012 Apr; 3(Suppl1): S78–S81. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3354790/>
- Trujillo A, Rodríguez D. Síndrome de Parry Romberg: reporte de un caso. Acta Neurol Colomb. 2011; 28:101-105. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/anco/v28n2/v28n2a07.pdf>
- Vides J, Ramos D, Valle L, Tamayo L. Reconstrucción facial en paciente con síndrome de Parry-Romberg: Reporte de un caso. Revista Mexicana de Cirugía Bucal y Maxilofacial. 2012; 8 (1): 23-28. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cirugiabucal/cb-2012/cb121f.pdf>
- García JC, Carvalho SH, Gomes AS, Silva I. Autologous fat transplantation for the treatment of progressive hemifacial atrophy (Parry-Romberg syndrome: case report and review of medical literature). An Bras Dermatol. 2011; 86(4Supl1):S85-8. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0365-05962011000700022&script=sci_arttext&tlng=en
- Moratalla T, González V, López E, Domenèch A, Carazo E, Gutiérrez P. Aplicaciones de autoinjerto graso en pacientes pediátricos. Cir Pediatr. 2013; 26: 189-194. Disponible en: http://www.secipe.org/coldata/upload/revista/2013_26-4_189-194.pdf
- Méndez S, Enríquez J, Alcalá D. Esclerodermia localizada: corrección mediante trasplante autólogo de grasa. Comunicación de seis casos. Dermatol Rev Mex. 2013; 57:60-63. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2013/rmd131k.pdf>

Mujer de 70 años con Lupus Eritematoso sistémico y fiebre de seis semanas de evolución

A 70-year-old woman with systemic lupus erythematosus
and a six-week history of fever

Isabel Sánchez-Berná, José Antonio Vargas-Hitos, Juan Jiménez-Alonso
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario "Virgen de las Nieves". Granada.

Resumen

Mujer de 70 años de edad con antecedentes personales de lupus eritematoso sistémico y trasplante renal por nefritis lúpica que consulta en Urgencias por fiebre de 6 semanas de evolución y poliartralgias. Tenía un gato y refería arañazos ocasionales. En la exploración física presentaba fiebre de 38.2°C y un nódulo eritematoso no doloroso en la pantorrilla izquierda. En la analítica mostraba leve alteración de los reactantes de fase aguda. Se realizó un TAC toracoabdominal que mostró adenopatías inguinales derechas significativas. La serología de Bartonella fue positiva (IgG 1/64), y se confirmó el diagnóstico de enfermedad por arañazo de gato con una PCR positiva para Bartonella henselae en el cultivo de la herida. Se inició tratamiento con doxiciclina y claritromicina con resolución completa del cuadro.

Abstract

A 70-year-old female with a history of systemic lupus erythematosus who had received a kidney transplant four years before due to lupus nephritis presented to the emergency room with a six-week history of fever and polyarthralgias. She owned a cat and admitted occasional scratches. Physical examination revealed a temperature of 38.2°C and a nontender erythematous nodule on the left calf region. Laboratory tests revealed slight alteration of acute phase reactants. CT scan of the thorax and abdomen showed enlarged lymph nodes in the right inguinal region. Bartonella serology was positive (IgG 1/64), and a positive result of polymerase chain reaction assays for Bartonella henselae in the exudate of the skin lesion confirmed the diagnosis of cat scratch disease. Treatment was started with doxycycline and clarithromycin with complete resolution of symptoms.

Palabras clave: Bartonella henselae, lupus eritematoso sistémico, enfermedad por arañazo de gato.

Keywords: Bartonella henselae, systemic lupus erythematosus, cat scratch disease.

CASO CLÍNICO

Mujer de 70 años con antecedentes personales de lupus eritematoso sistémico (LES) diagnosticado en 1974 con afectación cutánea, articular, aftas orales, pericarditis y nefritis con mala evolución y trasplante renal en 2009. Además, tenía un síndrome de Sjögren asociado, HTA, estenosis aórtica degenerativa leve-moderada, osteoporosis y poliartritis. Su tratamiento habitual incluía micofenolato de mofetilo 500 mg cada 12h, prednisona 10 mg cada 24h, tacrólimus 2.5 mg cada 24h, atorvastatina 20 mg cada 24h, atenolol 25 mg cada 24h, omeprazol 20 mg cada 24h, sulfato de hierro y ácido fólico. Se había suspendido el tratamiento con hidroxiquina unos años antes por sospecha de retinopatía asociada. La paciente consultó en Urgencias por fiebre de 6 semanas de evolución de hasta 39°C con perfil bacteriémico, asociada a astenia, poliartralgias y leve sintomatología de vías respiratorias altas, la cual había persistido pese a la toma de cefditoreno durante una semana. En el resto de la anamnesis por órganos y aparatos únicamente refería cierta hiporexia con pérdida de 2 kg de peso en ese periodo. En

la exploración física presentaba buen estado general, conservando estabilidad hemodinámica, con tensión arterial de 119/59 mmHg, taquicardia de 105 lpm, fiebre de 38.7 °C y saturación de oxígeno del 95% sin oxigenoterapia. No se encontraron adenopatías en cuello ni axilas. Palpación tiroidea normal, no dolorosa. Exploración de orofaringe normal, con puntos sinusales no dolorosos. En la auscultación cardíaca presentaba un soplo IV/VI en foco aórtico, con auscultación respiratoria normal. Exploración abdominal sin hallazgos. En miembros inferiores destacaba la presencia de adenopatías dolorosas de aproximadamente 2 cms en región inguinal izquierda así como un nódulo eritematoso no doloroso en la pantorrilla izquierda del que la paciente no se había percatado. En las articulaciones no existían signos de artritis y la exploración neurológica se encontraba dentro de la normalidad. Entre las pruebas complementarias realizadas en Urgencias destacaba en el hemograma leucocitosis leve (12280/uL) a expensas de PMN (82%), trombopenia leve de 126000/mm³ y discreta anemia normocítica (Hb 11.6 mg/dL, VCM 89 fL). En la bioquímica destacaba: urea 50 mg/dL, creatinina 1.2 mg/dL, LDH 555 U/L, PCR 5 mg/dL y PCT 1 ng/mL. El estudio de

coagulación era normal y el sedimento de orina evidenció leucocituria y leve hematuria. La radiografía de tórax sólo mostraba una cardiomegalia ya conocida, sin infiltrados parenquimatosos.

El diagnóstico diferencial ante todo paciente con LES y fiebre obliga a descartar que se trate de un brote de su enfermedad o de un cuadro infeccioso intercurrente. Ambas causas están frecuentemente imbricadas, ya que la propia enfermedad y los tratamientos empleados para el control del LES aumentan el riesgo de desarrollar infecciones, los cuadros infecciosos aumentan el riesgo de desencadenar brotes lúpicos, y, además, determinados agentes infecciosos (parvovirus B19, CMV, tuberculosis, etc) pueden simular brotes de LES. En la Tabla 1 se recogen datos clínicos y analíticos que pueden ayudarnos a distinguir ambos grupos de causas.

	INFECCIÓN	BRÓTE LÚPICO
CLÍNICA	Aprox. 25% de los casos de fiebre en LES. Escalofríos, tiritona, inestabilidad hemodinámica...	Aprox. 75% de los casos de fiebre en LES. Afectación sistémica: renal, SNC, serositis...
REACTANTES DE FASE AGUDA	PCT > 2 ng/mL VSG y PCR ↑↑↑	PCT < 2 ng/mL VSG y PCR normales o ↑
INMUNOLOGÍA	Anti-DNA negativo Complemento (C3 y C4) normal	Anti-DNA positivo Complemento (C3 y C4) ↓

Tabla 1. Diferencias entre infección y brote de LES.

Dada la tórpida evolución del síndrome febril refractario a antibioterapia domiciliaria en una paciente inmunodeprimida, se decidió ingreso en el servicio de Medicina Interna para estudio y tratamiento. Durante dicho ingreso se objetivó de forma reiterada fiebre de hasta 38.5º pese a la administración de antitérmicos, con buena tolerancia hemodinámica pero asociando cierto deterioro del estado general. A nivel analítico se observó persistencia de leucocitosis y neutrofilia (13280/mm³, PMN 82%), LDH 423 U/L, PCR 6 mg/dL y PCT 1.2 ng/mL. El perfil tiroideo fue normal. Los marcadores tumorales fueron negativos, así como el estudio de inmunología humoral, incluyendo inmunoglobulinas y proteinograma, con beta-2-microglobulina de 2.4 ug/mL. El despistaje de tuberculosis se realizó con Mantoux y *booster*, siendo ambos negativos. Los hemocultivos, urocultivo y las serologías de *Toxoplasma*, CMV, VEB, *Chlamydia*, *Coxiella*, *Parvovirus B19*, *Legionella*, *Mycoplasma* y *Bruceella*, fueron todos negativos. Los niveles de complemento y DNA se encontraban dentro de la normalidad. Se realizó una ecografía abdominal en la que no se describían alteraciones. Se solicitó una ecocardiografía transtorácica en la que se observaba un derrame pericárdico leve sin compromiso hemodinámico; moderada hipertrofia de VI con FEVI normal; y estenosis aórtica moderada y mitral ligera, sin signos de endocarditis. Dada la persistencia del cuadro clínico y la normalidad de los estudios analíticos y de imagen descritos, se realizó un TAC toracoabdominal, en el que se visualizaban varias adenopatías inguinales izquierdas significativas. Dicha

valoración se complementó con un estudio ecográfico local que confirmaba la existencia en fosa iliaca derecha y región superior de muslo derecho de varias adenopatías fusiformes, de centro graso y vascularización normal de hasta 3.3 cm de diámetro, asociadas a hiperecogenicidad leve de tejidos adyacentes, sugerente de proceso inflamatorio no organizado. Ante dichos hallazgos y el antecedente de arañazos de gato, se solicitó serología para *Bartonella*, que fue positiva a título IgG 1/64. Asimismo, se realizó cultivo de exudado de la lesión nodular de la pantorrilla izquierda, obteniéndose una PCR positiva para *Bartonella Henselae*. Una vez confirmado el diagnóstico de enfermedad por arañazo de gato, se inició tratamiento con doxiciclina 100 mg cada 12h asociado a claritromicina 100 mg cada 12h durante un mes, lográndose una progresiva remisión tanto de la fiebre como de las adenopatías y la lesión nodular hasta su completa desaparición.

DIAGNÓSTICO FINAL: enfermedad por arañazo de gato.

DISCUSIÓN

La enfermedad por arañazo de gato (EAG) es una entidad descrita por primera vez en 1950 por Debré y Mollaret, si bien no fue relacionada con *Bartonella henselae* hasta 1989 (1). Se trata de un bacilo gramnegativo aerobio que se contagia por el contacto con gatos, sobre todo de menos de un año, previamente infectados mediante picadura de la pulga *Ctenocephalides felis* (1,2). La bacteria se transmite por inoculación directa de las heces de la pulga infectada presentes en las garras del gato en el momento del arañazo. La bacteria invade las células endoteliales, ocasionando una reacción inflamatoria que desencadena el cuadro local típico, siendo rara su diseminación sistémica (2). La EAG presenta cierta tendencia estacional (otoño e invierno) en relación al nacimiento de nuevas camadas felinas (3). Típicamente afecta a niños y jóvenes inmunocompetentes en los que suele tener un curso benigno (4).

En el 80-95% de los casos la enfermedad tiene una presentación localizada a nivel del lugar de inoculación, donde se forma una vesícula o pápula subcentimétrica que puede permanecer semanas o meses (1,3). Posteriormente aparece una adenopatía regional de consistencia blanda y, ocasionalmente, celulitis superficial y supuración local. En estos casos la enfermedad tiene un curso benigno y autolimitado (1,3,4). Hasta en el 20% de los pacientes la infección se disemina a otros órganos, pudiendo presentarse con manifestaciones oculares (síndrome oculoglandular de Parinaud (2-8%) que cursa con conjuntivitis, granulomas conjuntivales y adenopatía preauricular tras mordedura o arañazo en la cara; neurorretinitis (1-2%), etc), manifestaciones neurológicas (síndrome confusional agudo, meningoencefalitis, mielitis transversa, etc), lesiones osteolíticas, e incluso abscesos hepatoesplénicos (1,4,5). Esta presentación sistémica y atípica de la enfermedad es más habitual en pacientes con algún tipo de inmunodepresión de base, como los pacientes trasplantados o los infectados por el VIH (2-5).

La técnica de elección para el diagnóstico de la EAG es la serología dada su alta sensibilidad y especificidad en la detección de la *Bartonella Henselae*, orientándonos la inmunoglobulina detectada y su título sobre la fase del cuadro infeccioso (Tabla 2) (1,5,6). Se reservan para las presentaciones atípicas de la enfermedad la detección de la bacteria mediante PCR, cultivo o estudio anatomopatológico de las lesiones, donde se objetivan granulomas necrotizantes con tinción Warthin-Starry positiva (1,3,5).

IgM +	IgG + > 1/256	IgG + 1/64 – 1/256	IgG + < 1/64
Infección activa o muy reciente. Detección muy breve.	Infección activa o reciente.	Infección posible. Repetir en 14 días.	Infección actual poco probable.

Tabla 2. Interpretación de la serología de *Bartonella Henselae*.

Los pacientes *inmunocompetentes con EAG localizada leve-moderada* mejoran sin necesidad de antibioterapia, si bien la resolución del cuadro es más rápida cuando sí se utiliza, siendo de elección la azitromicina (1,5). En aquellos casos en que aparezcan adenopatías supurativas está indicado su drenaje mediante punción aspirativa, evitando el drenaje quirúrgico por su mayor riesgo de fistulización (1). En los casos de *EAG diseminada, grave o en inmunodeprimidos*, la antibioterapia está formalmente indicada, empleándose en algunos casos terapia combinada (doxiciclina asociada a macrólidos es de elección). En estos casos la duración del tratamiento oscila entre 15 y 21 días, salvo en casos de neurorretinitis o bacteriemia, donde se recomienda mantener el tratamiento antibiótico al menos 4-6 semanas (1,3,5). Por último, en pacientes graves o con sintomatología persistente podría estar indicado el uso de corticoterapia.

Como conclusiones, este caso ilustra, por una parte, la dificultad que representa el abordaje del diagnóstico diferencial de la fiebre en todo paciente inmunodeprimido (LES y trasplante renal, en este caso). Por otra parte, resalta la importancia de considerar la EAG en todo paciente con fiebre y adenopatías, especialmente en aquellos casos con inmunosupresión asociada y contacto reciente con gatos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mazur-Melewska K, Mania A, Kemnitz P, Figlerowicz M, Sluzewski W. Cat-scratch disease: a wide spectrum of clinical pictures. *Postepy Dermatol Alergol* 2015;32(3):216-20.
2. Mosepele M, Mazo D, Cohn J. Bartonella infection in immunocompromised hosts: immunology of vascular infection and vasoproliferation. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:612809.
3. Verçoza AM, de los Santos CA, Vargas JA. Cat Scratch Disease in kidney transplant recipients: is it a rare or underdiagnosed pathology? *J Bras Nefrol* 2014;36:406-9.
4. Gaubitz M, Herrmann M, Shahin M, Schotte H, Willeke P, Domschke W. Cat scratch disease (bartonellosis) mimicking and SLE flare. *Lupus* 2001;10:883-5.
5. Psarros G, Riddell 4th J, Gandhi T, Kauffman CA, Cinti SK. Bartonella henselae infections in solid organ transplant recipients: report of 5 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2012;91:111-21.
6. Vermeulen MJ, Herremans M, Verbakel H, et al. Serological testing for Bartonella henselae infections in The Netherlands: clinical evaluation of immunofluorescence assay and ELISA. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:627-34.

Drenaje percutáneo de linfocele y esclerosis con povidona iodada

Percutaneous drainage of lymphocele and sclerosis with povidone iodine

María del Carmen Cano-García

Servicio de Urología. Hospital La Inmaculada. Huércal-Overa. Almería

Estimado Editor:

El linfocele es una estructura quística que se produce por lesión de vasos linfáticos habitualmente tras realización de linfadenectomía pélvica por diferentes tipos de cirugía. Aunque no es una patología con elevada frecuencia, cuando se presenta produce complicaciones fundamentalmente infecciosas, pero con una baja mortalidad. El tratamiento más habitual es el drenaje con catéter con realización posterior o no de escleroterapia con diferentes sustancias (1).

Este caso se trata de un varón de 65 años intervenido de cistoprostatectomía radical más linfadenectomía pélvica bilateral con derivación ureteroileal por cáncer vesical músculo infiltrante, que acude al servicio de urgencias por fiebre y dolor abdominal. Destaca la presencia de leucocitosis $23540/\text{mm}^3$, elevación de proteína C reactiva (340 mg/dl) y coagulopatía de consumo (actividad de protrombina 62%). En la exploración física se detecta fluctuación a nivel de hipogastrio, realizando TAC abdomino-pélvico observando una colección quística que se extiende desde vasos ilíacos externos derechos hasta región hipogástrica compatible con linfocele (Figura 1A y 1B). Se realiza drenaje percutáneo con catéter 10 fr guiado por ecografía drenando 200 cc de material lechoso compatible con líquido linfático. Se remitió muestra para cultivo siendo éste positivo para *Escherichia coli* multisensible. Tras pauta antibiótica según antibiograma con amoxicilina/clavulánico remite la fiebre, por lo que programa para realización de sesiones de esclerosis con povidona iodada. Se realizan 3 sesiones de esclerosis con povidona iodada retirando catéter de drenaje a los 10 días de su colocación por débito inferior a 10 cc. A los 6 meses del drenaje y esclerosis se observa en TAC ausencia de colección en región pélvica, encontrándose el paciente asintomático.

La mayoría de los autores recomiendan como primera actitud terapéutica en el linfocele postquirúrgico el drenaje percutáneo con o sin esclerosis posterior. En algunos casos recomiendan desde el inicio el tratamiento con escleroterapia porque es seguro y ofrece buenos resultados (1, 2). Sin embargo, otros autores creen que si el débito a través del catéter es inferior a 50 cc/día no es preciso la realización de esclerosis y que simplemente con el catéter de drenaje es suficiente para tratar con éxito el linfocele (3). En el caso que nos ocupa el hecho de que el drenaje inicial del linfocele fuese elevado, hasta 200 cc, junto con la sobreinfección

del mismo, nos hizo decidirnos por la realización de esclerosis en varias sesiones utilizando povidona iodada. Creemos que aunque la experiencia clínica es limitada, el uso de agentes esclerosantes, como en este caso povidona iodada está justificado en este tipo de pacientes además del drenaje por vía percutánea.

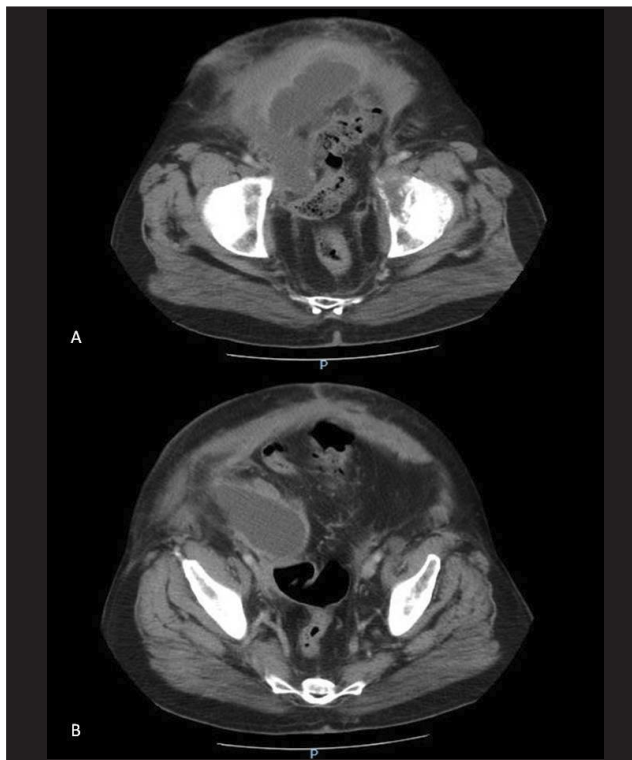


Figura 1: Se observa en diferentes cortes transversales de TAC la presencia de una colección que parte desde el territorio de los vasos ilíacos derechos hacia la pelvis y línea media, compatible con linfocele.

BIBLIOGRAFÍA

1. Karcaaltincaba M, Akhan O. Radiologic imaging and percutaneous treatment of pelvic lymphocele. Eur J Radiol. 2005; 55: 340-54
2. Akhan O, Karcaaltincaba M, Ozmen MN, Akinci D, Karcaaltincaba D, Ayhan A. Percutaneous transcatheter ethanol sclerotherapy and catheter drainage os postoperative pelvic lymphoceles. Cardiovasc Intervent Radiol. 2007; 30: 237-40.
3. Alago W Jr, Deodhar A, Michell H, Sofocleous CT, Covey AM, Solomon SB, Getrajdman GI, Dalbagni G, Brown KT. Management of postoperative lymphoceles after lymphadenectomy: percutaneous catheter drainage with and without povidone-iodine sclerotherapy. Cardiovasc Intervent Radiol. 2013; 36: 466-71.

Localización atípica del glomanpericitoma: seno etmoidal

Atypical location of glomanpericitoma: ethmoid sinus

Javier Gómez-Hervás¹, Gabriel Cardenete Muñoz², Manuel Moreno Romera³, Juan García-Valdecasas Bernal²

¹Servicio de Otorrinolaringología del Hospital La Inmaculada de Huércal-Overa. España.

²España. Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. España.

³Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Virgen del Castillo.

Estimado Editor,

El glomanpericitoma o hemangiopericitomas nasosinusal es un tumor poco común, de baja malignidad, derivado de los pericitos de Zimmerman. Comprende un 1% de todas las neoplasias vasculares. La localización más frecuente es el miembro inferior y retroperitoneo (75%). Se estima que entre un 15-30 % de las veces sucede en cabeza y cuello (1). Su aparición a nivel nasal es rara ocupando tan sólo un 5% de todos los hemangiopericitomas y caracterizándose por un comportamiento menos agresivo que en el resto de localizaciones. Suponen tan sólo un 0,5% de todos los tumores de nasales (2).

La edad más frecuente de aparición es entre los 40-60 años, padece cierta tendencia a aparecer en el sexo femenino. La clínica más frecuentemente producida es la epistaxis y la obstrucción nasal (3).

La etiología no está clara. Se ha relacionado con traumatismos y con tratamientos corticoides previos (4).

El tratamiento de elección es la cirugía, a veces requiere embolización previa para evitar hemorragias. La tasa de recidivas locales es elevada (40-50%) utilizándose en esos casos radioterapia o cirugía (5).

Presentamos el caso de un varón de 60 años de edad, no fumador, con antecedentes de estenosis mitral por lo que está anticoagulado con acenocumarol (con controles adecuados). Acude a la consulta por presentar cuadros de epistaxis autolimitados por fosa nasal derecha desde hace más de un año acompañados de insuficiencia respiratoria nasal homolateral. Ha recibido tratamientos con corticoides tópicos y antibioterapia desde atención primaria sin evidenciar mejoría alguna.

En la fibroscopia nasal observamos una lesión de color rojo vinoso, alargada, que ocupa los dos tercios superiores de la fosa y depende del etmoides posterior (figura1). El resto de la exploración es completamente normal. El estudio de imagen mediante TC informa: lesión nodular sólida en fosa nasal derecha de 23x15x20mm a nivel de cornete/meato medio que capta contraste. No se aprecia lisis ósea ni invasión de otras estructuras. No

se observan alteraciones naso, oro e hipofaríngeas ni laríngeas (figura 2). Se realiza biopsia de la lesión informando de glomanpericitoma.

Se practica exéresis de la lesión desde su raíz con etmoidectomía posterior parcial mediante cirugía endoscópica nasosinusal. El estudio histológico exhibe una neoformación subepitelial no encapsulada compuesta por células uniformes, con núcleos ovoideos regulares y citoplasma levemente eosinófilo, que se disponen en fascículos cortos, con zonas de aspecto arremolinado, interpuestas con abundantes estructuras vasculares que muestran paredes hialinizadas. Se identifican escasas figuras de mitosis típica en un rango de 1 mitosis en 20 CGA, no se identifican zonas de necrosis. El estudio inmunohistoquímico revela positividad para actina, y negatividad para citoqueratinas, S-100, CD 34 y CD 99. El paciente tras un año de la cirugía se encuentra libre de enfermedad.

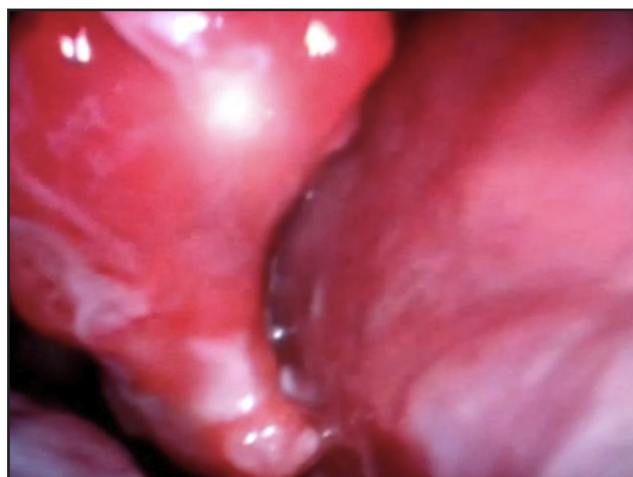


Figura 1: Imagen endoscópica de fosa nasal derecha. A la izquierda de la imagen se observa la parte caudal del glomanpericitoma, a la derecha el septum nasal.



Figura 2: Izquierda: TC en proyección axial, se observa la lesión ocupando el etmoides posterior derecho. Derecha: TC en proyección coronal, se observa como la lesión invade la parte posterior de la fosa nasal derecha.

La localización nasal es atípica. Cuando aparece en la nariz lo suele hacer más frecuentemente en los senos paranasales. Por orden de frecuencia; seno etmoidal, seno maxilar, meato medio, fosa nasal, receso esfenoidal, seno esfenoidal, septum, cornete medio e inferior, lámina cribiforme y pared lateral (4); En nuestro caso el tumor procedía de etmoides posterior e invadía la fosa nasal.

Nuestro paciente se encuentra en la edad más frecuente en la que suelen aparecer estos tumores, es decir, entre los 40 y los 60 años. Algunos autores señalan una posible relación del tumor con los traumatismos previos o con corticoterapia de larga evolución sin hallar en nuestro caso ninguna de ambas exposiciones (5).

Desde el punto de vista clínico el síntoma predominante fue la epistaxis de repetición autolimitada y la obstrucción nasal, coincidiendo con lo que describen la mayoría de los autores. (1-5).

Ante este tipo de lesiones es importante hacer diagnóstico diferencial con otro tipo de lesiones nasales benignas como el pólipos antrocoanal solitario, el papiloma nasal o incluso la poliposis nasal (6,7).

El tratamiento de elección es la cirugía sin vaciamiento ganglionar. El glomangiopericitoma puede presentar cierto grado de malignidad. Se deben realizar cirugías radicales porque no hay relación entre la histología y la agresividad del tumor. La vía de abordaje puede ser externa, mediante cirugía endoscópica o combinada (8). La elección dependerá del tamaño y de la ubicación de la lesión, de forma que se optará las que nos ofrezca mayores garantías para extraer completamente el tumor (9). Nosotros decidimos practicar abordaje intranasal mediante cirugía endoscópica retirando la lesión mediante visión directa de la misma. Algunos autores señalan la posibilidad de realizar embolización previa a la cirugía para disminuir el riesgo de hemorragia intraoperatoria (10). En nuestro caso no la llevamos a cabo pues no hubo hemorragia durante la toma de biopsia y la lesión era de pequeño tamaño. La radioterapia es otra opción de tratamiento que se reserva para casos en que la resección completa no ha sido posible (5).

El seguimiento de estos pacientes debe de realizarse a largo plazo debido a la alta tasa de recidiva local a los 5 años (50-60%). Las metástasis a distancia son poco frecuentes (8).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Navarro R, Nora Z. Hemangiopericitoma nasosinusal. *Anales de Radiología* 2005; 2:149-54.
2. Moreno B, Collado J, García A, Sánchez R, Vallés V. Hemangiopericitoma nasosinusal. *ORL Aragón* 2010; 13 (1): 21-23.
3. Gac P, Seymour C, Klein E, Cabañete P, Segura P, Pruzzo M. Hemangiopericitoma: reporte de 3 casos. *Rev Chilena de Cirugía* 2013; 56: 172-6
4. Murat K, Yavuz S, Cemal G, Suat E, Suleyman S. Haemangiopericytoma of the middle ear with benign histological features. *J Laryngol Otol* 1999; 113: 911-13
5. Granter S, Badizadegan K, Fletcher C. Myofibromatosis in adults. Glomangiopericytoma and Myopericytoma. A spectrum of tumors showing perivascular myoid differentiation. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 513-25.
6. Compagno J, Hyams V. Hemangiopericytoma like intranasal tumors. A clinicopathologic study of 23 cases. *Am J Clin Pathol* 1976; 66 (4): 672-83
7. Sabini P, Josephson G, Yung R, Dolisky J. Hemangiopericytoma presenting as a congenital midline mass. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124: 202-204
8. Flores C, Fuente C, Muñoz R, Paniagua A, Pozo J, Santos J. Hemangiopericitoma nasosinusal. Revisión de la literatura. A propósito de un caso. *Revista de la Sociedad Aragonesa de ORL* 2010;13 (2): 114-20.
9. Herve S, Alsamad IA, Beatru R, Gaston A, Bedbeter Ph. Management of sinonasal hemangiopericytomas. *Rhinology* 1993; 37: 153-8.
10. Huges KV, Bard ML, Lewis JE, Kasperbauer JL, Facer GW. Nasal cavity hemangiopericytoma. 14 cases review during a 40 years period. *Rhinology* 1993; 6: 15-22.

Mujer de 60 años con edema labial y lengua fisurada

60 year old woman with lip edema and fissured tongue

Sánchez Berná, Isabel; Conde Baena, Pablo; Santiago Díaz, Carlos
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada)

Estimado Editor;

Presentamos el caso de una mujer de 60 años con antecedentes personales de hipertensión arterial, fibrilación auricular, asma bronquial, y cuatro episodios de paresia facial autolimitada desde la juventud que se habían estudiado mediante estudios de imagen cerebral (incluyendo TAC y RMN craneales) y estudios etiológicos básicos sin detectar alteraciones. Derivada a Consulta Externa para estudio de episodios recidivantes de edematización labial que cedían con antihistamínicos en aproximadamente una semana sin asociar ninguna otra sintomatología. Dichos eventos le ocurrían desde hacía seis meses, sin haber alcanzado ningún diagnóstico tras un estudio básico en Atención Primaria.

En la exploración física detallada realizada en Consulta se objetivó edematización moderada de hemilabio izquierdo (Figura 1), así como lengua geográfica, sin evidenciar alteraciones destacables a ningún otro nivel. Se realizó un estudio analítico completo, incluyendo parámetros inmunológicos (a destacar fracciones del complemento, ANAs, screening de ENAs y ANCAs) que fue completamente normal.



Figura 1.

La asociación de la triada típica de parálisis facial idiopática recidivante, lengua fisurada y edematización orofacial sugiere síndrome de Melkersson Rosenthal. Se realizó biopsia labial que mostraba mínima inflamación linfocitaria perivascular y perianexial de aspecto residual, sin visualizarse granulomas en la muestra. Cuando se confirmó el diagnóstico, se indicó a la paciente tratamiento con antihistamínicos a demanda cuando aparecieran los brotes, con buen control de la sintomatología.

El síndrome de Melkersson Rosenthal es un raro trastorno descrito por primera vez en 1901 por Rossolino, de etiopatogenia desconocida. Consiste en la asociación, no necesariamente simultánea aunque sí con

frecuencia recidivante, de parálisis facial recidivante, lengua fisurada y edematización orofacial, apareciendo esta triada típica en tan solo un tercio de los pacientes (1,2) lo que dificulta el diagnóstico. Pueden aparecer otras alteraciones neurológicas, como trastornos del sentido del gusto, neuralgia del trigémino, migraña o disartria (2,3). Su incidencia se estima en torno al 0.08%, habiéndose descrito algunos casos de agregación familiar (3). Aunque no hay un claro predominio de género, parece ser algo más frecuente en mujeres (1). Puede aparecer en cualquier rango etario, siendo más frecuente entre los 20 y los 40 años. No existen diferencias étnicas en cuanto a la frecuencia de aparición (2).

Aunque el diagnóstico del síndrome de Melkersson Rosenthal es eminentemente clínico, el estudio histopatológico labial o lingual puede apoyar dicha orientación, siendo típico aunque no constante encontrar un infiltrado linfocítico perivascular (2) con granulomas sarcoides no caseificantes en el 46% de los casos (3). El diagnóstico diferencial incluye la enfermedad de Crohn, sarcoidosis, angioedema hereditario, tuberculosis, lepra y síndrome de Ascher, fundamentalmente (2).

Dado el desconocimiento etiopatogénico de este cuadro clínico, su tratamiento es sintomático, recomendándose tratamiento con AINEs y antihistamínicos en casos leves, reservándose el tratamiento con corticoides para los episodios de parálisis facial (2); en algunos casos refractarios a tratamiento médico puede ser necesario plantear la descompresión quirúrgica del nervio facial (2,3).

Resaltar el importante valor en la práctica clínica diaria de la Historia Clínica detallada y la exploración física pormenorizada de cara a realizar un correcto enfoque diagnóstico, siendo ambos aspectos aún más esenciales al enfrentarnos a pacientes con cuadros clínicos inusuales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Okudo J, Oluyide Y. Melkersson-Rosenthal syndrome with orofacial swelling and recurrent lower motor neuron facial nerve palsy: a case report and review of the literature. *Case Rep Otolaryngol* 2015; 2015: 214946.
- Bohra S, Kariya PB, Bargale SD, Kiran S. Clinicopathological significance of Melkersson-Rosenthal syndrome. *BMJ Case Rep* 2015; doi:10.1136/bcr-2015-210138.
- Liu R, Yu S. Melkersson-Rosenthal syndrome: a review of seven patients. *J Clin Neurosci* 2013; 20(7):993-5.

Melanoma

Salvador Arias Santiago¹, María Sierra Girón Prieto²

¹UGC de Dermatología. Complejo Hospitalario de Granada.

²UGC de Medicina Familiar y Comunitaria. Pinos Puente. Granada.

El melanoma es un tumor cutáneo agresivo que tiene en España una tasa de incidencia de 8,82/100.000 y de mortalidad de 2,17/100.000 personas-año (1) y aunque puede ocurrir en cualquier etapa de la vida es frecuente que afecte a adultos jóvenes provocando una gran cantidad de años de vida potencialmente perdidos.

Patogénicamente se ha asociado, entre otros factores, a la exposición solar intermitente y la presencia de quemaduras solares en la infancia y es por ello por lo que las medidas de prevención primaria son fundamentales para conseguir una disminución de su incidencia. En este número de Actualidad Médica se publica una interesante revisión sobre los hábitos de exposición solar de los adolescentes andaluces y de las intervenciones educativas que se han realizado en nuestra comunidad. Es necesario diseñar estrategias que permitan potenciar las actitudes favorables de fotoprotección en nuestra población (2) para conseguir una reducción de la incidencia del cáncer de piel como ocurre en algunos países como Australia que iniciaron campañas de fotoprotección hace más de 25 años.

La prevención secundaria o diagnóstico precoz es muy importante, se asocia directamente con el pronóstico de la enfermedad y aunque a nivel de consulta especializada dermatológica se pueden utilizar diversas herramientas como la microscopía con focal y la dermatoscopia manual o digital no conviene olvidar una sencilla regla descrita hace más de 30 años por Rigel y Friedman (3) que permite sospechar el diagnóstico de melanoma cuando se evalúa una lesión pigmentada (tabla 1). De todos los parámetros el que tiene mayor relevancia clínica es la evolución o cambio de una lesión pigmentada, en cuyo caso se recomienda una evaluación dermatológica precoz que permita confirmar el diagnóstico de melanoma. Si se evalúa a un paciente con múltiples lesiones pigmentadas es importante observar aquellas que son irregulares y diferentes al resto de sus lesiones (signo del "patito feo").

En relación a las campañas de diagnóstico precoz del cáncer de piel hay que destacar la del Euromelanoma que se inició en Bélgica en 1999 y desde entonces se ha extendido a más de 29 países de Europa y que este año tendrá lugar en España durante el mes de Junio. Las personas interesadas puede inscribirse en la página web de la Academia Española de Dermatología y Venereología y serán visitados por un dermatólogo que revisará su piel.

En definitiva, el melanoma es un tumor cutáneo con altas tasas de incidencia y con un curso clínico variable en función del momento del diagnóstico por ello es necesario potenciar las medidas de prevención primaria y secundaria para reducir el número de casos nuevos anuales y conseguir un diagnóstico precoz.

	Características de la lesión pigmentada
A	Asimétrica
B	Bordes irregulares
C	Varios colores
D	Diámetro superior a 6mm
E	Evolución (cambio)

Tabla 1: "Características de la lesión pigmentada sospechosa de malignidad"



Figura 1: Imágenes clínicas de diversos tipos de melanoma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tejera-Vaquero A, Descalzo-Gallego MA, Otero-Rivas MM, et al. Skin Cancer Incidence and Mortality in Spain: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Actas Dermosifiliogr.* 2016;107(4):318-328.
2. Buendía-Eisman A, Conejo-Mir J, Prieto L, Castillejo I, Moreno-Gimenez JC, Arias-Santiago S. "Buen Rayito Study": awareness, attitudes and behavior of teenagers to sunlight through a web based system in Spain. *Eur J Dermatol.* 2013;23(4):505-9
3. Rigel DS, Russak J, Friedman R. The Evolution of Melanoma Diagnosis: 25 Years Beyond the ABCDs. *Ca Cancer J Clin* 2010;60:301-316

La autonomía sanitaria: análisis sobre la construcción de un valor

Health autonomy: analysis on the construction of a value

Antonio Leopoldo Santisteban Espejo

Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada.

Resumen

Medicina, Filosofía y Derecho constituyen tres disciplinas históricamente vinculadas, derivando de ello que las tesis y los planteamientos defendidos por cada una hayan influido en el ejercicio de las restantes. En este sentido, son cada vez más los conceptos que no perteneciendo de manera primaria a la formación del profesional médico se hacen eco en la práctica clínica diaria. Entre ellos, el concepto de autonomía del paciente. El enfoque desde la axiología y el mundo del valor ofrece una fundamentación al análisis de este concepto, y un punto de partida complejo, pero a su vez irrenunciable. En su aprendizaje, resulta central el conocimiento que desde la educación sanitaria se puede aportar en la formación de los actuales usuarios de los sistemas de salud.

Abstract

Medicine, Philosophy and Law have been linked throughout history. Thesis and approach gave for each one have influenced and suggested new challenges for the other one. For this reason new concepts not directly related with the normal medical academic training are appearing on the daily clinical practice. One of them is the concept of autonomy. Axiology and the world of values give a grounds and starting point too for these problems which is complex but also required for a good medical practice. On its learning, it would be central the role of the health education system in order to improve the knowledge of current health system users.

Palabras clave: Medicina-
Autonomía-Bioética-Educación
sanitaria

Keywords: Autonomy-Bioethics-
Health Education

INTRODUCCIÓN

¿Cuál es, en resumen, la altura de nuestro tiempo? No es plenitud de los tiempos, y, sin embargo se siente sobre todos los tiempos idos y por encima de todas las conocidas plenitudes. No es fácil de formular la impresión que de sí misma tiene nuestra época: cree ser más que las demás, y a la par se siente como un comienzo, sin estar segura de no ser una agonía. ¿Qué expresión elegiríamos? Tal vez ésta: más que los demás tiempos e inferior a sí misma. Fortísima, y a la vez insegura de su destino. Orgullosa de sus fuerzas y a la vez temiéndolas.

José Ortega y Gasset

Fortaleza e inseguridad o comprensión e incertidumbre son caracteres que pueden definir también hoy la altura de nuestro tiempo. Einstein ha escrito lo siguiente: "el aumento de nuestro conocimiento de hechos, [...] ha conducido a la situación actual, caracterizada - no obstante sus éxitos - por la incertidumbre respecto de la elección de los conceptos teóricos fundamentales" (1). Esta paradoja que resulta de aumentar los conocimientos y a su vez el grado de incertidumbre, bien descrita en las ciencias físicas desde 1927(2) podemos afirmar que se hace especialmente patente y cobra hoy nueva significación en los sistemas de atención a la salud. Esto, al menos, por tres razones. De una parte, la

mejora cuantitativa en la disponibilidad de los recursos sanitarios existentes, lográndose así acercar la oferta en salud al usuario del sistema; en segundo lugar, la creciente tecnificación de dichos recursos, que amplía las posibilidades del proceso de atención integral a la salud (asistencia, prevención, adaptación social a un problema crónico y promoción de la salud) (3); y, finalmente, el papel central que ocupa hoy la formación de individuos autónomos capaces de gestionar de manera prudente y responsable sus procesos de salud-enfermedad.

El presente artículo tiene por objetivo analizar este último factor, a saber, el concepto de autonomía. Para ello se seguirá el siguiente esquema dividido en cuatro puntos. Puede decirse que los dos primeros pretenden ubicarse en un plano más teórico, en tanto que las consecuencias prácticas que de ellos se derivan aparecerán más claramente en el punto tercero. A las conclusiones que se extraen de lo dicho anteriormente se dedicará el cuarto y último punto.

Así, en primer lugar se analizará el propio término "autonomía" con el objetivo principal de destacar el carácter radicalmente equivocado de su significado, y así se estudiará su etimología, su voz ética, su voz política y su voz jurídica, para en un momento ulterior describir la relación que existe entre las definiciones jurídica y ética. En segundo lugar, se definirá la autonomía en tanto que valor y, por

tanto, desde el mundo de la axiología. El objetivo ahora es presentar el proceso de la valoración como un fenómeno biológico y plantear las tesis a él dadas por la historia del pensamiento occidental para concluir que la autonomía se enmarca actualmente dentro del paradigma constructivista del valor. Finalmente, el punto tercero acomete el problema de ejercer la autonomía en el marco de las sociedades líquidas (4), asumiendo así la tesis de Bauman. Sobre ella se tratará de argumentar porqué nuestra época constituye el momento óptimo para la educación sanitaria. De este modo, se pretende afirmar que hoy quizá más que en otro período histórico, los ciudadanos están en la adecuada disposición de entender la autonomía en salud no solo como el derecho a una decisión acotada en el tiempo, sino también como el valor sobre el que edificar un correcto hábito sanitario.

En definitiva, a lo anteriormente expuesto se orientan las próximas líneas. Nada más, pero tampoco nada menos. Esta labor de análisis es una responsabilidad que nos implica, cada uno desde su ámbito, a todos los profesionales en salud. El expresidente de la UNESCO, Federico Mayor Zaragoza (5) ha escrito parafraseando a Martí i Pol que, para realizar un proyecto *¿quién mejor, sino todos?*

I. ANÁLISIS DEL CONCEPTO DE AUTONOMÍA

Para Canill, autonomía “quiere decir capacidad de universalización” (6). Su etimología nos remite a la definición kantiana de un individuo capaz en tanto que dotado de racionalidad de darse la ley a sí mismo, es decir, el deber moral. Efectivamente, en griego, los términos *autos* y *gnomos* designan respectivamente «lo propio» y «la ley». El móvil de la acción no puede ser sino la buena voluntad de una razón pura. Así, diremos ahora con Kant que “Por lo tanto, ninguna otra cosa, sino la representación de la ley en sí misma (que desde luego no se encuentra más que en un ser racional) en cuanto que ella, y no el efecto esperado, es el fundamento determinante de la voluntad, puede constituir ese bien tan excelente que llamamos *bien moral*, el cual está ya presente en la persona misma que obra según esa ley, y que no es lícito esperar de ningún efecto de la acción” (7). La voz etimológica expuesta que, como se ve, enraíza directamente con su concepción ética, permite a Kant posteriormente enunciar el imperativo categórico. Este afirma en una de sus formulaciones lo siguiente: “Puesto que he sustraído la voluntad a todos los impulsos que podrían apartarla del cumplimiento de una ley, no queda nada más que la legalidad universal de las acciones en general (que debe ser el único principio de la voluntad); es decir, yo no puedo obrar nunca más que de modo *que pueda querer que mi máxima se convierta en ley universal*” (7).

No obstante sea ética la definición primera que liga el concepto de autonomía a la vida moral del hombre, la concepción original del término no corresponde al ámbito de la filosofía moral sino al de la política, que estudiaremos más adelante. En cualquier caso, si hemos de afirmar ahora que en contraposición a la heteronomía, la autonomía en Kant es condición *sine qua non* para la libertad, que ella es innegable al ser humano en tanto que éste es un ser dotado de racionalidad y que cuando aún hoy se afirma en el Preámbulo de la Declaración Universal de los Derechos Humanos de 1948 que “la libertad, la justicia y la paz en el mundo tienen por base el reconocimiento de la dignidad intrínseca y de los derechos iguales e inalienables de todos los miembros de la familia humana”, o en su artículo primero, que “Todos los seres humanos nacen libres e iguales en dignidad y derechos y, dotados como están de razón y conciencia, deben comportarse fraternalmente los unos con los otros” (8) e igualmente, en la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO del año 2005, en su artículo tercero, que “Se habrán de respetar plenamente la dignidad humana, los derechos humanos y las libertades fundamentales.” (5), al enunciarlas todas ellas, se está hablando para el mundo pero escribiendo desde Königsberg.

Como se anticipó, el uso original del término autonomía hace alusión a un concepto político antes que ético. Para conceptualizarlo, conviene retener que ahora el objeto al que se dirige el uso del término no es el individuo, sino la comunidad, en concreto la

polis o ciudad-estado griega. La autonomía define así la capacidad que ostenta la ciudad-estado de defensa frente a la polis vecina y con ello el poder de dictar para sus integrantes las leyes propias. El poder de ser un estado autónomo. Para Vicente García (9) “en la filosofía política griega se definía la autonomía como la condición de una comunidad política de dictarse leyes a sí propia”, en este sentido precisa más adelante que “Aristóteles (Politeia VI) habla de «comunidad de hombres libres» y agrega que «la polis es autónoma porque es buena y porque es autárquica en lo ético y en lo económico»” (9). Todavía aún hoy tiene esta voz un espacio en nuestro lenguaje natural cuando hablamos de la autonomía de las C.C.A.A., de los Organismos Autónomos o la autonomía de los Entes Locales. El aspecto de la autonomía territorial y la integración de las Entidades Locales en estructuras organizativas mayores constituye un tema complejo en el derecho político y ahora no entraremos en él en detalle. Para analizar las cuatro doctrinas que históricamente han fundamentado este principio político (la doctrina del *pouvoir municipal*, la doctrina germánica de la asociación comunal, la doctrina francesa de la descentralización y el *selfgovernment* inglés) se remite en este punto al lector a los textos de Iglesias Martín (10) y de Vicente García (9).

La voz “autonomía” al estudiarse desde un marco etimológico, ético y político muestra ya su carácter polisémico. Este hecho permite afirmar a Giannini que introduciéndose en el lenguaje natural o lenguaje no formalizado, el concepto de autonomía otrora fundamento de la moral o de la organización política de un estado, no ha hecho sino fragmentarse, diluirse en una matriz de significados que dificultan su clarificación terminológica: “el concepto de autonomía ha perdido hoy toda conexión con su origen filosófico-jurídico y, al incorporarse plenamente al vocabulario ordinario, se ha visto privado de toda significación precisa” (9). Corresponde ahora continuar su análisis estudiándolo desde un enfoque jurídico para finalmente, concluir este primer punto contrastando dicha visión y la ética, y establecer la relación que liga a ambas.

Así, jurídicamente el ejercicio de la autonomía en los sistemas de salud se encuentra regulado en la Ley 41/2002 del 14 de Noviembre Básica Reguladora de la Autonomía del paciente y de Derechos y Obligaciones en materia de Información y Documentación clínica, por medio de la cual entra a formar parte del ordenamiento jurídico el derecho al ejercicio de la autonomía (11). El precedente de la misma se encuentra en la Ley General de Sanidad de 1986 (12) y, de manera más amplia, en toda una doctrina o teoría del consentimiento informado desarrollada en EEUU a lo largo de la primera mitad del siglo XX (13). El análisis de la evolución de la jurisprudencia norteamericana durante este período refleja la situación de conflicto y ambivalencia que al respecto protagonizó la sociedad estadounidense.

La sentencia del juez Benjamin Cardozo en el caso *Schloendorff* contra la *Society of New York Hospital* de 1914, parte de la cual se muestra a continuación, o el caso *Jacobson* contra el *Hospital de Massachusetts* de 1905 constituyen quizá una buena representación de ello (13):

“Cada ser humano de edad adulta y sano juicio tiene el derecho de determinar lo que debe hacerse con su propio cuerpo; y un cirujano que realiza una intervención sin el consentimiento de su paciente comete una agresión de cuyas consecuencias es responsable”

El consentimiento informado es el proceso que jurídicamente garantiza el derecho al ejercicio de la autonomía. Así se expresa en la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO en su artículo 6: “Toda intervención médica preventiva, diagnóstica y terapéutica solo habrá de llevarse a cabo previo consentimiento libre e informado de la persona interesada, basado en la información adecuada”. Su aplicación en el caso de personas carentes de la capacidad para aportar su consentimiento es el cuerpo del artículo 7, mientras que el derecho al respeto de la autonomía se enuncia en el artículo 5 al afirmar que “Se habrá de respetar la autonomía de la persona en lo que se refiere a la facultad de adoptar decisiones, asumiendo la responsabilidad de éstas y respetando la autonomía de los demás” (5). De este modo, se definen las características de voluntariedad, conformidad libre e información adecuada que ha de reunir el consentimiento in-

formado para ser jurídicamente válido (11), se garantiza también el derecho a su ejercicio en la Declaración de la UNESCO, y queda habitualmente por definir una cuestión de fundamento, a saber, qué se entiende por *autonomía de la persona* o *autonomía de los demás*. En este sentido, ¿garantiza el ejercicio del derecho a la autonomía la decisión autónoma?, ¿son intercambiables los conceptos de derecho a la autonomía y autonomía moral? Ahora se definirá el vínculo entre lo ético y lo jurídico.

Inicio preguntando para ello qué es previo, si el derecho a la ética o ésta al derecho. La necesidad de individuos en sociedad (y por ende también de usuarios de los sistemas de salud) que ejerzan su autonomía en el marco de relaciones justas, puede cuestionarse si se fundamenta bien desde el derecho o bien desde la ética. No es una pregunta falta de complejidad. Recordemos que en Rawls las condiciones de imparcialidad para emitir un juicio justo “incluyen un «velo de ignorancia» que impide a los miembros de la sociedad o a sus representantes tener acceso a diversos tipos de información que podrían inclinar su decisión acerca de qué principios sostener” (14), sería ésta por decirlo así, una justicia *pura* o *a priori*, la obtenida en la situación original rawlsiana. Podría acordarse entonces, siguiendo a Gracia, que el “El derecho es siempre un epifenómeno social”, basándome para argumentar esta afirmación en los textos de Rawls y Gracia que siguen. Según Gracia:

“Tampoco es suficiente decir que nace [el derecho] de la voluntad del pueblo soberano, bien directamente, bien a través de sus representantes. Porque la cuestión es entonces saber cómo actúan o deciden los ciudadanos. Y la respuesta no puede ser más que una: de acuerdo con lo que creen que es correcto e incorrecto, bueno y malo. Pues bien, en eso consiste la ética. [...] Son dos espacios distintos, cada uno con sus objetivos y dotado de su propia especificidad. Hasta tal punto son distintos, que ni todo lo jurídico tiene porque ser siempre moral, ni viceversa” (5)

Para Rawls:

“lo que está faltando es una definición adecuada de un statu quo que sea aceptable desde un punto de vista moral. No podemos tomar algunas contingencias como conocidas y preferencias individuales como dadas y esperar aclarar el concepto de justicia (o de equidad) a través de teorías de la negociación. La concepción en la posición original está diseñada para enfrentar el problema del statu quo apropiado” (14)

La ley, la costumbre y los principios generales del Derecho son las fuentes del ordenamiento jurídico, en cambio su fundamento es el humus ético de una sociedad. Fuentes y fundamento no son palabras unidas por una relación de sinonimia. Ortega llamaría a esta textura ética “conjunto de creencias”, en ellas no se piensa sino que en ellas sencillamente se está, y por ello no son ideas, sino convicciones. Así, para decir con Ortega “El diagnóstico de una existencia humana [...] tiene que comenzar filiendo el repertorio de sus convicciones. Son éstas el suelo de nuestra vida. Por eso se dice que en ellas el hombre está” (15). La relación que une ética y derecho es aquella por la que los principios éticos que una sociedad educada ha acordado como propios constituyen un ideal (llámese democrático, de justicia o de salud), a cuya sustantivación y salvaguarda mediante leyes se orienta el derecho. No existe gnomo sin ethos. Es más, la ausencia de realización efectiva de un ideal ético en una sociedad no justifica su abandono. Recuérdese que la ética no trata de lo que es (de ello se encarga otra disciplina: la ontología), la ética trata de aquello que aún no siendo, todos pensamos que, cuanto antes, debería ser. Bajo esta concepción, la autonomía no agota toda su significación de modo único a través del derecho a la decisión autónoma, sino como un deber, y dado el carácter constitutivo del deber moral para el ser humano, un deber que implicará a ambas partes de la relación clínica. Al médico, en tanto que profesional capaz de aportar la información adecuada, de dar el consejo de quien está formado en modo óptimo sobre la materia que se trata y de gestionar el sistema de valores que el paciente aporta. A éste, al paciente, corresponde garantizar una decisión formada e informada, prudente y responsable. Si la autonomía se analiza no como un momento sino como un proceso, ambos polos aparecen igualmente carga-

dos de responsabilidad. Los usuarios de los sistemas de salud son autónomos y lo son también sus decisiones en salud en tanto que se establece un diálogo fecundo con su interlocutor, es decir, el conjunto del equipo asistencial. Solo ahora cobra su significado la condición que Cortina propone para hablar de autonomía y según la cual “Hablar de autonomía exige a mi juicio- habérselas con un sujeto competente para elevar pretensiones de validez del habla, legitimado para defenderlas participativamente a través de un diálogo, igualmente legitimado para forjarse un juicio sobre lo correcto, aunque no coincida con los acuerdos fácticos, con tal que no entre en contradicción pragmática con los supuestos racionalizadores del diálogo. Un sujeto capaz de actuar por móviles morales[...]. Y un sujeto moral se forja en el diálogo intersubjetivo, pero no menos en el intrasubjetivo”. (16)

Se podría optar por concluir el análisis en este punto, afirmando que el ejercicio de la autonomía en salud es, previamente a un derecho del paciente, un deber moral que se desarrolla y que progresa a través del ejercicio de la palabra, es decir, del diálogo que constituye el suelo de la relación clínica. Pero este análisis sería manifiestamente incompleto. Porque entonces la pregunta es ¿qué fundamenta los deberes morales? En este plano se halla (bien entendida) la reflexión bioética y por tanto nos corresponde ahora el estudio de la estructuras que deberían sustentar cualquier propuesta ética o bioética, es decir, de los valores.

II. LA AUTONOMÍA COMO VALOR. EL ANÁLISIS DESDE LA AXIOLOGÍA.

Valorar es una capacidad de la inteligencia humana cuyo objetivo es transformar el medio natural en que nacemos en el medio cultural donde vivimos. El fenómeno de la valoración es primariamente práctico y no teórico y así lo afirma Gracia: “Valorar es una necesidad biológica tan primaria como percibir, recordar, imaginar o pensar. [...] De ahí el carácter primario de la noción de valor. [...] la valoración es un elemento, o un momento, de ese proceso de transformación de la naturaleza en cultura que el ser humano necesita imperiosamente hacer en orden al logro de su propia subsistencia.” (17). El ser humano no vive en el medio, sino en la cultura. Y la cultura es una construcción de la inteligencia humana a través del proyecto. Un momento de ese proyecto es siempre el valorativo y sin él no hay proyecto y por ende, cultura. Zubiri ha definido la inteligencia humana como un rasgo fenotípico que por medio de la ejecución de proyectos permite la adaptación darwiniana al medio, pero ahora como “adaptación del medio” al ser humano” (17). A este respecto, Marina afirma que la inteligencia humana es “la transfiguración de la inteligencia animal por la libertad” (18). Si acordamos que la razón autónoma es condición para el acto libre, pero que esta no es ni debe ser pura, sino vital y construida con el lenguaje, propongo la siguiente definición de inteligencia humana: la inteligencia humana es *la facultad proyectiva de una razón vital moldeada por la libertad y construida y expresada a través del lenguaje*.

Una vez descrito el carácter biológico del acto valorativo y definido el concepto de inteligencia, corresponde ahora estudiar las tesis que se han dado acerca de la naturaleza del valor. Ellas nos permitirán enfocar el concepto de autonomía en su última acepción, es decir, la axiológica. Estas han sido fundamentalmente tres. No se analizarán aquí de manera rigurosa las dos primeras tesis, a saber, la basada en la teoría platónica de las ideas puras y que desemboca inevitablemente en un monismo axiológico inaceptable en la actualidad; ni por contra, la propuesta originada en la obra de los filósofos británicos del siglo XVII y XVIII, que son conducentes al subjetivismo moral, también inaceptable en la actualidad. A su modo cada una, ambas acaban por privar al fenómeno del valor de la dimensión que aquí nos interesa: su análisis en orden a demostrar que es posible llegar a acuerdos en cuestiones de valor de carácter razonable. Sin menoscabar la importancia que el conocimiento de ambas tesis tiene por sus consecuencias prácticas en el orden de los acuerdos sobre el deber, en consecuencia y en lo restante, dedicaremos este apartado a la justificación de una tercera propuesta que configure el modelo óptimo para la educación sanitaria basada en valores.

Aunque solamente sea porque el subjetivismo moral tomado en serio exige de la responsabilidad de llegar a acuerdos y porque en 1933 Kurt Gödel demostró la incompletitud de los sistemas formales(19), nos vemos obligados a describir una tercera vía: el constructivismo axiológico. El origen de este se encuentra, en acuerdo con Conill en el concepto nietzscheano de "*Unwertung der werte*" o "*transvaloración de los valores*" que permitiría al ser liberarse de la "eticidad de la costumbre" y convertirse en un individuo creativo, en un ser dotado de voluntad de poder, en fin, en un ser al que "le es lícito hacer promesas" (20). Y aquí la conexión del pensamiento del alemán con la obra de Zubiri. Efectivamente, si la oferta de una revisión profunda de la moral tradicional es realizable, ello impele a los valores un carácter de mutabilidad, de destrucción y recreación que los hace susceptibles también de ser contruidos. El proyecto es una forma de promesa. De manera que los valores ya no van a definirse como contruidos, inmutables y objetivos (modelo objetivista), ni tampoco como productos de la pura emotividad o pasiones subjetivas (modelo subjetivista) sino como productos de la inteligencia humana que ésta construye en su dimensión de contenido a través de un proceso complejo donde se involucran fenómenos históricos, educativos, culturales, psicológicos... y que, en cambio, continúan gozando de un carácter de realidad, gracias a su momento formal. Así, "Todas [las cualidades de las cosas, los valores] son reales, porque tienen como base el momento formal e inespecífico, la llamada formalidad de realidad. Pero su contenido está claramente contruido" (17) y como sigue "La valoración es parte sustancial del ejercicio de la intelección humana, cuando esta se entiende de modo correcto. [...] No se trata de un estrecho intelectualismo, añadía Zubiri, sino de un amplio inteleccionismo.". La altura del cambio es muy significativa. Digamos ahora, y para nuestro cometido, que la variación introducida consiste en afirmar la posibilidad de llegar a acuerdos deliberativos en cuestiones como la correcta o incorrecta promoción del valor autonomía en relación a la salud, la justa o injusta distribución de los limitados recursos sanitarios sobre una colectividad, el consenso sobre qué se entiende por beneficencia en el marco de usuarios de los sistemas de salud cada día con mayor accesibilidad a la información sanitaria o qué límites tienen cuestiones de una tradicional problemática como, por ejemplo, la objeción de conciencia. A la base de cada una de estas cuestiones se hallan procesos que gestionan valores (el económico también lo es, es un valor instrumental o de cambio) y acometer este análisis es comprometerse con aportar soluciones válidas a cada uno de ellos. No es un puro *bios theoretikós*. No afirmo, empero, que existan pautas de contenido universalizables, pero sí que durante la mayor parte de la historia del pensamiento, y en consecuencia, también de la reflexión sobre el ejercicio de la medicina, las tesis centrales han defendido la imposibilidad de llegar a acuerdos en cuestiones de valor. El siglo XX nos ha demostrado la falsedad de este aserto. El avance tecnológico abre nuevas puertas a la clínica y, sin duda, también a la reflexión. Hoy también disponemos del aparato conceptual y filosófico necesario para abordar los retos que este avance nos plantea. Es, a todas luces, un momento histórico complejo y apasionante este que nos ha tocado vivir.

III. LA AUTONOMÍA EN EL MARCO DE LAS SOCIEDADES LÍQUIDAS: EL MOMENTO DE LA EDUCACIÓN SANITARIA

Marina ha escrito que la textura de una sociedad depende de los proyectos que acometen sus individuos (18). No obstante el acto humano de proyectar sea una estructura compleja, esta definición es válida para analizar el modo en que los individuos proyectan sus decisiones en salud y, por tanto, modelan también la textura de su sociedad. La sociedad moderna se caracteriza según Bauman, por su semejanza con las propiedades de los estados líquidos de la materia, es decir, porque las relaciones entre individuos, en otro momento sólidas o rígidas, hoy se definen por sus caracteres de levedad o liviandad (4). Como el propio Bauman afirma "Éstas razones justifican que consideremos que la "fluidez" o la "liquidez" son metáforas adecuadas para aprehender la naturaleza de la fase actual- en muchos sentidos nueva- de la historia de la modernidad".

Bien entendido, que no solo se hace alusión a lo efímero de algunas ideas en la actualidad o a la facilidad con que, gracias a los avances de la técnica, hoy puede fluir la información entre sujetos separados entre sí por grandes distancias; sino que el concepto debe precisarse definiendo *qué estructuras sólidas* son aquellas que han sido sometidas al proceso de licuefacción. Este es el aspecto fundamental para después justificar que la educación sanitaria sea el vehículo óptimo a la hora de formar a individuos en el ejercicio adecuado de la autonomía como valor. Bauman así lo precisa: "Los sólidos que han sido sometidos a la disolución, y que se están derritiendo en este momento, el momento de la modernidad fluida, son los vínculos entre las elecciones individuales y los proyectos y las acciones colectivos- las estructuras de comunicación y coordinación entre las políticas de vida individuales y las acciones políticas colectivas-."(4). Al presentar este modelo sociológico, se quiere argumentar que la ruptura de los vínculos entre lo individual y lo colectivo puede analizarse esencialmente de dos modos, a saber, el primero bajo una óptica desesperanzada y, el segundo, esperanzadora. La actualidad es el momento de la segunda. Y esto por tres razones. Primera, porque podemos afirmar que hoy la fluidez en lo social influye también en el modo en que el usuario de los sistemas de salud se acerca a sus procesos de salud-enfermedad, al exigir de un mayor acceso a una información sanitaria contrastada en orden a la gestión autónoma de su salud (21); en segundo lugar, porque el proceso de ruptura que en lo social representa el individuo y la colectividad no está presente en el core del ejercicio médico, es decir la relación clínica. Como afirma Jovell: "los usuarios y los pacientes manifiestan tener una gran confianza en la profesión médica como agente principal del sistema"(21); y en tercer lugar, porque si se asume en profundidad la tercera tesis axiológica, se obtiene el único modelo conceptual viable mediante el cual educar, fundamentar y llegar a acuerdos en cuestiones de valores sanitarios, entre otros, el valor autonomía. Es decir, una sociedad fluida donde los valores sanitarios son objeto de análisis y, en cuyo seno, ahora sí puede afirmarse, la educación sanitaria adquiere todo su potencial como método para formar a pacientes adultos en la gestión prudente de su salud.

Entiendo por "educación sanitaria", aquella actividad que promueve conjuntamente la alfabetización sanitaria y la educación cívica (21) según la definición de Jovell. No es momento ahora de definir el concepto de educación sanitaria con precisión, pero sí es cierto que Freire ha escrito, haciendo alusión al concepto general de educación, que ésta es un acto político (22). Debe entenderse por ello que, efectivamente, en cualquier sistema educativo conviene discernir entre los términos espontaneísmo, autoritarismo y democracia (22) y que, aquí, el objetivo sería orientarse a una educación democrática en valores sanitarios según un paradigma constructivista, aún reconociendo su efectiva dificultad dada la práctica ausencia de estos temas en los programas docentes de la enseñanza obligatoria.

IV. CONCLUSIONES

La realidad científica, técnica y social de nuestros días es, en palabras de Laín, "riquísima" y "en cierto modo conflictiva"(23). A este conflicto y, de modo general, a la complejidad que define la medicina de nuestro tiempo contribuyen dos razones: el avance de la técnica y las jerarquías de los valores que se ponen en juego en la relación clínica. La autonomía es uno de estos valores. Tras haber realizado su análisis, podemos concluir que el modelo constructivista permite llegar a acuerdos entre individuos a través del diálogo y que, por ello, asumiéndolo como base, la educación sanitaria es el vehículo óptimo para llevar a cabo la promoción y el ejercicio adecuados de dicho valor. Al reconocer la imposibilidad de desarrollar una autonomía en términos kantianos en el seno de modelos líquidos de sociedad, la deliberación aparece como el método para acceder a acuerdos a través del diálogo y ello se aplica también al diálogo establecido en el seno de la relación clínica. De este modo, el reducto de esta autonomía vendría a radicar, en palabras de Gomá, más que en negar la guía de los otros, en la racionalidad del deseo que nos une a ellos(24).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Einstein A. En Barnett L. El universo y el doctor Einstein. Fondo de Cultura Económica de México; 1957.
2. Navarro J. El principio de incertidumbre de Heisenberg. ¿Existe el mundo cuando no lo miras? R.B.A National Geographic; 2015.
3. Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Formación en promoción y educación para la salud. Ministerio de Sanidad y Consumo; 2003.
4. Bauman Z. Modernidad líquida. Fondo de Cultura Económica de España; 2002.
5. Mayor Zaragoza F. Capítulo introductorio: La Bioética y los Derechos humanos como objetivos de la UNESCO. En Gros Espiell H, Gómez Sánchez Y. La Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO. Comares; 2006.
6. Conill J. Estética y pragmática de la libertad. En Conill J. Ética hermenéutica. Tecnos; 2006.
7. Kant I. Capítulo primero: Tránsito del conocimiento moral común de la razón al conocimiento filosófico. En Kant I. Fundamentación de la metafísica de las costumbres. Edición Martínez de Velasco L. Colección Austral; 1990.
8. Sánchez Luis I, González J. Textos Internacionales Generales. Declaración Universal de los Derechos Humanos. En Sánchez Rodríguez Luis I, González Vega J. Derechos humanos. Textos internacionales. Tecnos; 1987.
9. de Vicente J. Pluralidad de significados del término autonomía. En de Vicente García J. La autonomía local: un estudio a través de la Constitución, la Jurisprudencia y el Derecho Comparado. Nº6. UIM; 2002.
10. Iglesias A. Autonomía municipal, descentralización política e integración europea de las Entidades locales. Ariel Derecho; 2002
11. Ley 41/2002, de 14 de Noviembre básica reguladora de la autonomía del paciente y de los derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. BOE n.º 274, de 15 de noviembre de 2002.
12. Ley 14/1986, de 25 de Abril, General de Sanidad. BOE n.º 102, de 29 de Abril de 1986.
13. Gracia D. La tradición jurídica y el criterio de autonomía: Los Derechos del enfermo. En Gracia D. Fundamentos de Bioética. Triacastela; 2007
14. Barry B. Teorías de la justicia. Gedisa; 2009
15. Ortega y Gasset J. La historia como sistema. En Ortega y Gasset J. La historia como sistema y otros ensayos filosóficos. SARPE; 1984.
16. Cortina A. Límites de una ética postkantiana de principios. En Cortina A. Ética sin moral. Tecnos; 1990.
17. Gracia D. La valoración, fenómeno biológico. En Gracia D. La cuestión del valor. Real Academia de Ciencias Morales y Políticas; 2011.
18. Marina José A. Tratado del proyectar. En Marina José A. Teoría de la inteligencia creadora. Anagrama; 1993.
19. Gutiérrez C. El teorema de incompletitud de Gödel (Versión para no iniciados). Revista Cubo Mat. Universidad de la Frontera. 1999; 1: 68-75.
20. Conill J. La invención de la autonomía. Revista Eidon. 2013; 39: 2-12.
21. Jovell A. El paciente del siglo XXI. An. Sist. Sanit. Navarra. 2006; 29 (Supl. 3): 85-90.
22. Freire P. Séptima carta: De hablarle al educando a hablarle a él y con él; de oír al educando a ser oído por él. En Freire P. Cartas a quien pretende enseñar. Siglo XXI Editores; 2004.
23. Laín Entralgo P. Tres advertencias previas. En Laín Entralgo P. La medicina actual. Triacastela; 2010.
24. Gomá J. ¿Puede ser sujeto autónomo quien imita a otro? En Gomá J. Imitación y experiencia. Taurus; 2015.

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES DE ACTUALIDAD MÉDICA

NORMAS GENERALES

ACTUALIDAD MÉDICA es una revista centenaria (www.actualidadmedica.es) de ámbito científico nacional e internacional que publica artículos de investigación clínica o básica, artículos de docencia y de opinión, cartas al editor, editoriales y comentarios en relación con las enfermedades y patologías que afectan al ser humano fundamentalmente en el ámbito de la medicina interna y otras especialidades médico-quirúrgicas.

Es la revista oficial de la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental, edita 3 números al año, y acepta manuscritos en español e inglés. Tiene una versión impresa (español) y otra versión on line (español o inglés).

RESPONSABILIDADES Y ASPECTOS ÉTICOS EN LA PUBLICACIÓN

ACTUALIDAD MÉDICA considera que la negligencia en investigación o en publicación es una infracción ética seria y tratará este tipo de situaciones de la manera necesaria para que sean consideradas como negligencia. Es recomendable que los autores revisen el Committee on Publication Ethics (COPE) y el International Committee of Medical Journal Editors para mayor información a este respecto.

La revista ACTUALIDAD MÉDICA no acepta material previamente publicado. El plagio y el envío de documentos a dos revistas por duplicado se consideran actos serios de negligencia. El plagio puede tomar muchas formas, desde tratar de publicar trabajos ajenos como si fueran propios, copiar o parafrasear partes sustanciales de otro trabajo (sin atribución), hasta reclamar resultados de una investigación realizada por otros autores. El plagio, en todas sus formas posibles, constituye un comportamiento editorial no ético y, por tanto, se considera inaceptable. El envío/publicación duplicada ocurre cuando dos o más trabajos comparten la misma hipótesis, datos, puntos de discusión y conclusiones, sin que estos trabajos hayan sido citados mutuamente uno a otro.

INVESTIGACIÓN HUMANA Y ANIMAL

Toda información identificativa no deberá ser publicada en declaraciones escritas, fotografías o genealogías. Asimismo, no se podrán revelar nombres de pacientes, iniciales o números de historia clínica en materiales ilustrativos. Las fotografías de seres humanos deberá ir acompañadas de un consentimiento informado de la persona y que dicha persona revise el manuscrito previo a su publicación, en el caso de que dicho paciente pueda ser identificado por las imágenes o los datos clínicos añadidos en dicho manuscrito. Los rasgos faciales no deben ser reconocibles. El Comité Editorial puede requerir a los autores añadir una copia (PDF o papel) de la aprobación de un Comité de Ética en el caso de trabajos con experimentación animal o ensayos clínicos (pacientes, material de pacientes o datos médicos), incluyendo una traducción oficial y verificada de dicho documento. Se debe especificar en la sección ética que todos los procedimientos del estudio recibieron aprobación ética de los comités de ética relevantes correspondientes a nivel nacional, regional o institucional con responsabilidad en la investigación animal/humana. Se debe añadir igualmente la fecha de aprobación y número de registro. En caso de que no se hubiera recibido la aprobación ética, los autores deberán explicar el motivo, incluyendo una explicación sobre la adherencia del estudio a los criterios propuestos en la Declaración de Helsinki. (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>).

AUTORÍA

Todos los datos incluidos en la presentación de un manuscrito deben ser reales y auténticos. Todos los autores incluidos deben haber contribuido de forma significativa a la elaboración del documento, así como tiene la obligación de facilitar retracciones o correcciones, si fuera necesario, cuando se encuentren errores en el texto.

En el caso de artículos de investigación original y artículos docentes, se recomienda un máximo de 6 autores, aunque se aceptan sugerencias concretas para más de 6 autores. Para otros tipos de manuscritos, 4 autores será considerado un número aceptable. Cada autor deberá especificar cómo desea que se cite su nombre (i.e., solo el primer apellido, los dos apellidos o unir ambos apellidos con guión). En caso de ser necesario, se requerirá que cada autor especifique el tipo y grado de implicación en el documento.

REVISIÓN POR PARES

ACTUALIDAD MÉDICA publica documentos que han sido aceptados después de un proceso de revisión por pares. Los documentos enviados serán revisados por revisores ciegos que no tendrán ningún tipo de conflicto de interés con respecto a la investigación, a los autores y/o a las entidades financiadoras. Los documentos serán tratados por estos revisores de forma confidencial y objetiva. Los revisores podrán indicar algunos trabajos relevantes previamente publicados que no hayan sido citados en el texto. Tras las sugerencias de los revisores y su decisión, los editores de la revista tienen la autoridad para rechazar, aceptar o solicitar la participación de los autores en el proceso de revisión. Tanto los revisores como los editores no tendrán conflicto de interés con respecto a los manuscritos que acepten o rechacen.

LICENCIAS

En el caso de que un autor desee presentar una imagen, tabla o datos previamente publicados, deberá obtener el permiso de la tercera parte para hacerlo. Este permiso deberá estar reflejado por escrito y dirigido a la atención del editor de la revista ACTUALIDAD MÉDICA. En caso de que una institución o patrocinador participe en un estudio, se requiere de forma explícita su permiso para publicar los resultados de dicha investigación. En caso de presentar información sobre un paciente que pueda revelar su identidad, se requiere el consentimiento informado de dicho paciente por escrito.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores de un manuscrito son responsables de reconocer y revelar cualquier conflicto de intereses, o potencial conflicto de intereses, que pueda sesgar su trabajo, o pudiera ser percibido como un sesgo en su trabajo, así como agradecer todo el apoyo financiero y colaboraciones personales. ACTUALIDAD MÉDICA se adhiere a las directrices del International Committee of Medical Journal Editors, que está disponible en <http://www.icmje.org>, incluyendo aquellas de conflicto de intereses y de autoría. Cuando exista conflicto de intereses, deberá ser especificado en la Página de Título. De igual forma, el impreso de Conflicto de Intereses (ver impreso) deberá ser rellenado, firmado

por todos los autores y remitido al editor ACTUALIDAD MÉDICA. Los autores deberán mencionar el tipo de relación e implicación de las Fuentes financieras. Si no existe conflicto de intereses, deberá especificarse igualmente. Cualquier posible conflicto de intereses, financiero o de cualquier otro tipo, relacionado con el trabajo enviado, deberá ser indicado de forma clara en el documento o en una carta de presentación que acompañe al envío.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

En el último párrafo de la sección Material y Métodos, los autores deberán comentar que los pacientes incluidos en el estudio dieron su consentimiento a participar después de haber sido informados de forma concienzuda acerca del estudio. El editor de ACTUALIDAD MÉDICA, si lo considera necesario, puede requerir la presentación de este consentimiento informado a los autores.

ENVÍO DE MANUSCRITOS

Los manuscritos deberán ser remitidos por internet a través de la dirección www.actualidadmedica.es en el enlace de Envío de Manuscritos, debiéndose previamente registrar en dicha página y siguiendo las normas e instrucciones que aparecen en la misma. El texto del manuscrito (incluyendo primera página o página de título, resumen, cuerpo del artículo, agradecimientos y referencias) deberán incluirse en un único archivo. Las figuras y tablas deberán adjuntarse en archivos separados, usando un archivo para cada tabla o figura.

NORMAS ESPECÍFICAS PARA CADA TIPO DE ARTÍCULO

ARTÍCULO ORIGINAL DE INVESTIGACIÓN

Se considerarán trabajos de investigación clínica o básica todos aquellos relacionados con la medicina interna y con aquellas especialidades médico-quirúrgicas que representen interés para la comunidad científica. Los tipos de estudios que se estiman oportunos son los estudios de casos controles, estudios de cohortes, series de casos, estudios transversales y ensayos controlados. En el caso de ensayos controlados deberán seguirse las instrucciones y normativas expresadas en CONSORT disponible en <http://www.consort-statement.org> o en otros similares disponibles en la web.

La extensión máxima del texto será de 3000 palabras que deberán dividirse en las siguientes secciones: Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones. Además deberá incluir un resumen de una extensión máxima de 300 palabras estructurado en Objetivos, Métodos, Resultados, Conclusiones. Se acompañará de 3 a 6 palabras clave, recomendándose para las mismas el uso de términos MeSH (Medical Subject Headings of Index Medicus/Medline disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/mesh-browser.cgi>) y de términos del Índice Médico Español. Para la redacción de los manuscritos y una correcta definición de palabras médicas le recomendamos consulten el Diccionario de Términos Médicos editado por la Real Academia Nacional de Medicina. En total se admitirán hasta 40 referencias bibliográficas siguiendo los criterios Vancouver (ver más adelante). El número máximo de tablas y figuras permitidas será de 6. Una figura podrá estar a su vez formada por una composición de varias.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

ARTÍCULO ORIGINAL DE DOCENCIA

Se considerarán artículos docentes originales aquellos encaminados a mejorar y aportar nuevos datos sobre un enfoque práctico y didáctico de los aspectos docentes más importantes en las Ciencias de la Salud que ayuden a mejorar la práctica docente diaria.

La extensión máxima del texto será de 2500 palabras que deberá dividirse en los mismos apartados descritos con anterioridad para los Artículos Originales. Se acompañará de un resumen no estructurado de hasta 250 palabras. Se incluirán de 3 a 6 palabras clave. El número máximo de referencias será

de 20. Se podrá acompañar de hasta 3 tablas o figuras en los casos precisos.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Son artículos que de forma sistemática intentan mostrar las evidencias más actuales sobre un tema de interés médico o médico-quirúrgico, tratando de establecer una serie de pautas a seguir en determinadas patologías. Los artículos de revisión podrán ser solicitados al autor de forma directa por parte del Comité Editorial (Editor y Editores Asociados) o bien remitidos de forma voluntaria por los autores. Los artículos de este tipo serán revisados por el Comité Editorial, por algún miembro del Comité Asesor/Científico y por Revisores externos.

La extensión máxima del artículo será de 4000 palabras divididas en una Introducción, Cuerpo o Síntesis de la revisión (podrán usarse los apartados y subapartados que se estimen oportunos) y Conclusiones. El resumen no tendrá que ser estructurado, con un máximo de 300 palabras; Se añadirán de 3 a 6 palabras clave. Se permitirán hasta 50 referencias bibliográficas y hasta 10 tablas o figuras.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

CASOS CLÍNICOS

Se permitirá la elaboración y envío de casos clínicos interesantes y que tengan un mensaje que transmitir al lector. No se contemplarán casos clínicos habituales sin interés para la comunidad científica. La longitud máxima de los casos será de 1500 palabras distribuidas en una Introducción, Caso Clínico y Discusión. El resumen tendrá una extensión máxima de 150 palabras y no necesitará ser estructurado. Se permitirá un máximo de 3 figuras o tablas. El número máximo de referencias bibliográficas será de 10.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

CARTAS AL EDITOR

Los artículos incluidos en esta sección podrán ser comentarios libres sobre algún tema de interés médico o bien críticas a artículos recientemente publicados (últimos 6 meses) en la revista ACTUALIDAD MÉDICA. Se aceptarán de manera excepcional críticas o comentarios publicados en otras Revistas si tienen un interés médico evidente. La extensión máxima del texto enviado serán 500 palabras sin estructurar. No es necesario incluir resumen ni palabras clave. Se podrá incluir 1 figura o tabla acompañando a la carta. Como máximo se permiten 5 citas bibliográficas.

El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx) y las figuras en formato .jpg o .tiff y con una calidad de al menos 300 dpi.

CRÍTICA DE LIBROS

En esta sección se permitirá la crítica y comentarios sobre un libro de ámbito médico o médico-quirúrgico en el que se destacarán los aspectos formales y científicos más importantes, así como las aportaciones fundamentales del mismo a la práctica clínica. Su extensión máxima será de 500 palabras. No es necesario resumen, palabras clave y no se permitirán tablas ni figuras, salvo la portada del libro. El manuscrito deberá enviarse en formato Word (.doc o .docx), las tablas en formato (.doc o .docx)

CARACTERÍSTICAS FORMALES EN LA REDACCIÓN DEL MANUSCRITO

Cada trabajo, en función del tipo de artículo anteriormente expresado, deberá estar estructurado según se ha comentado anteriormente. De forma general los trabajos deberán ir escritos en folios tamaño DIN A4 con una letra 10, tipo Times New Roman, con unos márgenes de 2.5cm y un interlineado de 1.5 con una justificación completa. Los artículos podrán enviarse en Español o Inglés, que son los dos idiomas oficiales de la revista.

Durante la elaboración del manuscrito podrán realizarse abreviaturas, previamente especificadas y aclaradas durante la primera aparición de la misma. Se recomienda uso de abreviaturas comunes en el lenguaje científico. No se permitirá el uso de abreviaturas en el título ni el resumen, únicamente en el cuerpo principal del manuscrito. Se deberá hacer especial hincapié en la expresión correcta y adecuada de las unidades de medida.

Se considera fundamental y norma editorial la elaboración de un manuscrito que siga las instrucciones anteriormente mencionadas en cuanto a la estructura de cada uno de los tipos de artículos. La estructura general de envío de los artículos será la siguiente:

- Página inicial o Página de Título

- Deberá incluirse un Título sin más de 90 caracteres que sea lo suficientemente claro y descriptivo

- Nombre y Apellidos de los autores

- Indicar las Instituciones en las que Trabajan o proceden los autores

- Incluir el nombre completo, dirección, e-mail y teléfono del Autor para la Correspondencia

- Título breve: Sin superar los 50 caracteres

- Añadir el número de palabras sin incluir el resumen y el número de tablas y figuras si procede

- Segunda página o Página de Resumen y palabras clave

Se deberá incluir un Resumen si procede según el tipo de manuscrito elegido, en el que deberá incluirse unos Objetivos (indicar el propósito del estudio de forma clara y breve), Métodos (indicando el diseño del estudio, pruebas realizadas, tipo de estudio, selección de pacientes y estudio estadístico), Resultados (los más significativos con su estudio estadístico correspondiente) y Conclusiones (énfasis en lo más importante de lo obtenido en el estudio).

A continuación se incluirán de 3 a 6 palabras clave.

- Tercera página o Página de Resumen y palabras clave en Inglés

Siguiendo las mismas recomendaciones anteriormente descritas pero en Inglés.

- Texto y Cuerpo del manuscrito con sus diferentes apartados

- Introducción: Se incluirán los antecedentes más importantes, así como los objetivos del estudio a realizar.

- Material y Métodos: Es la parte fundamental y más crítica del manuscrito. Es conveniente especificar el periodo de estudio, el tipo de población, el diseño del estudio, los procedimientos e instrumentos utilizados en el estudio, así como especificar los criterios de inclusión y de exclusión en el estudio. Deberá incluirse el tipo de estudio estadístico realizado según las características de las variables analizadas y estudiadas. Además se añadirá si cumple con los requisitos éticos del comité del centro donde se ha llevado a cabo el estudio.

- Resultados: Deben ser claros, concisos y bien explicados. Se intentará resumir parte de ellos en tablas para evitar confusión durante su lectura. Se recomienda no repetir información de las tablas o gráficos en el texto.

- Discusión: Deberán discutirse los resultados obtenidos con respecto a los datos existentes en la literatura de una forma clara y científicamente adecuada. Se evitará repetir comentarios o datos contemplados en los apartados anteriores en la medida de lo posible.

- Conclusiones: Se deberán destacar los aspectos más importantes de los datos obtenidos de forma breve y con mensajes directos

- Agradecimientos

- Referencias o Bibliografía: Se incluirán las citas que el autor o autores hayan utilizado en la elaboración del manuscrito y quede constancia de ellas en el texto. Deberán ser ordenadas según su aparición en el texto y ser incluidas dentro del mismo entre paréntesis y con números arábigos. En general, se deberán referenciar siguiendo las normas Vancouver. Se expresan diferentes ejemplos a continuación para facilitar la labor de los autores. En caso de que su tipo de cita no aparezca entre los ejemplos le rogamos revise las normas Vancouver.

- Artículo: Deberán incluirse todos, a menos que haya más de 6, en cuyo caso se pondrán los tres primeros y et al. Ej: Nisengard R, Bascones A. Invasión bacteriana en la enfermedad periodontal. *Avodontotoestomatol.* 1987; 3: 119-33

- Suplemento de un volumen: Shen HM, Zhang KF. Risk assesment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Supl 1: 275-82.

- Suplemento de un número: Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann ClinBiochem.* 1995; 32 (Pt 3): 303-6.

- Artículo en prensa: Deberá referenciarse igual que un artículo, pero añadiendo en la medida de lo posible el doi del artículo. Ej: Arrabal-Polo MA, Arias-Santiago S, Arrabal-Martin M. What is the value of boneremodeling markers in patients with calcium stones? *Urol Res.* doi: 10.1007/s00240-012-0511-1

- Libros: Carranza FA Jr. *Glickman's clinical periodontology.* Saunders: Philadelphia; 1984

- Capítulo de libros: Takey H, Carranza FA Jr. Treatment of furcation involvement and combined periodontal endodontic therapy. En Carranza FA Jr. *Glickman's clinical periodontology.* Saunders: Philadelphia; 1984.

- Editores o compiladores como autores: Norman JJ, Redfern SJ, editores. *Mental health care for elderly people.* Nueva York: Churchill Livingstone; 1996.

- Documento de Internet: Donaldson L, May, R. Health implications of genetically modified foods [citado 1 de enero. 2013]. www.doh.gov.uk/gmfood.htm

- Tablas

Deberán realizarse siguiendo los mismos criterios en cuanto a tamaño y tipo de letra, así como interlineado. Cada tabla será incluida en una página en solitario y deberá ser numerada de forma correlativa a su aparición en el texto con números arábigos. Deberá llevar un título explicativo del contenido de la misma de manera clara y concisa. El formato de realización de las tablas será .doc o .docx.

- Figuras

Tanto gráficos como fotografías, dibujos o esquemas se consideran figuras. Deberán numerarse según el orden de aparición en el texto. Cada una de las figuras llevará un título explicativo de las mismas, que deberá incluirse en el cuerpo principal del manuscrito tras las Referencias o Bibliografía. Cada figura deberá enviarse en un archivo individual principalmente en formato .tiff o .jpg con una calidad de al menos 300 dpi. Se añadirá además un pie de figura explicativo.

DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL Y PROCESO EDITORIAL

COPYRIGHT

La Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental, como propietaria de la revista ACTUALIDAD MÉDICA será responsable de custodiar los derechos de autoría de cada manuscrito. Los autores serán requeridos a completar un

documento en lo que concierne a derechos de autoría y la transferencia de estos derechos a la revista ACTUALIDAD MÉDICA (mirar documento). El autor corresponsal está obligado a declarar si alguno de los autores es empleado del Gobierno de Reino Unido, Canadá, Australia o Estados Unidos de América o si tiene algún tipo de relación contractual con estas instituciones. En el caso de que un autor sea empleado de Estados Unidos de América, deberá especificar el número de contrato, así como si la investigación ha recibido fondos de Estados Unidos. Igualmente, si alguno de los autores pertenece al Instituto Médico Howard Hughes, deberá especificarlo.

La firma y acuerdo de copyright incluye:

- Responsabilidad y garantía del autor: El autor garantiza que todo el material enviado a ACTUALIDAD MÉDICA es original y no ha sido publicado por otra revista o en otro formato. Si alguna parte del trabajo presentado ha sido previamente publicada, deberá especificarse en el manuscrito. El autor garantiza que ninguno de los datos presentados infringe los derechos de terceras partes y autoriza a ACTUALIDAD MÉDICA a usar el trabajo si fuera necesario.

- Transferencia de derechos de uso: El autor transfiere a la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental todos los derechos concernientes al uso de cualquier material derivado del trabajo aceptado para publicación en ACTUALIDAD MÉDICA, así como cualquier producto derivado respecto a la distribución, transformación, adaptación y traducción, tal y como figura en el texto revisado de la Ley de Propiedad Intelectual.

Por tanto, los autores no estarán autorizados a publicar o difundir trabajos aceptados para publicación en ACTUALIDAD MÉDICA sin la expresa autorización escrita de la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental.

PROCESO EDITORIAL Y REVISIÓN

Los manuscritos enviados son recibidos a través de un sistema de envío mediante página web y, una vez recibidos, ACTUALIDAD MÉDICA informará a los autores si el manuscrito es aceptado, rechazado o requiere de un proceso de revisión. El proceso de revisión comienza tras la recepción y una evaluación formal del Editor o Editores Asociados. Posteriormente, el manuscrito será enviado a un mínimo de dos revisores externos o miembros del Consejo Rector o del Comité Científico sin que aparezca el nombre de los autores, datos personales ni filiación de los mismos para asegurar un proceso de revisión apropiado y objetivo. Una vez que el informe del revisor externo se ha recibido, el Comité Editorial emitirá una decisión que será comunicada a los autores. El primer proceso de revisión no durará más de dos meses. Si un manuscrito requiere cambios, modificaciones o revisiones, será notificado a los autores y se les dará un tiempo para que realicen dichos cambios. La cantidad de tiempo dependerá del número de cambios que se requieran. Una vez que la versión revisada sea enviada, los autores deberán resaltar los cambios realizados en un color diferente y adjuntar una carta de respuesta a los revisores donde se argumentan de forma clara dichos cambios realizados en el manuscrito.

El Comité Editorial de ACTUALIDAD MÉDICA se reserva el derecho de hacer cambios o modificaciones al manuscrito con el consentimiento y aprobación de los autores sin hacer cambios en el contenido. El objetivo de estos cambios será mejorar la calidad de los manuscritos publicados en la revista.

Tras la aceptación de un artículo, este será enviado a prensa y las pruebas serán enviadas al autor. El autor deberá revisar las pruebas y dar su aprobación, así como indicar cualquier error o modificación en un plazo de 48 horas. Pasado este tiempo, no se admitirán cambios en el contenido científico, el número o el orden de los autores.

En caso de que aparezca errores tipográficos u otros errores en la publicación final, el Comité Editorial junto con los autores publicarán una aclaración apropiada en el siguiente número de la revista.

En el caso extremo en que los autores insistieran en hacer cambios no autorizados antes de la publicación final del artículo o violar los principios previamente mencionados, el Comité Editorial de ACTUALIDAD MÉDICA se reserva el derecho de no publicar el artículo.

En agradecimiento, los revisores recibirán un diploma reconociendo su contribución a ACTUALIDAD MÉDICA (requiere solicitud al Editor). El Comité Editorial y Científico añadirán nuevos revisores cada año y están siempre abiertos a las sugerencias de los revisores para mejorar la calidad científica de la revista.

POLÍTICA EDITORIAL Y PUBLICIDAD

La revista ACTUALIDAD MÉDICA se reserva el derecho de admitir publicidad comercial relacionada con el mundo de las Ciencias de la Salud si lo cree oportuno.

ACTUALIDAD MÉDICA, su Consejo Editorial y Científico y la Real Academia de Medicina de Andalucía Oriental no se hacen responsables de los comentarios expresados en el contenido de los manuscritos por parte de los autores.

El Comité Editorial.

1 de abril de 2015.

AGRADECIMIENTOS



ANDALUCÍA MÉDICA

Revista editada por el
Consejo Andaluz de Colegios de Médicos



Toda la información
sobre la **actualidad colegial** en Andalucía

Publicación
bimestral



Edición
impresa y **online**

www.andaluciamedica.es

ACTUALIDAD M É D I C A

www.actualidadmedica.es



**Real Academia de Medicina y Cirugía
de Andalucía Oriental
Granada**