

## RESPUESTA A LOS AGENTES DE ACCIÓN DIRECTA FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN CONDICIONES DE VIDA REAL

La violencia familiar y de género: un compromiso de todos

Obtención y caracterización de un modelo de cartilago a partir de hidroxiapatita, quitosano y policaprolactona

Evaluación de la densidad ósea en defectos óseos palatinos tras injerto de tejido óseo generado mediante ingeniería tisular en conejosa

Modificaciones de la fibrosis hepática valorada mediante elastometría transitoria en pacientes con respuesta viral sostenida tras el tratamiento de la hepatitis C en pacientes mono infectados (VHC) y coinfectados (VHC – VIH)

Identificación y análisis de la percepción de los conceptos umbrales en ingeniería tisular en estudiantes del grado de medicina

Células Madre endometriales: Aplicaciones clínicas y terapéuticas

Hipertensión arterial maligna y trombopenia en trasplantado renal tras cambio de sirolimos a tacrolimus

Propranolol, efecto terapéutico simultáneo en una paciente. ¿Existe la polipíldora?

Neurociencia

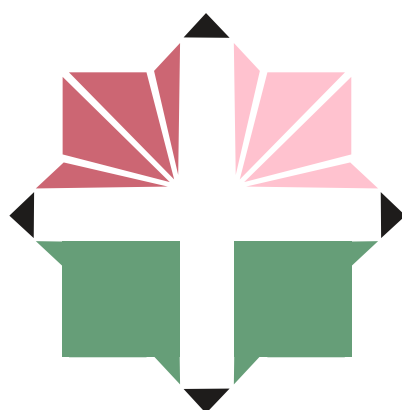
Síndrome fibromiálgico: ¿fecha de la primera referencia en la bibliografía médica mundial?

La AEPD autoriza la publicación de los pagos de la industria farmacéutica a los profesionales sanitarios sin su consentimiento: análisis de implicaciones en privacidad, fiscalidad e incompatibilidades

Leucemia linfática crónica B. Diagnóstico, pronóstico y tratamiento



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](http://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  
Complejo Hospitalario Universitario de Granada

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

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

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)

### © 2017. Actualidad Médica

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

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

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

## Comité rector

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

Profª. Dª. Aurora Valenzuela Garach  
Decana de la Facultad de Medicina  
de la Universidad de Granada

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

Mª Elsa Gómez de Ferraris  
Universidad Nacional de Córdoba,  
Argentina

Antonio Rendas  
Universidade Nova de Lisboa  
Portugal

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

Duarte Nuno Vieira  
Universidade de Coimbra,  
Coimbra, Portugal

Alice Warley  
King's College  
Londres, Reino Unido

Sebastián San Martín  
Universidad de Valparaíso  
Valparaíso, Chile

Antonio Alcaraz Asensio  
Hospital Clinic  
Barcelona, España

## Diseño y maquetación

ARP Producciones

## Imprenta

Gráficas Alhambra

Disponible en internet:  
[www.actualidadmedica.es](http://www.actualidadmedica.es)

Atención al lector:  
[info@actualidadmedica.es](mailto:info@actualidadmedica.es)  
Actualidad Médica.

Avda. Madrid 11. 18012 Granada · España.

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

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

Impreso en España.

Depósito Legal: GR-14-1958

ISSN: 0365-7965

DOI: 10.15568/am

Revista editada por:



Real Academia de Medicina y Cirugía  
de Andalucía Oriental  
Granada



Facultad de Medicina.  
Universidad de Granada



Asociación de Antiguos Alumnos  
de Medicina de Granada

Con el patrocinio de:



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

**ACTUALIDAD  
MÉDICA**

[www.actualidadmedica.es](http://www.actualidadmedica.es)

© 2017. 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

- 5 EDITORIAL**  
La violencia familiar y de género: un compromiso de todos  
Family and Gender Violence: a commitment  
*María Castellano Arroyo*
- 7 ORIGINAL**  
Obtención y caracterización de un modelo de cartílago a partir de hidroxiapatita, quitosano y policaprolactona  
Synthesis and characterization of a cartilage model using hydroxyapatite, chitosan and polycaprolactone  
*Antonio Jesús Láinez Ramos et al*
- 13** Evaluación de la Densidad Ósea en defectos óseos palatinos tras injerto de tejido óseo generado mediante Ingeniería Tisular en conejos  
Evaluation of bone density in palatine bone defects after grafting of bone generated by tissue engineering in rabbits  
*Ricardo Fernández-Valadés Gámez et al*
- 18** Modificaciones de la fibrosis hepática valorada mediante elastometría transitoria en pacientes con respuesta viral sostenida tras el tratamiento de la hepatitis C en pacientes mono infectados (VHC) y coinfectados (VHC – VIH)  
Modifications of hepatic fibrosis assessed by transient elastometry in patients with sustained virological response after treatment of hepatitis C in mono infected (VHC) and coinfecting patients (VHC – VIH)  
*Miguel Ángel López Zúñiga et al*
- 23** Respuesta a los agentes de acción directa frente al Virus de la Hepatitis C en condiciones de vida real  
Response to direct acting agents against the hepatitis C virus in real life conditions  
*Miguel Ángel López Zúñiga et al*
- 29** Identificación y análisis de la percepción de los conceptos umbrales en ingeniería tisular en estudiantes del grado de medicina  
Identification and threshold concepts' perceptions in tissue engineering medical students  
*Saavedra-Casado, Salvador et al*
- 34 REVISIÓN**  
Células Madre endometriales: Aplicaciones clínicas y terapéuticas  
Endometrial Stem Cells: Clinical and therapeutical applications  
*Gonzalo Lendínez Sánchez*
- 39 CASO CLÍNICO**  
Hipertensión Arterial Maligna y Trombopenia en Trasplantado Renal tras Cambio de Sirolimus a Tacrolimus  
Malignant hypertension and thrombopenia in renal transplant after switching from sirolimus to tacrolimus  
*Clara M<sup>a</sup> Moriana Domínguez et al*
- 42** Propranolol, efecto terapéutico simultáneo en una paciente. ¿Existe la polipíldora?  
Propranolol, simultaneous therapeutic effect in a patient. Is there a polypill?  
*Fernando Leiva-Cepas et al*
- 45 CRÍTICA DE LIBROS**  
Neurociencia  
Neuroscience  
*Fernando Leiva-Cepas*
- 46 CARTAS AL EDITOR**  
Síndrome fibromiálgico: ¿fecha de la primera referencia en la bibliografía médica mundial?  
Syndrome fibromyalgia date of the first reference in the bibliography medical world?  
*José Antonio García Viudez*
- 47 DERECHO SANITARIO**  
La AEPD autoriza la publicación de los pagos de la industria farmacéutica a los profesionales sanitarios sin su consentimiento: análisis de implicaciones en privacidad, fiscalidad e incompatibilidades  
The national data protection authority from Spain authorizes the publication of transfers of value from pharmaceutical companies to healthcare professionals without their authorization: analysis of implications in privacy, tax and incompatibilities law  
*Javier Villegas Flores et al*
- 52 AULA DE ONCOLOGÍA**  
Leucemia linfática crónica B. Diagnóstico, pronóstico y tratamiento  
B chronic lymphocytic leukemia. Diagnosis, prognosis and treatment  
*Paloma García Martín et al*

## La violencia familiar y de género: Un compromiso de todos

### Family and Gender Violence: a commitment

María Castellano Arroyo

*Catedrática de Medicina Legal*

*Forense y Académico de Número de las Reales Academias de Medicina de Andalucía Oriental y Nacional de España*

La violencia familiar, y de forma particular, la violencia contra la mujer o de género, nos interesó de forma personal desde mediados de los años ochenta, continuando hasta nuestros días con contribuciones y publicaciones varias. La implicación de los poderes públicos se puso de manifiesto con la tipificación del delito de violencia en el ámbito familiar (CP 1989, 1995 y 1999) y con leyes y normas específicas posteriores (Ley Reguladora de la Orden de Protección de las víctimas de violencia doméstica, la ley O 11/2003 de medidas concretas en materia de seguridad ciudadana, extranjería y violencia doméstica y la Ley O. 1/2004 de Protección integral a las víctimas de violencia de género.

En una primera fase se arbitraron medidas de protección para las mujeres víctimas, al mismo tiempo se organizaron cursos formativos que sensibilizaron a las fuerzas de seguridad del estado instituyendo equipos de apoyo en estrecha relación con los Servicios de Atención a las Víctimas, anexos a los Institutos de Medicina legal provinciales. Más tarde se atendieron las sugerencias sobre la importancia de atender al agresor en los aspectos médicos a fin de tratar posibles adicciones a alcohol o drogas o patología mental, en el caso de que existieran, ya que la mejoría/curación del agresor proporcionaba seguridad a la víctima. Por nuestra parte siempre insistíamos en la importancia de la evaluación integral del caso y de forma particular, la valoración médico-psicológico-psiquiátrica del agresor a fin de determinar el riesgo que constituía para la víctima.

Tras más de 25 años de experiencia en la valoración integral de la violencia familiar y de género, aprovechando la celebración en Badajoz de las XXI Journées Méditerranéennes de Médecine Légale y a través de una mesa redonda hemos propuesto un Decálogo en el que hemos concentrado todas las posibles medidas preventivas que viniendo desde los diferentes frentes implicados, incidan en la prevención y erradicación de la violencia familiar y de género, en particular. Son medidas que bien coordinadas e integradas, y bien aplicadas favorecen el mejor aprovechamiento de todos los recursos de que se dispone en este campo. Cada año mueren en España alrededor de 60 mujeres a manos de su agresor; en lo que llevamos de año 2017 han ocurrido 7 homicidios de mujeres a manos de sus maridos, parejas o exparejas. Todos estamos comprometidos en la erradicación de la violencia y, de forma especial, en la que se genera en el ámbito familiar y sobre las mujeres de forma particular. Quiero agradecer a ACTUALIDAD MÉDICA que haga suyo, como el citado congreso, este Decálogo y lo proponga como editorial para su difusión en sus lectores de España y América.

#### DECÁLOGO CONTRA LA VIOLENCIA DE GÉNERO

La Medicina Legal y Forense, comprometida en la lucha contra la violencia familiar y de género considera que ésta debe ser abordada cumpliendo los siguientes objetivos estratégicos:

##### 1. FORMACIÓN Y EDUCACIÓN-MEDIOS DE COMUNICACIÓN

a. Niños y jóvenes. La igualdad y el respeto al otro/a como principio de conducta. Enseñar el método para conseguir el mejor conocimiento de uno mismo, para así, conocer mejor al otro/a y aceptarlo en su personalidad e individualidad

b. Adultos. Información y educación en la realidad legal en lo que se refiere a la obligación del respeto a las personas, iguales en derechos y en dignidad. Especial incidencia en la igualdad entre hombres y mujeres.

c. Los medios de comunicación llegan a personas, lugares y espacios muy amplios. Tienen el deber de tratar la violencia familiar y de género con mensajes claros a través de campañas, programas y otras actuaciones, considerando estas conductas como rechazables socialmente y fuera de cualquier justificación. Transmitir el apoyo incondicional a las víctimas por parte de toda la sociedad. Aprovechar todas las oportunidades para colaborar con las directrices educativas en este ámbito.

##### 2. DETECCIÓN

a. Conflicto familiar. Intervención y apoyo psicosocial y legal para su mejor solución, y como medio de prevención de la violencia

b. Violencia de género. Identificar el problema y abordarlo precozmente con los recursos disponibles, velando y cuidando, en primer lugar, la seguridad de la víctima.

##### 3. ENTORNO FAMILIAR

Compromiso familiar.

- Reconocer la realidad del hecho. Apoyar a la víctima en su seguridad y la denuncia. Participar y ayudar en la mejor orientación y solución del problema.



#### 4. ÁMBITO MÉDICO-ASISTENCIAL

a. Sospecha. Dotar a los médicos de formación específica para detectar este problema en su inicio

b. Diagnóstico. Establecer protocolos precisos para que a través de una anamnesis, síntomas y signos sea posible, para cualquier médico realizar un diagnóstico de sospecha de violencia

c. Denuncia. En el Parte de Lesiones al Juez, el médico debe realizar una valoración realista de la situación, derivada fundamentalmente de las lesiones, poniendo especial énfasis en los riesgos inmediatos. Tomar las decisiones conducentes a asegurar las pruebas de convicción, asesorando a la víctima y buscando la colaboración especializada necesaria.

d. Ayuda. Apoyar y ayudar a la víctima en la denuncia, evaluando su situación, así como los recursos disponibles que garanticen su seguridad inicial y los sucesivos pasos para la mejor orientación y solución al problema.

e. Atender el problema como un tema de salud individual y pública, teniendo en cuenta la estructura familiar (hijos), situación económica-social y otras circunstancias particulares. Proporcionando de inmediato, el tratamiento que esté indicado.

#### 5. ÁMBITO POLICIAL

Atender el problema adecuadamente desde su origen. Cuidar la dignidad de la víctima, facilitando la denuncia y la asistencia médica (si esta es necesaria), recabando los datos indicativos del riesgo que la situación concreta supone para la víctima e inmediato traslado al ámbito judicial.

Ofrecer la posibilidad de solicitar la Orden de protección

#### 6. ÁMBITO JUDICIAL (JUECES Y MINISTERIO FISCAL)

Valoración de la realidad y gravedad del hecho tanto por el Ministerio Fiscal (que deberá solicitar las medidas) como por el Juez que debe aprobarlas. Diligencia para tomar las medidas adecuadas a la seguridad de la víctima. Disponer las medidas necesarias para la evaluación médico-forense del agresor y de la víctima de forma precoz.

#### 7. EVALUACIÓN MÉDICO-FORENSE DE LA DENUNCIA POR VIOLENCIA DE GÉNERO. SE REALIZARÁ EN LAS UNIDADES DE VALORACIÓN INTEGRAL DE VIOLENCIA DE GÉNERO. VÍCTIMA

##### 7.1. EVALUACIÓN DE LA VÍCTIMA

Evaluación médica y psicológica-psiquiátrica de la víctima. Valorar el daño (físico o psíquico) que pueda haber sufrido. Evaluar los apoyos médico-psicológicos necesarios para la mejor recuperación personal y socio-laboral de la víctima. Colaboración de los equipos psicosociales (psicólogos y trabajadores sociales).

#### 8. EVALUACIÓN DE LOS HIJOS MENORES DE EDAD

a. Son igualmente víctimas. Valorar su papel en el conflicto. Valorar el daño psíquico sufrido. Valorar los apoyos médico-psicológicos que necesitan para superar adecuadamente y sin secuelas la situación tanto personal como familiar y social. Valorar medidas relativas a patria potestad, custodia, visitas, etc. Del presunto agresor, atendiendo a los datos reales de cada caso.

#### 9. EVALUACIÓN DEL AGRESOR

a. ES FUNDAMENTAL. Se debe hacer la valoración médico-psicológico-psiquiátrica, la cual irá orientada a la determinación DEL RIESGO QUE ÉSTE REPRESENTA PARA LA VÍCTIMA. Para ello es preciso evaluar: personalidad (rasgos de riesgo) actitud hacia la víctima, expresión manifiesta o latente de amenazas, adicciones (alcohol, otras), incumplimiento de medidas judiciales (des-

obediencia, orden de alejamiento...) y comportamientos antisociales, agresivos o violentos.

#### 10. EVALUACIÓN INTEGRAL Y PROPUESTAS MÉDICO-SOCIALES-JUDICIALES

a. Armonizar la información obtenida de la víctima, de los hijos y del agresor para comprender y explicar la dinámica de la relación de pareja y de la violencia.

b. Trasladar a la autoridad judicial la realidad de la víctima: valoración del daño (a efectos judiciales de calificación de la gravedad del delito) y la situación de los hijos. Manifestar las necesidades médico-psicológicas de tratamiento para minimizar el daño y favorecer la recuperación personal y socio-laboral.

c. Trasladar a la autoridad judicial LA REALIDAD DEL AGRESOR. La seguridad de la víctima depende del agresor, por tanto ES OBJETO MÉDICO-FORENSE PRINCIPAL LA CORRECTA VALORACIÓN DEL RIESGO QUE ESTE REPRESENTA PARA LA VÍCTIMA, especialmente en el Juzgado de guardia.

## Obtención y caracterización de un modelo de cartílago a partir de hidroxiapatita, quitosano y policaprolactona

Synthesis and characterization of a cartilage model using hydroxyapatite, chitosan and polycaprolactone

Antonio Jesús Láinez Ramos, Mario Rivera Izquierdo  
Departamento de Histología, Universidad de Granada

### Resumen

**Introducción:** El cartílago es una estructura clave que permite el deslizamiento de los huesos evitando la fricción y su desgaste. Sus propiedades biomecánicas vienen determinadas por la interacción entre sus componentes principales. La elevada incidencia de lesiones condrales ha originado un amplio número de estudios con objeto de tratar los defectos del cartílago articular. Las estrategias terapéuticas ensayadas incluyen la terapia celular, el uso de biomateriales y, especialmente, la ingeniería tisular, que ha demostrado un gran potencial para tratar estos defectos. Se han ensayado diversos biomateriales para constructos tisulares e hidrogeles, incluyendo polímeros naturales y sintéticos.

**Objetivos:** El objetivo de este trabajo es presentar un método de obtención de cartílago articular basado en quitosano (CS), policaprolactona (PCL) e hidroxiapatita (HA).

**Material y métodos:** Se utilizaron como biomateriales de base el quitosano, policaprolactona y la hidroxiapatita. Se sintetizó una biomatriz de quitosano y policaprolactona mediante el método de disolución en medio ácido y la hidroxiapatita con productos químicos habituales. Se realizaron varias mezclas con distintas proporciones de quitosano, policaprolactona e hidroxiapatita y se evaluó su capacidad de absorción de agua, humedad, densidad, porosidad volumétrica y propiedades de procesamiento histológico, comparándose con los valores respectivos del cartílago articular normal.

**Resultados:** De las mezclas ensayadas, la mezcla 80CS/15PCL/5HA mostró una mayor similitud al cartílago normal en los parámetros medidos. Asimismo, esta mezcla presentó unas características aptas para el procesamiento histológico habitual.

**Discusión:** En este estudio se presenta un método sencillo y económico para obtener biomatrices basadas en quitosano, policaprolactona e hidroxiapatita. Para las proporciones ensayadas, la mezcla 80CS/15PCL/5HA presenta unas propiedades de gran interés para ser utilizada como modelo de cartílago articular artificial. En un futuro se caracterizarán otras propiedades biomecánicas y biológicas.

### Abstract

**Introduction:** Articular cartilage (AC) is a key structure in bone displacement that limits its friction and subsequent erosion. The biochemical properties of AC are determined by the interaction of its constituents. The high incidence of chondral lesions has led to a number of studies aimed to developing therapies to heal cartilage defects. These include cell therapy, use of biomaterials and, especially, tissue engineering, which has shown promising results. Many biomaterials, including natural and synthetic polymers, have been explored to develop tissue constructs and hydrogels.

**Objectives:** The present study aims to synthesize and evaluate bioscaffolds for articular cartilage made of chitosan (CS), polycaprolactone (PCL) and hydroxyapatite (HA).

**Materials and methods:** CS, PCL and HA were used as biomaterials. CS-PCL bioscaffold was synthesized by acid solution method and HA with common chemicals. Several blends were prepared with varying percentages of CS, PCL and HA. Water uptake capability, humidity, density, volumetric porosity and properties of histological processing were assessed and compared to the values of normal AC.

**Results:** For the assessed parameters and melts, the melt 80CS/15PCL/5HA showed the most similar values in comparison with normal cartilage. This melt also showed correct characteristics for standard histological processing.

**Discussion:** In this study we present a simple and inexpensive method to obtain bioscaffolds based on CS, PCL and HA. For the percentages explored, the melt 80CS/15PCL/5HA showed promising properties to be used as artificial AC model. More biomechanical and biological properties shall be assessed in the future.

*Palabras clave:* hidroxiapatita, quitosano, policaprolactona, cartílago articular.

*Keywords:* hydroxyapatite, chitosan, polycaprolactone, articular cartilage.

## INTRODUCCIÓN

El cartílago articular es un tejido altamente especializado que cubre la epífisis de los huesos largos enfrentados en las diartrosis y facilita su deslizamiento relativo gracias a sus propiedades físicas y biológicas, entre las que destaca su deformabilidad, resistencia a la compresión y deslizamiento a baja fricción (1-4). Desde el punto de vista anatómico, el cartílago articular humano es macroscópicamente blanco, brillante y firme, carece de vasos sanguíneos, linfáticos y nervios y presenta un grosor variable entre 2 y 4 mm. Desde el punto de vista histológico, el cartílago articular es un cartílago hialino con un componente celular y otro extracelular. Las células principales que conforman el cartílago articular son los condrocitos, de origen mesenquimal, que suponen un 5% del tejido cartilaginoso y se encargan de sintetizar, organizar y mantener la matriz extracelular (MEC) (5, 6). Por su parte, la MEC es una estructura tridimensional compleja compuesta por diversas sustancias, a saber, agua, colágeno (fundamentalmente tipo II), glicosaminoglicanos, proteoglicanos y otras proteínas. Desde el punto de vista biofísico, el cartílago articular es un material poroso y viscoelástico en el que se distinguen tres fases: una sólida (red de colágeno, 15-22% del peso húmedo, y proteoglicanos, 4-7% del peso húmedo), una líquida acuosa (< 80% del peso); y otra iónica ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ , etc.) (4-7). Estas tres fases actúan conjuntamente y permiten que el cartílago soporte elevadas cargas compresivas sin lesionarse (8).

Las lesiones del cartílago articular son muy frecuentes. Los estudios epidemiológicos señalan que aproximadamente el 6% de los adultos presentan una afección degenerativa de la rodilla, porcentaje que aumenta al 10% en personas mayores de 65 años (9). Varios estudios han informado de un porcentaje superior al 60% de lesiones condrales en artroscopias de rodilla (10, 11). Estas lesiones pueden evolucionar y producir artrosis, ocasionando un rápido deterioro del cartílago. Las lesiones articulares no suelen producirse por mecanismos directos sino por la variación de la magnitud o dirección de las cargas a lo largo del tiempo sobre un cartílago, cada vez, en peores condiciones. El proceso reparativo del cartílago articular consiste en el reemplazo de la MEC y las células, dañadas o perdidas, por nuevo tejido. Por la baja densidad celular y la incapacidad de los condrocitos para migrar hacia el defecto, la reparación requiere un considerable esfuerzo en un tejido ya de por sí comprometido por la falta de riego sanguíneo (12).

La elevada incidencia de lesiones condrales ha motivado la realización de un amplio número de estudios con objeto de desarrollar estrategias terapéuticas eficaces para subsanar los defectos del cartílago articular. La mayor parte de estos ensayos se han realizado sobre cartílago rotuliano, pues la patología articular es más frecuente a este nivel. Sin embargo, pese a los esfuerzos realizados hasta la fecha, la solución ideal aún parece lejos de llegar a la realidad clínica (13). Se han ensayado diversas matrices biodegradables con la finalidad de ser implantadas en la zona del defecto y favorecer el proceso de reparación condral (14, 15). En este contexto, actualmente han cobrado gran importancia los hidrogeles inyectables, especialmente los que incorporan nanopartículas de hidroxiapatita (nHA), pues potencian la integración del constructo condral a la matriz ósea (16, 17). En este sentido, el papel de la hidroxiapatita parece fundamental, hasta tal punto que algunos autores han propuesto utilizarla incluso para favorecer la integración cartilago-cartilago (en contenidos inferiores al 1%) (13, 17).

## OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es obtener biomateriales a partir de la combinación de distintas proporciones de hidroxiapatita (HA), quitosano (CS) y policaprolactona (PCL) con objeto de estudiar algunas propiedades de interés y realizar un estudio comparativo respecto al cartílago articular. De este modo, pretendemos caracterizar un potencial modelo de cartílago articular artificial.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para caracterizar los biomateriales se utilizaron diversos productos químicos, incluyendo quitosano con un grado de

deacetilación de aproximadamente un 85% (Sigma Aldrich) y policaprolactona (peso molecular 80.000 g mol<sup>-1</sup>, Sigma Aldrich). Los ácidos y bases utilizados fueron provistos por el Departamento de Histología de la Universidad de Granada y eran de grado analítico. La HA fue sintetizada en laboratorio.

### 1. Síntesis de HA

La HA fue sintetizada mediante una variante del método descrito en (18). Brevemente, se mezcló una disolución 0.6 M de fosfato de diamonio con una suspensión 1 M de hidróxido cálcico a partes iguales. El pH se ajustó a 11.5 mediante adición continua de hidróxido sódico y se activó la reacción química mediante calentamiento a 90 °C durante una hora. Posteriormente se agitó la disolución durante 2 horas y se dejó en reposo 2 días, obteniéndose un precipitado de HA que fue posteriormente secado a 300 °C durante 2 horas.

### 2. Obtención de la matriz de CS-PCL y adición de la HA sintetizada

La matriz de CS-PCL se obtuvo siguiendo una variante del método descrito en (19). Brevemente, el CS se disolvió en una disolución de ácido acético 1 M hasta obtener una disolución al 3% en peso/volumen. Por otro lado, la PCL se disolvió en una disolución de ácido acético glacial 1 M hasta obtener una disolución al 3% en peso-volumen. Las disoluciones obtenidas se mezclaron a 90 °C durante 3 horas y se dejaron en reposo.

Para obtener los constructos finales se añadió disolución de HA ajustada para obtener una cantidad teórica del 5% en peso de HA en cada una de las combinaciones de CS-PCL. Finalmente se obtuvieron las mezclas, resumidas en la Tabla 1.

Mezcla	% en peso de CS	% en peso de PCL	% en peso de HA
A	90	5	5
B	80	15	5
C	70	25	5
D	60	35	5

### 3. Caracterización del biomaterial

Se evaluaron varios parámetros de las mezclas obtenidas, a saber, humedad relativa, capacidad de absorción de agua, densidad, porosidad volumétrica y procesamiento histológico. Las técnicas y fórmulas utilizadas están descritas en la bibliografía (20-24). Se tomaron entre 5 y 10 muestras de cada mezcla obtenida y se anotaron, según procediese, los valores correspondientes.

#### 3.1 Cálculo de la humedad relativa de las mezclas

Para calcular la humedad relativa de las mezclas obtenidas se utilizó un higrómetro resistivo (Mastech® MS6900). Las muestras tomadas presentaban una anchura superior a 20 mm (distancia entre los electrodos). Posteriormente se compararon los resultados de las cuatro mezclas con los del cartílago humano.

#### 3.2 Cálculo de la capacidad de absorción de agua de las muestras

Para calcular la capacidad de absorción de agua se siguió un método similar al descrito en la bibliografía (25, 26). Brevemente, las muestras se secaron en la estufa a 37 °C durante 48 horas y posteriormente se pesaron ( $W_0$ ). A continuación las muestras se sumergieron en agua destilada a 25 °C durante 24 horas. Finalmente se secaron con papel absorbente para eliminar el exceso de agua de la superficie y se pesaron de nuevo ( $W_1$ ). La capacidad de absorción de agua se calculó mediante la fórmula:

$$\omega = 100 \times (W_1 - W_0) / W_0$$



donde  $w$  es el incremento porcentual final de peso de las muestras.

### 3.3 Cálculo de la densidad de las mezclas

Para calcular la densidad de las mezclas, en primer lugar se obtuvieron varias muestras de cada mezcla y se pesaron. A continuación se introdujeron en un recipiente con volumen conocido de agua y se midió la variación del rasado. La densidad se calculó a partir de la relación masa/volumen para cada muestra. Posteriormente se compararon los resultados de las cuatro mezclas con los del cartilago humano.

### 3.4 Cálculo de la porosidad volumétrica de las mezclas

Para calcular la porosidad volumétrica de las mezclas obtenidas, las muestras de cada mezcla se secaron a 105 °C durante 30 minutos. A continuación se pesaron y se anotó el valor correspondiente. Posteriormente se sumergieron en agua destilada a 25 °C durante 48 horas. Finalmente se sacaron del agua, se dejaron secar durante 2 horas y se pesaron. La porosidad volumétrica se calculó mediante la fórmula:

$$\rho_v = \rho_m / (\rho_m + p_f / \rho_m)$$

Donde  $\rho_m$  es la densidad del material seco;  $p_f$  es el valor de la densidad del agua (a 25 °C y 1 atm, equivale a 1 mg/mL); y  $p_v$  es la proporción de huecos (expresada en tanto por uno).

Igualmente, se anotó la media de la porosidad para cada mezcla y se comparó con la del cartilago humano.

### 3.5 Evaluación del procesamiento histológico de las mezclas

Con el objetivo de estudiar si los biomateriales ensayados son capaces de someterse a un procesamiento histológico convencional, se procedió a evaluar en las mezclas obtenidas su aptitud en relación a los siguientes parámetros:

**-Fijación:** Las muestras fueron fijadas durante 24 horas a 4 °C en formaldehído al 4% y en glutaraldehído al 2% y posteriormente se evaluó su integridad en función del grado de turbidez de medio, así como de la estructura macroscópica. Se consideró como «apto» para la fijación si no mostraba apenas deterioro y «no apto» si el medio se había vuelto turbio, pues esto es indicativo de que el material se ha deshecho parcial o totalmente, o si la muestra había perdido su integridad.

**-Deshidratación** en concentraciones crecientes de etanol y xileno: Posteriormente, las muestras se sometieron a deshidratación gradual en concentraciones crecientes de etanol (50%, 70%, 95% y 100%) y aclaramiento con xileno. De manera análoga al punto anterior, se consideró «apto» si no se producían alteraciones significativas en la muestra o en la muestra, y «no apto» en caso contrario.

**-Parafinización y corte al microtomo:** Las muestras fueron embebidas en parafina para proceder al corte histológico con microtomo (8  $\mu$ m) y evaluar si su dureza y características permiten un correcto corte con las cuchillas convencionales. Respecto a la parafinización, se consideró «apto» si no se producían alteraciones significativas en la muestra, y «no apto» en caso contrario. En el caso del corte al microtomo, se consideró que la mezcla era «apta» si la sección resultaba limpia y las muestras procesadas no se desestructuraban o dañaban la cuchilla; en caso contrario se consideró como «no apta».

**-Estabilidad a 37 °C:** Las muestras fueron mantenidas en estufa a 37 °C durante al menos 48 horas y posteriormente se evaluó su estado. La estabilidad se determinó en función de la presencia de alteraciones significativas en la muestra, como pérdida del contenido, aglutinamiento, etc. Si no se observó ninguna de estas alteraciones, la muestra se consideró «apta» y, en caso contrario, la muestra se consideró «no apta».

## RESULTADOS

En las Imágenes 1, 2 y 3 se muestran los materiales utilizados, disoluciones preparadas y matrices obtenidas. Los valores expresados en cada apartado son la media aritmética de las muestras obtenidas para cada mezcla (entre 5 y 10 muestras por parámetro y mezcla). Los valores de referencia del cartilago articular se han obtenido de la bibliografía (21-24)



Imagen 1. Materiales utilizados. De izquierda a derecha: CS, PCL, fosfato ácido de diamonio (primera fila), disolución de PCL en glacial, disolución de HA no precipitada, disolución de HA precipitada (segunda fila).



Imagen 2: Quitosano (izquierda) y policaprolactona (derecha) utilizados en los experimentos.

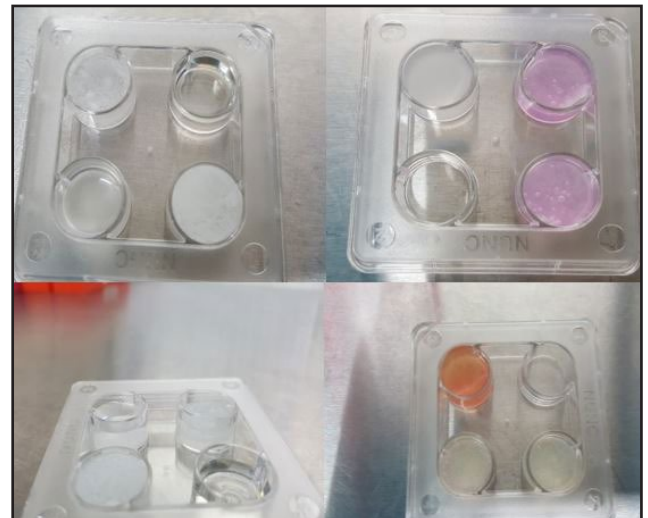


Imagen 3: Muestras de algunas mezclas obtenidas. Pueden observarse los distintos grados de homogeneidad y pH (muestras con rojo fenol).

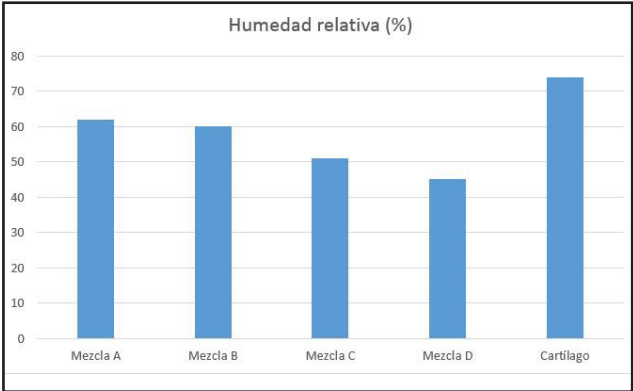


Figura 1: Porcentaje de humedad relativa de las mezclas ensayadas y del cartilago articular (74%). Las mezclas A (62%) y B (60%) mostraron unos resultados de humedad más similares que las mezclas C (51%) y D (45%).

1. Humedad relativa de las mezclas

En la figura 1 se recogen los valores medios de las medidas de humedad relativa obtenidas para cada mezcla.

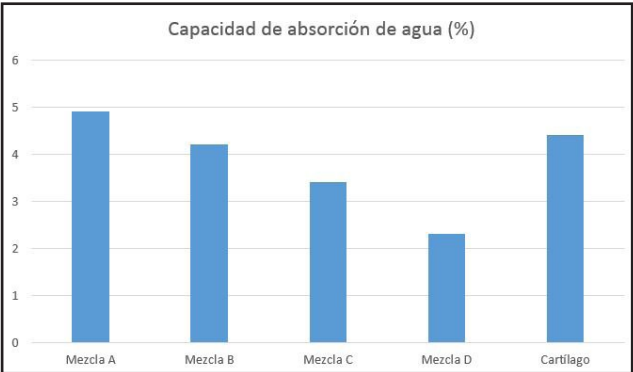


Figura 2: Incremento porcentual de peso de las mezclas para valorar su capacidad de absorción de agua respecto a la del cartilago articular (4,4%). Las mezclas A (4,9%) y B (4,2%) mostraron unos resultados de humedad más similares que las mezclas C (3,4%) y D (2,3%).

2. Capacidad de absorción de agua de las muestras

En la figura 2 se recogen los valores medios de las medidas de absorción de agua obtenidas para cada mezcla.

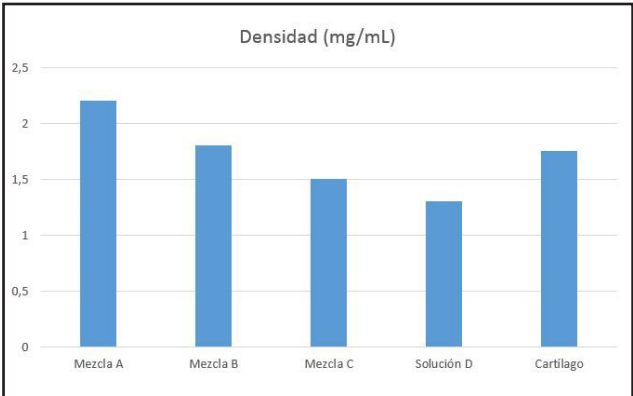


Figura 3: Densidad de las muestras (mg/mL) en comparación con el cartilago humano (0,69). La solución B (0,66) demostró mayor similitud en este parámetro que las soluciones A (0,59), C (0,75) y D (0,78).

3. Densidad de las mezclas

En la figura 3 se recogen los valores medios de las medidas de densidad obtenidas para cada mezcla.

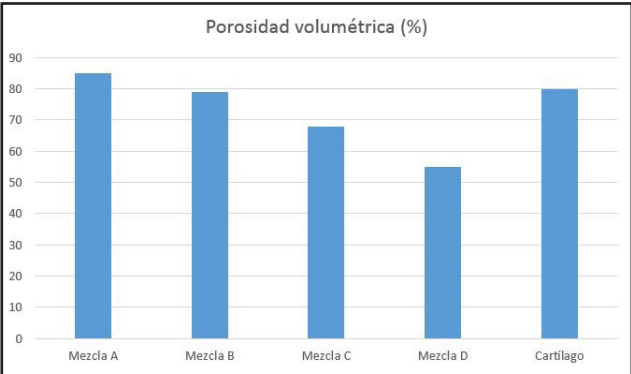


Figura 4: Porosidad volumétrica de las mezclas y del cartilago humano (80%). Las mezclas A (85 %) y B (78 %) mostraron unos resultados más similares al cartilago que las mezclas C (68 %) y D (60 %).

4. Porosidad volumétrica de las mezclas

En la figura 4 se recogen los valores medios de las medidas de porosidad volumétrica obtenidas para cada mezcla.

5. Características de las muestras para procesamiento histológico

Parámetro	Mezcla A	Mezcla B	Mezcla C	Mezcla D
Fijación en Formol	No Apto	No Apto	No Apto	No Apto
Fijación en glutaraldehído	Apto	Apto	Apto	Apto
Deshidratación	Apto	Apto	Apto	Apto
Parafinización y corte al microtomo	Apto	Apto	Apto	No Apto
Estabilidad a 37 °C	Poco Estable	Estable	Estable	Estable

Tabla 2: Evaluación de las mezclas para el procesamiento histológico habitual. La mezcla D fue descartada como posible biomaterial por ser incompatible con las cuchillas de micrótopo convencionales y la solución A por ser inestable a 37°C.



Imagen 4: fijación de una de las muestras en formaldehído 4% (izquierda) e inclusión de las muestras en parafina para ser seccionadas en el micrótopo (derecha).

En la tabla 2 se recogen los parámetros medidos en el procesamiento histológico para cada mezcla. En la Imagen 4 pueden observarse algunos ejemplos de fijación en formol y parafina.

## DISCUSIÓN

En este estudio se presenta una metodología sencilla y económica para generar modelos de cartílago artificial con los que, en un futuro, analizar muchas de las propiedades del cartílago sano y patológico así como crear constructos de cartílago artificial mediante ingeniería tisular. Concretamente, se han obtenido distintas mezclas de CS-PCL-HA y caracterizado varias propiedades biofísicas y de procesamiento que resultan de interés en las mismas.

Los resultados obtenidos en la medición de la humedad relativa muestran que las mezclas A (62%) y B (60%) se acercan más al valor del cartílago articular. Además, existe una relación lineal ostensible entre la humedad relativa y el contenido de CS-PCL, disminuyendo la humedad con el contenido de CS. Este hecho es importante ya que desde hace décadas es conocida la variación del contenido acuoso en relación a determinadas patologías. Por ejemplo, el cartílago de los pacientes con artrosis presenta un contenido acuoso aumentado, y lo mismo ocurre en el caso de derrames, infiltrados y patología inflamatoria (27, 28). También cabe destacar que el contenido en peso de agua varía casi linealmente en función de la distancia hasta la superficie, desde un 85% en la parte más superficial hasta un 70% en la parte más profunda (29). Por todo ello, conocer cómo varía la humedad del constructo en relación al contenido de CS o PCL podría servir para desarrollar modelos de cartílago enfermo o modelos de análisis microfluídico que reproduzcan el transporte de agua y nutrientes en el interior del cartílago.

Respecto a los resultados de la medición de la capacidad para absorber agua, estos concuerdan con los de Xiao et al. (25), quienes encontraron una relación lineal positiva entre el contenido de HA y la capacidad de absorber agua en biomatrices de CS/PCP/HA. En relación a los valores del cartílago articular, las mezclas A y B muestran una mayor similitud respecto al mismo, existiendo, al igual que en el caso anterior, una manifiesta relación lineal decreciente entre el contenido de CS y la capacidad de absorción de agua. Esta propiedad guarda relación con el carácter hidrófilo de la mezcla y podría ser de interés para estudiar procesos de degeneración cartilaginosa, pues permitiría crear modelos tisulares con diferente tasa de absorción de agua para recrear procesos patológicos que tienen lugar en diversas patologías del cartílago articular. Igualmente podrían suponer una ventaja terapéutica para coadyuvar en el tratamiento de defectos cartilaginosos en los que exista un exceso de líquido (inflamación, derrame sinovial), pues podrían obtenerse hidrogeles o matrices hidrófilas con gran capacidad absorbente.

En lo tocante a la densidad y porosidad volumétrica de las mezclas ensayadas, los resultados obtenidos muestran una disminución de ambos valores conforme disminuye el contenido en CS. De forma parecida a lo que ha sucedido en la medición de los parámetros anteriores, las mezclas A y B muestran una mayor similitud respecto a los valores de densidad y porosidad volumétrica del cartílago articular humano. La porosidad guarda una estrecha relación con la permeabilidad del cartílago (30), es decir, con la facilidad para que el líquido fluya a su través, de ahí que, como hemos señalado con anterioridad, sea una variable de gran interés si se desean estudiar los mecanismos de transporte y microfluídica bajo condiciones controladas. Igualmente, la obtención de hidrogeles y matrices que sustituyan el cartílago dañado requiere que no existan grandes diferencias en la densidad del biomaterial utilizado, pues podría generar alteraciones estructurales y funcionales sobre el cartílago regenerado.

En conjunto, de las mezclas de biomateriales (CS, HA y PCL) evaluadas respecto a la humedad relativa, capacidad de absorción de agua, densidad, porosidad volumétrica, las muestras A y B mostraron una mayor similitud con el cartílago humano. Sin embargo, la mezcla A mostraba cierta inestabilidad a 37 °C y generó algunos problemas en el procesamiento histológico. Por ello parece ser un biomaterial menos apto que la mezcla B, al menos de cara al procesamiento de rutina. Así pues, la mezcla B (80CS/15PCL/5HA) mostró ser similar al cartílago humano en los parámetros medidos y, además, apta para el procesamiento histológico. Cabe destacar el bajo coste de los biomateriales utilizados para su elaboración y la sencillez que muestra para ser manipulados bajo las condiciones habituales del laboratorio y, dada su naturaleza, potencialmente en técnicas actuales como la bioimpresión.

Diversos estudios publicados a lo largo de los últimos años han desarrollado métodos muy diferentes para crear modelos de cartílago artificial. Sin embargo, hasta donde sabemos, la obtención y caracterización de los biomateriales utilizados en este estudio no se ha descrito como modelo de cartílago articular en la literatura científica. Además, cabe destacar que la inclusión de HA permitiría crear un posible modelo de cartílago artificial calcificado sobre el que poder conocer con mayor precisión las enfermedades condrales y ensayar futuras terapias alternativas. Por otro lado, el único tejido artificial comercializado hasta la fecha (Chondroelect<sup>®</sup>) es de cartílago artificial (31), lo que lo convierte en el tejido con mayor proyección terapéutica y posibilidades regenerativas en el futuro inmediato.

Los ventajas de este estudio son la sencillez y el bajo coste económico, además de la optimización de una metodología inicial antes de ensayar la viabilidad celular. Entre las limitaciones del presente trabajo, cabe destacar que hemos podido obtener un biomaterial prometedor, pero aún habrán de aplicársele otros análisis para caracterizarlo por completo, especialmente biomecánicos (estudios de tracción, compresión, reología, etc.) y biológicos (estudios de viabilidad celular).

En suma, la metodología estandarizada en este trabajo permite generar matrices de cartílago artificial con características similares al cartílago humano y capaces de ser sometidas a un procesamiento histológico, hecho muy relevante al que no todos los biomateriales se adaptan, y que acaba generando métodos alternativos de procesamiento que encarecen y dificultan el proceso.

## CONCLUSIONES

En este estudio hemos presentado una metodología sencilla y económica de obtener una biomatriz con características de gran interés para emular el cartílago articular en condiciones fisiológicas. Además, se han evaluado varios parámetros (humedad relativa, captación de agua, densidad, porosidad volumétrica y procesamiento histológico) en las combinaciones ensayadas. La mezcla compuesta por quitosano (80%), policaprolactona (15%) e hidroxiapatita (5%) ha resultado, globalmente, la más similar al cartílago articular en los parámetros evaluados en este trabajo. En el futuro será necesario estudiar otras características biomecánicas y biológicas para completar la caracterización de este biomaterial de cara a sus potenciales aplicaciones como modelo tisular de cartílago tanto en condiciones sanas como patológicas.

## AGRADECIMIENTOS

El presente estudio se ha realizado en el marco del trabajo de fin de grado del autor principal. Agradecemos profundamente el trato y la ayuda prestada por los miembros del departamento de Histología de la facultad de Medicina de Granada.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *Instr Course Lect*. 1998;47, 477–486.
- Correa D, Lietman SA. Articular cartilage repair: Current needs, methods and research directions. *Semin Cell Dev Biol*. 2017 Feb;62:67–77.
- Ahmed TA, Hincke MT. Mesenchymal stem cell - based tissue engineering strategies for repair of articular cartilage. *Histol Histopathol*. 2014;29: 669–689.
- Butler DL, Goldstein SA, Guldberg RE, Mow V, Tranquillo R. The impact of biomechanics in tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Engineering*. 2009;12:4, 477–484.
- Ross M, Wojciech P. Tejido cartilaginoso. *Histología* (5ª edición). Ed. Médica Panamericana 2006;198–208.
- Pathria MN, Chung CB, Resnick DL. Acute and Stress-related Injuries of Bone and Cartilage: Pertinent Anatomy, Basic Biomechanics, and Imaging Perspective. *Radiology*. 2016;280(1), 21–38.
- Freeman PM, Natarajan RN, Kimura JH, Andriacchi TP. Chondrocyte cells respond mechanically to compressive loads. *J Orthop Res* 1994;12(3):311–320.
- Seireg A, Arvikar RJ. Prediction of muscular load sharing and joint forces in lower-extremities during walking. *J Biomech*. 1975;8:89–102.
- Felson DT, Naimark A, Anderson J, Kazis L, Castelli W, Meenan RF. The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly. The Framingham Osteoarthritis study. *Arthritis Rheum*, 1987;30, 914–8.
- Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy*. 1997 Aug;13(4):456–60.
- Hjelle K, Solheim E, Strand T, Muri R, Brittberg M. Articular cartilage defects in 1,000 knee arthroscopies. *Arthroscopy*. 2002;18(7):730–4.
- Forriol Campos, F. El cartílago articular: aspectos mecánicos y su repercusión en la reparación tisular. *Rev Ortop Traumatol* 2002;5:380–390.
- Dua R, Comella K, Butler R, Castellanos G, Brazille B, Claude A, et al. Integration of Stem Cell to Chondrocyte-Derived Cartilage Matrix in Healthy and Osteoarthritic States in the Presence of Hydroxyapatite Nanoparticles. *PLoS ONE*. 2016;11(2):e0149121.
- Benders KEM, Weeren PRv, Badyrak SF, Saris DBF, Dhert WJA, Malda J. Extracellular matrix scaffolds for cartilage and bone regeneration. *Trends in Biotechnology*. 2013;31(3):169–76.
- Ramaswamy S, Uluer MC, Leen S, Bajaj P, Fishbein KW, Spencer RG. Noninvasive assessment of glycosaminoglycan production in injectable tissue-engineered cartilage constructs using magnetic resonance imaging. *Tissue engineering Part C, Methods*. 2008;14(3):243–9.
- Khanarian NT, Jiang J, Wan LQ, Mow VC, Lu HH. A hydrogel-mineral composite scaffold for osteochondral interface tissue engineering. *Tissue engineering Part A*. 2012;18(5–6):533–45.
- Dua R, Centeno J, Ramaswamy S. Augmentation of engineered cartilage to bone integration using hydroxyapatite. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2013.
- Sequeda LG, Díaz JM, Gutiérrez SJ, Perdomo SJ, Gómez OL. Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm*. 2012;41(1):50–66.
- Liu X, Chen, Y, Huang Q, He W, Feng Q, Yu B. A novel thermo-sensitive hydrogel based on thiolated chitosan/hydroxyapatite/beta-glycerophosphate. *Carbohydrate Polymers*. 2014;110:62–69.
- Escobar JL. Síntesis, caracterización y aplicaciones biomédicas de redes de copolímeros basados en poliésteres. Tesis doctoral. Valencia (2008). Disponible en: [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3445/tesisUPV2923.pdf]. Consultado el 12 de septiembre de 2016.
- Seifert AC, Wehrli F. Solid-State Quantitative <sup>1</sup>H and <sup>31</sup>P MRI of Cortical Bone in Humans. *Current Osteoporosis Reports*, 2016;14(3), 77–86.
- Mow VC, Holmes MH, Michael Lai, W. Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: A review. *Journal of Biomechanics*, 1984;17(5), 377–394.
- Muir H, Bullough P, Maroudas A. The distribution of collagen in human articular cartilage with some of its physiological implications. *J. Bone Jt Surg*. 1970;52B:554–563.
- Venn M, Maroudas A. Chemical composition of normal and osteoarthrotic femoral head cartilage. *Ann. rheum. Dis*. 1977;36:121–129.
- Xiao X, Liu R, Huang Q. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2008; 19(11), 3429–3435.
- Xiao X, Liu R, Huang Q, Ding X. Preparation and characterization of hydroxyapatite/polycaprolactone-chitosan composites. *J Mater Sci Mater Med*. 2009 Dec;20(12):2375–83.
- Armstrong CG, Mow VC. Friction, lubrication and wear of articular cartilage. In: R. Owen, J.W. Goodfellow, P.G. Bullough (Eds.), *Scientific Foundations of Orthopaedics and Traumatology*, William Heinemann, London 1980;223–232.
- Maroudas A. Physicochemical properties of articular cartilage. In: M.A.R. Freeman (Ed.), *Adult Articular Cartilage*, Pitman Medical, Kent, U.K 1979;215–290.
- Lipshitz H, Etheridge R, Glimcher MJ. Changes in hexosamine content and swelling ratio of articular cartilage as a function of depth from the surface. *J. Bone Jt Surg*. 1976;58A:1149–1153.
- Mansour J, Mow CV. The permeability of articular cartilage under compressive strain and at high pressures. *J. Bone Jt Surg.*, 1976;58A:509–516.
- Gerlier L, Lamotte M, Wille M, Kreuz PC, Vanlauwe J, Dubois D, et al. The cost utility of autologous chondrocytes implantation using ChondroCelect® in symptomatic cartilage lesions in Belgium. *Pharmacoeconomics*. 2010;28(12):1129–46.



## Evaluación de la densidad ósea en defectos óseos palatinos tras injerto de tejido óseo generado mediante ingeniería tisular en conejos

Evaluation of bone density in palatine bone defects after grafting of bone generated by tissue engineering in rabbits

Ricardo Fernández-Valadés Gámez<sup>1</sup>, Alba García Sevilla<sup>2</sup>, Elena Bullejos Martínez<sup>1</sup>, Gema Arena de Frutos<sup>1</sup>, Antonio J. España López<sup>3</sup>, Ricardo Fernández Valadés<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

<sup>2</sup>Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Universitario de Ciudad Real.

<sup>3</sup>Unidad de Fisurados Labiopalatinos y Malformaciones Craneofaciales del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

### Resumen

**Objetivos.** Se pretende determinar mediante TAC la densidad ósea tras la utilización de injertos óseos autólogos artificiales generados mediante ingeniería tisular y determinar la utilidad *in vivo* de estos materiales.

**Métodos.** Se han utilizado 12 conejos machos (*New Zeland White*) de 3 semanas de edad. Se generó hueso a partir de células madre mesenquimales del tejido adiposo a las que, tras cultivo y expansión, se indujo diferenciación a la estirpe osteogénica y se combinaron con biomateriales de fibrina y agarosa. Este sustituto óseo fue injertado de forma autóloga en los animales de experimentación. Se establecieron tres grupos de estudio: **Grupo I:** se crea defecto óseo de 4mm y se implanta el tejido óseo autólogo cubriendo con colgajo mucoperiostico. **Grupo II:** Como control negativo, se realiza el mismo procedimiento, pero sin implantar tejido óseo. **Grupo III:** Como control positivo, conejos a los que no se realiza ningún procedimiento.

Se estudió la densidad ósea a los 6 meses tras el implante mediante tomografía computerizada, expresadas en unidades Hounsfield, comparando ambos hemipaladares (lado intervenido y lado control)

**Resultados.** En el grupo III control positivo, la densidad ósea era similar en ambos hemipaladares ( $p > 0.05$ ). Por el contrario, en el grupo II controles negativos, se observó una diferencia estadísticamente significativa en la densidad del hueso palatino derecho frente al izquierdo ( $p < 0.05$ ). En el grupo I, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos lados del paladar ( $p > 0.05$ ).

**Conclusión.** La tomografía computerizada y el análisis de los datos en unidades Hounsfield, sugiere que el tejido óseo generado por ingeniería tisular contribuye a mejorar la calidad y densidad ósea en defectos óseos palatinos creados en conejos de laboratorio.

### Abstract

**Purpose.** We have carried out a study to determine the bone density after using artificial autologous bone grafts generated by tissue engineering by means of computed tomography, and to determine the *in vivo* usefulness of these biomaterials.

**Methods.** Twelve 3-week-old New Zeland White male rabbits were used in this study. Bone substitutes were generated by using adipose tissue mesenchymal stem cells. After culture and expansion, osteogenic differentiation was induced and cells were combined with fibrin-agarose biomaterials. This bone substitute was autologously grafted in experimental animals. Three study groups were established: Group I: a 4mm bone defect was created and the autologous bone tissue was implanted, covered by a mucoperiosteal flap. Group II: as a negative control, the same procedure was performed, but without implanting bone tissue. Group III: as a positive control, native non-operated rabbits were used.

Bone density was studied 6 months after implantation by using computed tomography, expressed in Hounsfield units, and both sides of the palate -operated and control side- were compared.

**Results.** In group III -positive control-, the bone density was similar in both sides of the palate ( $p > 0.05$ ). In contrast, negative controls corresponding to group II showed a statistically significant bone density difference between the right and the left palate ( $p < 0.05$ ). No statistically significant differences were observed between both sides of the palate in group I ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion.** Computed tomography and data analysis in Hounsfield units suggest that grafting tissue-engineered bone substitutes contributes to improved bone quality and density in palatal bone defects created in laboratory rabbits.

**Palabras clave:** Densidad ósea, ingeniería tisular, cirugía experimental, tejido óseo, fisura labiopalatina.

**Keywords:** Bone density, tissue engineering, experimental surgery, bone tissue, cleft lip and palate.



## INTRODUCCIÓN

La fisura palatina es una malformación congénita frecuente del área craneofacial, siendo su incidencia alrededor de 1 cada 700 nacidos vivos (1). Hasta el momento se han desarrollado multitud de técnicas quirúrgicas para su corrección; en un primer tiempo quirúrgico se realizan colgajos mucoperiosticos para aislar la cavidad oral de la cavidad nasal y recolocar la musculatura palatina con el fin de mejorar la fonación y deglución. Posteriormente es necesaria la aportación de tejido óseo a nivel de la fisura alveolar, si esta está presente (alveoloplastia) (2). El uso de injertos óseos mejora los resultados quirúrgicos y permite alcanzar una estética y una función adecuada (3-5). Los injertos óseos cierran la comunicación oronasal, dan soporte al cartilago alar, estabilizan una morfología alveolar adecuada, dan continuidad al arco maxilar y permiten dar soporte a dientes adyacentes facilitando la manipulación ortodóncica, la erupción dental o una rehabilitación protésica posterior cuando estas sean necesarias (2, 6, 7).

Para la obtención de hueso para llevar a cabo la alveoloplastia, se han descrito múltiples zonas donantes de hueso autólogo, siendo el injerto de cresta iliaca el más popular (3-5). La incidencia de complicaciones con esta técnica es baja, aunque no está exenta de efectos adversos como dolor, hematomas o seromas en la región donante, y conlleva un aumento de la estancia hospitalaria (8-12). Esto nos lleva a la búsqueda de técnicas alternativas, menos invasivas, con el fin de evitar la morbilidad en la zona donante. Se ha descrito el uso de diferentes opciones como materiales aloplásticos, xenoinjertos, etc. Estos materiales presentan una serie de riesgos y complicaciones (transmisión de infecciones, respuesta inmunológica, fístulas oronasales...) y además, no son recomendables en pacientes en periodo de crecimiento, cuando van a erupcionar piezas dentales, o si van a ser necesarios movimientos ortodóncicos (3, 10, 13-16).

En los últimos años ha habido un gran avance en el campo de la ingeniería tisular, lo que ha permitido la creación de múltiples tejidos (cornea, piel, mucosa oral, urotelio, tejido óseo, etc.) a partir de pequeñas biopsias de los tejidos que se quieren reproducir o de células madre de origen mesenquimal (13, 17-19). Estudios realizados en animales de experimentación, sugieren que el tejido óseo obtenido mediante ingeniería tisular puede ser una alternativa válida para el tratamiento de pacientes con defectos palatinos (20-23).

En este trabajo se ha realizado un estudio de experimentación básica en animales de laboratorio, para valorar la densidad ósea tras la utilización de injertos óseos autólogos artificiales generados mediante ingeniería tisular y determinar la utilidad in vivo de estos materiales aplicando un nuevo método basado en tomografía computerizada y unidades Hounsfield.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales de experimentación.

En este estudio hemos utilizado 12 conejos machos (*New Zealand White*) de 3 semanas de edad y entre 400 y 500 gramos (momento del destete). Todos los animales fueron mantenidos en la Unidad Experimental del Complejo Hospitalario Universitario de Granada, con libre acceso a comida y agua. El estudio fue aprobado por el comité de ética local, y se ajustó al reglamento sobre experimentación animal, siguiendo la regla de las tres R (24).

### Generación de tejido óseo.

Para la generación de un sustituto de hueso palatino, en primer lugar, se obtuvieron cultivos de células madre mesenquimales del tejido adiposo de cada animal de experimentación.

Para ello a las 3-4 semanas de vida del conejo (destete) se tomaron dos biopsias de 1x1cm del tejido adiposo a nivel de ambos pliegues inguinales bajo anestesia general y local, suturando con material reabsorbible (*Safil*® 4/0). La anestesia general fue administrada utilizando inyección intramuscular de Ketamina y Xilazina, y para la local infiltración con Bupivacaina 0,25% sin vasoconstrictor (Figura 1).

Tras la toma, las muestras fueron introducidas en medio de transporte estéril compuesto por medio de cultivo RPMI suplementado con antibióticos (500U/ml de penicilina y 500µg/ml de estreptomina) y antimicóticos (1,25µg/ml de anfotericina B) para evitar contaminación de la muestra, y mantenidas a 4°C hasta su procesamiento.

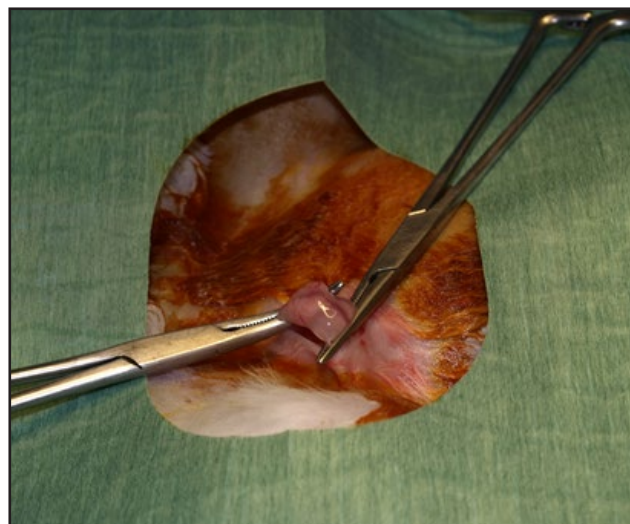


Figura 1. Toma de biopsia de grasa a nivel del pliegue inguinal del conejo.

Estas muestras obtenidas se lavaron con PBS y se digirieron enzimáticamente en una solución de 2mg/ml de collagenasa I de *Clostridium histolyticum*, para la obtención de cultivos celulares de células madre mesenquimales de origen adiposo. Estos cultivos se mantuvieron en medio de Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 10% (FCS), según la técnica descrita por Nieto-Aguilar et al, 2011 (17).

Una vez subconfluentes, se tripsinizaron los cultivos celulares y se combinaron con biomateriales de fibrina y agarosa 0'1% (aproximadamente 175000 células/ml), previamente descritos por el grupo de investigación de ingeniería tisular (20), utilizándose ácido tranexámico, como agente inhibidor de la fibrinolisis, y cloruro cálcico como inductor de la gelificación del biomaterial. Tras ello se alicuotó la mezcla en placas de cultivo de 6 pocillos que se incubaron a 37°C durante 24 horas hasta su total solidificación. Para inducir la diferenciación de estas células hacia la estirpe osteogénica y generar un tejido óseo artificial, los constructos se cultivaron en un medio inductor específico compuesto de DMEM suplementado con 10% de FCS, 100nM de dexametasona, 10nM β-glicerol-fosfato y 50mM de ácido ascórbico durante 21 días, como describió Nieto-Aguilar (17). Una vez transcurrido el periodo de diferenciación se extrajeron los tejidos artificiales de las superficies de cultivo y se sometieron a compresión plástica (nanoestructuración) utilizando un biorreactor específico según lo descrito (20). Posteriormente se implantaron en los animales de experimentación de forma autóloga.

### Implante in vivo y grupos de estudio.

De forma aleatoria, a las 7-8 semanas de vida, dividimos los conejos en 3 grupos:

- **Grupo I.** En un primer grupo, bajo anestesia general, elevamos colgajo mucoperiostico y creamos defectos óseos de 4mm a nivel del segundo molar en el lado derecho mediante fresa de trefina. Posteriormente implantamos el tejido óseo autólogo obtenido por ingeniería tisular, y cubrimos con el colgajo mucoperiostico y cerramos con puntos sueltos de sutura reabsorbible (*Safil*® 5/0). (Figura 2)
- **Grupo II.** Como controles negativos, en un segundo grupo de conejos, realizamos el mismo procedimiento, pero sin material implantado tras la creación del defecto óseo.

- **Grupo III.** Como grupo control positivo, se estudiaron conejos sin defecto creado, no realizándoles ningún procedimiento quirúrgico en el paladar.

En las dos semanas posteriores a la cirugía la alimentación de todos los grupos de estudio fue mediante alimento gelificado. Se administró analgesia postoperatoria en el agua de bebida con Metamizol.

A los 6 meses del implante se sacrificaron los animales de estudio, mediante inyección de cloruro potásico, tras someterlos a anestesia general con Ketamina y Xilacina.

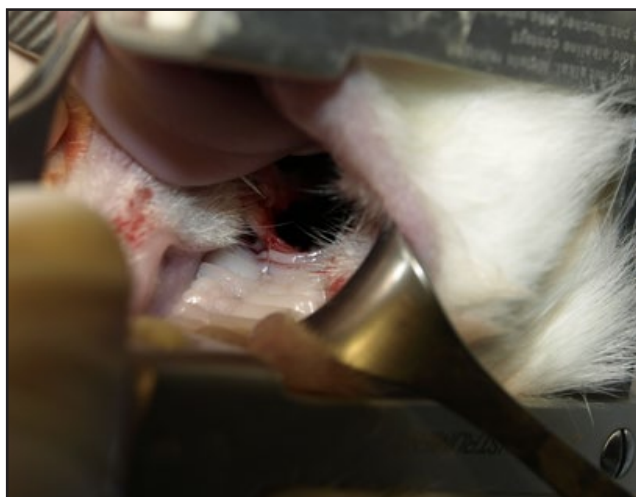


Figura 2. Elevación de colgajo mucoperióstico y defecto óseo creado con fresa de treфина de 4 mm en el hemipaladar derecho a nivel del segundo molar.

#### Análisis de densidad ósea.

Para la determinación de la influencia del injerto de hueso autólogo en la densidad del hueso esponjoso palatino de los animales intervenidos, a los 6 meses del implante se realizó una tomografía computerizada utilizando PointNix Point 3D Combi 500C Dental Imaging System® (Abex Medical System, Selangor Darul Ehsan, Malaysia). Tras ello se descargaron las imágenes obtenidas en el programa Nobel Clinician 2.4® y se realizaron 3 mediciones de la densidad ósea a nivel de los segundos molares, expresadas en unidades Hounsfield, comparando ambos lados (lado intervenido y lado control). Se tomó como valor la media resultante en cada lado.

#### Análisis estadístico.

Para la comparación de las medidas de densidad ósea entre el lado intervenido y el contralateral de cada grupo de animales, se utilizó la prueba estadística de Mann-Whitney, considerándose estadísticamente significativo los valores inferiores a 0'05 para los test de doble cola.

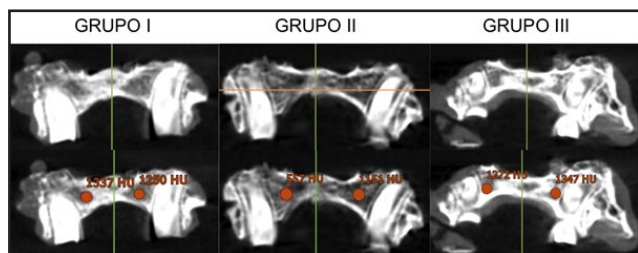


Figura 3. Imágenes de tomografía computerizada. Cortes a nivel de 2º molar de los animales de estudio. En la parte inferior cuantificación de la densidad ósea en unidades Hounsfield. Grupo I: animales con injerto óseo autólogo generado con ingeniería tisular. Grupo II: animales a los que se realizó defecto sin injerto alguno. Grupo III: control positivo.

Densidad Grupo	Lado Izquierdo	lado Derecho	Lado Derecho vs Lado Izquierdo
GRUPO I	1210,2±47,6	1192,4±51,2	0,45700
GRUPO II	1008,9±90,3	691,8±13,2	0,0040*
GRUPO III	1022,3±173,5	1054,2±164,8	0,6590

Tabla 1. Resultados del análisis de densidad ósea, expresada en unidades Hounsfield en los animales incluidos en el estudio. Todos los valores se expresan como promedios ± desviación estándar, excepto los valores de comparación estadística que corresponden a los valores de significación p. \* valores con diferencia significativa entre lado derecho (intervenido) e izquierdo.

## RESULTADOS

Todos los animales toleraron sin incidencias las intervenciones realizadas, no apreciándose efectos adversos relevantes en ninguno de los tres grupos experimentales.

Como se muestra en la tabla 1 y en las figuras 2 y 3, en el análisis correspondiente a los animales pertenecientes al grupo III o control positivo (animales no intervenidos) se encontró que la densidad ósea era similar en ambos hemipaladares ( $p > 0'05$ ). Por el contrario, en el grupo II controles negativos (animales intervenidos, pero sin implantación de tejido óseo) se observó una diferencia estadísticamente significativa en la densidad del hueso palatino derecho frente al izquierdo ( $p < 0'05$ ). Finalmente, en los animales a los que se les implantó tejido óseo artificial (grupo I), no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos lados del paladar ( $p > 0'05$ ).

## DISCUSIÓN

La alveoloplastia es un procedimiento común en pacientes afectados de fisura palatina. Tiene el objetivo de alcanzar una buena oclusión con unos (25) resultados funcionales y estéticos adecuados, y se utiliza en combinación con técnicas quirúrgicas, ortopédicas, ortodóncicas y protésicas (6, 26, 27). El no estar exenta de complicaciones hace que sea necesario desarrollar nuevas técnicas que presenten menos efectos adversos asociados a la toma de hueso a la zona donante.

En este trabajo hemos evaluado un nuevo modelo de hueso artificial, generado por ingeniería tisular, en un modelo animal de defecto óseo palatino previamente descrito por el grupo de ingeniería tisular (20). Los resultados avalan la factibilidad de la técnica y la utilidad del modelo animal para el estudio de defectos palatinos. En este contexto, nuestros resultados confirman la utilidad del hueso autólogo generado mediante ingeniería tisular a partir de células madre mesenquimales, obtenidas de pequeñas biopsias de tejido adiposo, para favorecer la regeneración ósea, y sugieren por tanto la posible utilidad clínica de estos tejidos artificiales (20).

Otros autores han descrito técnicas de ingeniería tisular para conseguir neoformación ósea mediante el uso células madre del tejido adiposo o de médula ósea, como alternativa al injerto óseo autólogo en animales, aunque utilizando otros soportes para las mismas y sin inducir la diferenciación (13, 21, 28, 29).

Para determinar la utilidad *in vivo* del injerto de hueso artificial, hemos analizado la densidad ósea.

La densidad ósea es un parámetro de calidad ósea y ha sido estudiada y clasificada por diversos autores. Se han propuesto diversas metodologías para la cuantificación de la densidad ósea, desde la radiología convencional hasta las técnicas más avanzadas como las últimas modalidades de tomografía computerizada, esta última es la más aceptada y utilizada en la actualidad teniendo como unidad de medida el Hounsfield (30-33). Frente a otros métodos igualmente eficaces para determinar la utilidad del injerto, como es el análisis histológico (19, 20), el uso de técnicas radiológicas y análisis mediante programas específicos nos permite un estudio de alta fiabilidad sin necesidad de destruir la muestra y sacrificar el animal de estudio. Esto además presenta una gran utilidad clínica para la posible extrapolación de estos estudios en humanos.

La densidad ósea es determinante tanto para la osteointegración de un posible implante, como para permitir la erupción de piezas incluidas y movimientos ortodóncicos, así como para la realización de tratamientos ortopédicos si fuesen necesarios (6, 14, 33). Lo deseable es una densidad lo más cercana a la del hueso no alterado (26, 33-35). Según los resultados obtenidos en nuestro estudio, el uso de injertos óseos autólogos artificiales generados por ingeniería tisular puede ser una alternativa válida al uso de hueso autólogo de cresta iliaca, ya que la densidad ósea obtenida es similar a la del hueso sano.

Aunque habrá que realizar ensayos clínicos en humanos de acuerdo con lo establecido por la agencia española de medicamentos y productos sanitarios (AEMPS), los resultados de este estudio, junto con resultados previos del propio grupo de investigación (20) sugieren que el injerto de hueso artificial generado en laboratorio presenta escasos efectos adversos y podría contribuir tanto a la regeneración del hueso alveolar, como para el crecimiento equilibrado del macizo facial.

Otras posibles utilidades clínicas de este material sería en otros tipos de defectos óseos maxilares como los de etiología traumática, los defectos oncológicos o los causados por la atrofia ósea relacionada con el envejecimiento. Los resultados que hemos obtenido parecen indicar que el hueso resultante permitiría un soporte adecuado para una rehabilitación protésica implantosoportada, devolviendo al paciente una función y estética adecuada y mejorando su calidad de vida. Se han realizado estudios en humanos, utilizando células madre como adyuvante para disminuir la reabsorción del injerto óseo autólogo de cresta iliaca (36), pero este tipo de técnica no evitaría las complicaciones en la zona donante derivadas de la toma de injerto. En el ámbito de la implantología se han realizado estudios en perros Beagle, que indican un posible uso del tejido óseo artificial obtenido mediante ingeniería tisular para el tratamiento de la pérdida ósea generada en la periimplantitis (37). Serían necesarios nuevos estudios para valorar la osteointegración de implantes en este tejido óseo artificial.

## CONCLUSIONES

El estudio mediante tomografía computerizada y el análisis de los datos con programas informáticos que nos permite la medición de unidades Hounsfield de la densidad ósea tras implante de hueso generado mediante ingeniería tisular en animales de experimentación.

El análisis de estas medidas de densidad ósea sugiere, que el tejido óseo generado por ingeniería tisular contribuye a mejorar la calidad y densidad ósea, en defectos óseos palatinos creados en conejos de laboratorio. Esto nos sugiere una futura aplicación clínica.

## AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PI14/02110 del Plan Estatal de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación

Tecnológica (I+D+I) del Instituto de Salud Carlos III (Ministerio de Economía y Competitividad), y cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arosarena OA. Cleft lip and palate. *Otolaryngol Clin North Am.* 2007;40(1):27-6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17346560>
2. Cho-Lee GY, Garcia-Diez EM, Nunes RA, et al. Review of secondary alveolar cleft repair. *Ann Maxillofac Surg.* 2013;3(1):46-50. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23662259> <http://www.amsjournal.com/article.asp?issn=22310746;year=2013;volume=3;issue=1;spage=46;epage=50;aulast=Cho%2DLee>
3. Arangio P, Marianetti TM, Tedaldi M, Ramieri V, Cascone P. Early secondary alveoloplasty in cleft lip and palate. *J Craniofac Surg.* 2008;19(5):1364-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18812864> <http://ovidsp.tx.ovid.com/ovftpdfs/FPDDNCJCGDOHFF00/fs046/ovft/live/gv025/00001665/00001665-200809000-00025.pdf>
4. Matsui Y, Ohno K, Nishimura A, et al. Long-term study of dental implants placed into alveolar cleft sites. *Cleft Palate Craniofac J.* 2007;44(4):444-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17608551>
5. Semb G. Alveolar bone grafting. *Front Oral Biol.* 2012;16:124-36. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22759676> <http://www.karger.com/Article/Abstract/337666>
6. Wu J, Wang G. [Evaluation of orthodontic teeth moving in bone graft area by dental CT]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2012;30(4):383-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22934494>
7. Bousdras VA, Ayliffe PR, Barrett M, Hopper C. Esthetic and functional rehabilitation in patients with cleft lip and palate. *Ann Maxillofac Surg.* 2015;5(1):108-11. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26389047> <http://www.amsjournal.com/article.asp?issn=2231-0746;year=2015;volume=5;issue=1;spage=108;epage=111;aulast=Bousdras>
8. Amin K, Khor WS, Rosich-Medina A, Beale V. Alveolar Bone Grafting: Donor Site Review of 100 Consecutive Cases in Cleft Lip and Palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26506046>
9. Raposo-Amaral CA, Denadai R, Chammas DZ, et al. Cleft Patient-Reported Postoperative Donor Site Pain Following Alveolar Autologous Iliac Crest Bone Grafting: Comparing Two Minimally Invasive Harvesting Techniques. *J Craniofac Surg.* 2015;26(7):2099-103. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26413958> <http://ovidsp.tx.ovid.com/ovftpdfs/FPDDNCJCGDOHFF00/fs047/ovft/live/gv024/00001665/00001665-201510000-00014.pdf>
10. Pessoa EA, Braune A, Casado PL, Tannure PN. Alveolar Bone Graft: Clinical Profile and Risk Factors for Complications in Oral Cleft Patients. *Cleft Palate Craniofac J.* 2016. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27427932>
11. Muzaffar AR, Warren A, Baker CL. Use of the On-Q Pain Pump in Alveolar Bone Grafting: Effect on Hospital Length of Stay. *Cleft Palate Craniofac J.* 2016;53(2):e23-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25531732>
12. Tavakolinejad S, Ebrahimzadeh Bidskan A, Ashraf H, Hamidi Alamdari D. A glance at methods for cleft palate repair. *Iran Red Crescent Med J.* 2014;16(9):e15393.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25593724>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4270645/pdf/ircmj-16-09-15393.pdf>

13. Stanko P, Mracna J, Stebel A, et al. Mesenchymal stem cells - a promising perspective in the orofacial cleft surgery. Bratisl Lek Listy. 2013;114(2):50-2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23331197>
14. Yilmaz S, Kilic AR, Keles A, Efeoglu E. Reconstruction of an alveolar cleft for orthodontic tooth movement. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2000;117(2):156-63. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10672215>  
[http://ac.els-cdn.com/S0889540600702265/1-s2.0-S0889540600702265-main.pdf?\\_tid=f9c9029e-54dc-11e6-8458-00000aacb35d&acdnt=1469722054\\_e026586d0100ff34bb4a939f58f8d573](http://ac.els-cdn.com/S0889540600702265/1-s2.0-S0889540600702265-main.pdf?_tid=f9c9029e-54dc-11e6-8458-00000aacb35d&acdnt=1469722054_e026586d0100ff34bb4a939f58f8d573)
15. Cune MS, Meijer GJ, Koole R. Anterior tooth replacement with implants in grafted alveolar cleft sites: a case series. Clin Oral Implants Res. 2004;15(5):616-24. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15355405>  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0501.2004.01052.x/abstract>  
<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1600-0501.2004.01052.x/asset/j.1600-0501.2004.01052.x.pdf?v=1&t=ir6i9rxk&s=b28b7caf610fea46376bf53df4ef7e4a702a8090>
16. Le BT, Woo I. Alveolar cleft repair in adults using guided bone regeneration with mineralized allograft for dental implant site development: a report of 2 cases. J Oral Maxillofac Surg. 2009;67(8):1716-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19615587>  
[http://ac.els-cdn.com/S0278239109005126/1-s2.0-S0278239109005126-main.pdf?\\_tid=797ff066-54dc-11e6-ad65-00000aacb361&acdnt=1469721839\\_0b2cbae8833f68a8c949954c7ac56049](http://ac.els-cdn.com/S0278239109005126/1-s2.0-S0278239109005126-main.pdf?_tid=797ff066-54dc-11e6-ad65-00000aacb361&acdnt=1469721839_0b2cbae8833f68a8c949954c7ac56049)
17. Nieto-Aguilar R, Serrato D, Garzon I, Campos A, Alaminos M. Pluripotential differentiation capability of human adipose-derived stem cells in a novel fibrin-agarose scaffold. J Biomater Appl. 2011;25(7):743-68. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20237181>  
<http://jba.sagepub.com/content/25/7/743.full.pdf>



## Modificaciones de la fibrosis hepática valorada mediante elastometría transitoria en pacientes con respuesta viral sostenida tras el tratamiento de la hepatitis C en pacientes mono infectados (VHC) y coinfectados (VHC – VIH)

Modifications of hepatic fibrosis assessed by transient elastometry in patients with sustained virological response after treatment of hepatitis C in mono infected (VHC) and coinfecting patients (VHC – VIH)

López Zúñiga, Miguel Ángel<sup>1</sup>; Castillo Fernández, Alba María<sup>1</sup>; Elisabeth de Jesús, Samantha<sup>2</sup>; Sola García, Miguel<sup>1</sup>; Pasquau Liaño, Juan<sup>2</sup>; Moreno Toro, Noelia<sup>2</sup>; López Ruz, Miguel Ángel<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>Complejo Hospitalario de Jaén. <sup>2</sup>Hospital Virgen de las Nieves de Granada

### Resumen

**Introducción:** Se ha observado que los pacientes infectados por el virus de la hepatitis C (VHC), que ya han desarrollado un grado de fibrosis significativo, son capaces de disminuir ese grado de fibrosis, al alcanzar una respuesta viral sostenida (RVS) tras el tratamiento con interferón pegilado (PEG-IFN) y ribavirina (RBV).

**Objetivo:** Evaluar la modificación de la fibrosis, medida por elastometría transitoria, al erradicar el VHC tanto en pacientes tratados con PEG-IFN y RBV, con Boceprevir/Telaprevir, como con agentes de acción directa (AAD) y determinar la asociación entre la variación de la fibrosis y el grado de fibrosis previo al tratamiento tanto en pacientes mono infectados (VHC), como en coinfectados (VIH/VHC).

**Métodos:** Estudio observacional prospectivo, en el que se estudiaron 50 pacientes y se evaluó su grado de fibrosis previo y posterior al tratamiento.

**Resultados:** De los 62 pacientes, un 45,2% disminuyeron su fibrosis, con una media de descenso de 9,45kPa y un 45,2% disminuyeron al menos un estadio en la escala Metavir. Se observó una asociación entre un menor grado de fibrosis previo al tratamiento y un mayor descenso de la misma ( $p < 0,001$ ). Sin embargo no se observaron diferencias ( $p = 0,713$ ) entre la mono infección y la coinfección con VIH; tampoco se detectó asociación significativa, entre los tres tipos de tratamientos y la modificación de la fibrosis ( $p = 0,445$ ).

**Conclusiones:** En nuestro estudio, la consecución de la RVS en los pacientes con hepatitis crónica por VHC facilita la reducción de la fibrosis producida por la enfermedad, tanto en pacientes mono infectados, como en coinfectados (VIH/VHC), independientemente del tratamiento usado.

### Abstract

**Introduction:** It has been shown that patients infected with hepatitis C virus (HCV), who have already developed a significant degree of fibrosis, are able to reduce that degree of fibrosis by achieving a sustained virological response (SVR) after treatment with Pegylated interferon (PEG-IFN) and ribavirin (RBV).

**Objective:** To evaluate the modification of fibrosis, measured by transient elastometry, after HCV eradication in patients treated with PEG-IFN and RBV, with Boceprevir / Telaprevir, and with direct acting agents (AAD) and to determine the association between the variation in fibrosis and the degree of pre-treatment fibrosis in both mono infected (HCV) and coinfecting (HIV / HCV) patients.

**Methods:** This work is a prospective observational study. 50 patients were studied and their degree of fibrosis before and after treatment was evaluated.

**Results:** 45.2% of patients decreased their fibrosis, with a mean decrease of 9.45kPa and 45.2% decreased at least one stage on the Metavir scale. There was an association between a lower degree of fibrosis before treatment and a greater decrease in fibrosis ( $p < 0.001$ ). However, no differences were observed between mono infection and HIV coinfection ( $p = 0.713$ ). No significant association was detected between the three types of treatments and the modification of fibrosis ( $p = 0.445$ ).

**Conclusions:** In our study, SVR in patients with chronic HCV hepatitis facilitates the reduction of fibrosis produced by the disease, both in mono infected patients and in coinfecting patients (HIV / HCV), regardless of the treatment used.

**Palabras clave:** Virus Hepatitis C (VHC), Agentes de acción directa (AAD), Fibrosis, Elastometría transitoria.

**Keywords:** Hepatitis C Virus (HCV), direct acting antiviral (DAA) agents, fibrosis, transient elastometry.



## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, se ha observado un incremento sustancial de las tasas de mortalidad relacionadas con la hepatitis crónica por virus de la hepatitis C (HCVHC) (1). La prevalencia de hepatitis C crónica entre los pacientes VIH positivos está entre el 25 – 30% en Europa y EEUU (2). Además, mientras que la mortalidad relacionada con el VIH está descendiendo, la mortalidad relacionada con la HCVHC ha seguido incrementándose entre los pacientes coinfectados (VIH/VHC) y esta coinfección aparece ahora como la mayor causa de morbilidad y mortalidad no relacionada con el SIDA en pacientes VIH (3).

Cuando se comparó el progreso de la enfermedad entre pacientes monoinfectados (VHC) y coinfectados (VIH/VHC), se observó que la coinfección estaba asociada a una progresión más rápida de la fibrosis hepática (4) y que además, estos pacientes presentaban más riesgo de desarrollar cirrosis (5).

Tras el tratamiento, la respuesta viral sostenida (RVS) reduce la incidencia de complicaciones derivadas de la cirrosis y, por tanto, de las muertes relacionadas con ellas (6). Este beneficio está posiblemente relacionado con la reversibilidad del daño hepático histológico asociado a hepatitis una vez obtenida la RVS, ya que se ha visto que procesos tales como la inflamación y la fibrosis disminuyen en el 62 - 74% de los pacientes que alcanzan la RVS (7). Algunos estudios ya han documentado la mejora en la histología hepática (biopsia) tras conseguir la RVS (8), incluso cuando el paciente ya tiene una cirrosis establecida previa (9).

Para evaluar el grado de fibrosis hepática la prueba “gold-estándar” la biopsia hepática es una prueba invasiva. Entre las no invasivas, encontramos marcadores bioquímicos indirectos de fibrosis, como pueden ser los índices APRI, Forns y el FIB4 (10), además de la elastometría transitoria, que mediante un instrumento de ultrasonidos, calcula la velocidad de propagación de las ondas a través del tejido hepático y de esa forma evalúa el grado de fibrosis. La elastometría cada vez se usa más debido a su rapidez, reproducibilidad, no invasividad y bajo coste (11). Además, en los pacientes con VHC tiene especial interés, debido a que los que consiguen RVS tras el tratamiento con interferón pegilado y ribavirina (Peg IFN + RBV) reducen en un 20% o más su grado de rigidez hepática. Así, se sugiere que medidas consecutivas con elastometría pueden ser útiles para monitorizar la evolución de la fibrosis en respuesta a la terapia antiVHC (12).

En la actualidad existen tratamientos con los llamados Agentes de Acción Directa (AAD) que actúan frente a diferentes enzimas del VHC y que además de su fácil administración con un tiempo de semanas de administración, tienen las ventajas de pocos efectos secundarios, su administración oral y fácil uso en los pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) (13). Ante la aparición de estos nuevos tratamientos nos hemos planteado un estudio con los siguientes objetivos:

1. Evaluar las modificaciones de la fibrosis hepática en pacientes que han alcanzado una RVS tras el tratamiento del VHC, tanto en pacientes monoinfectados (VHC) como coinfectados (VIH/VHC) e independientemente del tratamiento con el que consiguieron la RVS.
2. Estimar en qué medida afecta el grado de fibrosis previo al tratamiento del VHC a la capacidad del paciente para disminuir a estadios inferiores de fibrosis.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio observacional prospectivo, se seleccionaron 96 pacientes VHC positivos, que acudían a la consulta de Enfermedades Infecciosas del Hospital Virgen de las Nieves de Granada y que recibieron un tratamiento contra el VHC, el cual decidió su médico responsable de acuerdo con las guías nacionales e internacionales de ese momento. Finalmente, el análisis estadístico se realizó sobre una muestra de 62 pacientes.

Los criterios de inclusión que se requirieron en el estudio fueron los siguientes:

- Mayores de 18 años.
- Portadores del VHC, demostrado mediante carga viral positiva.
- Que hayan alcanzado una RVS, es decir, aquellos en los que la carga viral del VHC permanezca indetectable (calculada mediante reacción en cadena de la polimerasa, PCR, con un límite de detección inferior a 15 unidades virales) más allá de la semana 12 después de la finalización del tratamiento.
- Disponer de dos medidas de elastometría transitoria documentadas, una previa al tratamiento y otra posterior.

Las mediciones por elastometría transitoria fueron llevadas a cabo por el mismo médico, entrenado en la realización de la técnica.

Las características basales que se estudiaron en los 62 pacientes fueron: genotipo, fibrosis previa al tratamiento (clasificada por estadios Metavir), coinfección con VIH y tratamiento recibido contra el VHC. La variable principal a estudiar fue la modificación de la fibrosis, teniendo especial interés la disminución de estadio. Se hicieron tablas de contingencia y tests de Chi-Cuadrado para determinar si había asociación entre cada una de las características descritas y la disminución de la fibrosis. El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico SPSS-20.

Este estudio ha sido diseñado respetando la confidencialidad y la protección de datos, junto con las normativas aplicables a la investigación biomédica.

## RESULTADOS

96 pacientes fueron seleccionados para el estudio según los criterios de inclusión, pero 3 (3.1%) de ellos fueron excluidos debido a que aumentaron de peso durante el seguimiento y no se pudo determinar con la suficiente fiabilidad la segunda medición por elastometría por carecer de la sonda adecuada para obesos y 33 pacientes (32.29%) no acudieron a la segunda medición. Así, 62 pacientes fueron incluidos, finalmente, en el análisis. De ellos, 43 (69.4%) eran coinfectados y la mayoría de ellos, 33 (76.8%), tenían un estadio de fibrosis previo al tratamiento, igual o mayor de un F3, es decir, tenían ya un grado de fibrosis significativo. El predominio de estos pacientes en el estudio se debe a que son estos estadios avanzados los que han sido priorizados para el tratamiento, en el tiempo del estudio, siguiendo las instrucciones del Ministerio de Sanidad.

En la Tabla 1 (página siguiente) se resumen las características basales de los pacientes analizados.

En un análisis general, con un seguimiento medio de 11 meses observamos que disminuyen su grado de fibrosis 42 pacientes (69.35%) con una media de descenso de 9.45 kPa, mientras que lo aumentan 19 (30.6%) con una media de 5,1 kPa y un paciente se queda exactamente con el mismo valor (1.6%).

En cambio, si analizamos la modificación en estadios Metavir, vemos que disminuyen de estadio 28 pacientes (45.2%) con una media de bajada de -1,78 estadios, se quedan en el mismo estadio 31 pacientes (50%), entre los cuales la media de modificación es una disminución de 2.23 kPa y sólo aumentan 3 pacientes (4.8%).

Si analizamos por separado, qué número de estadios disminuyen, observamos que 5 pacientes (8.1%) disminuyen en 3 estadios, 12 (19.4%) disminuyen en 2 estadios, 11 (17.7%) disminuyen en 1 estadio, 31 (50%) no cambian de estadio (Figura 1).

Características basales	
Seguimiento medio (rango)	11,02 (1-61) meses
Hombres n (%)	46 (74,2%)
Genotipo	n (%)
1 (sin subtipar)	7 (11,3%)
1 a	16 (25,8%)
1b	15 (24,2%)
2	3 (4,8%)
3	9 (14,5%)
4	11 (17,7%)
Estadio fibrosis previo al tto	n (%)
F1	5 (8,1%)
F2	8 (12,9%)
F3	21 (33,9%)
F4	28 (45,2%)
Coinfección VIH n (%)	43 (69,4%)
Tratamiento	n (%)
PEG-IFN + RBV	10 (16,4%)
AAD	46 (75,4%)
BOCE/TELA + PEG-INF	5 (8,2%)

Tabla 1.— resumen de las características basales de los pacientes del estudio.VHC: Virus Hepatitis C. VIH: Virus Inmunodeficiencia Humana. PegIFN: Interferón pegilado. RBV: Ribavirina.

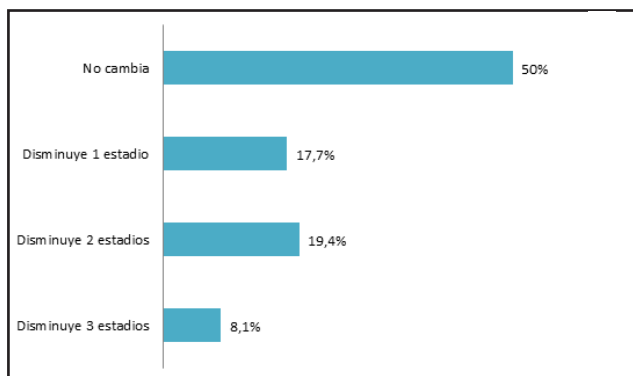


Figura 1. Cuantificación de estadios que se modifican.

Posteriormente se analizaron los datos, dividiendo a los pacientes en grupos en función del estadio de fibrosis previo al tratamiento (Figura 2):

- De los 7 pacientes, que previamente tenían un grado F1, el 100 % se mantuvo sin aumentar de estadio.
- De los 8 pacientes que tenían F2, 5 (62,5%) disminuyeron y 3 (37,5%) se quedaron en el mismo estadio
- De los que tenían un grado F3 (20 pacientes), disminuyeron el 60% y no varió de estadio el 40%.

Y finalmente, de los que previamente tenían una cirrosis establecida, F4, disminuyeron el 40,7% y se quedaron en el mismo 59,3%.

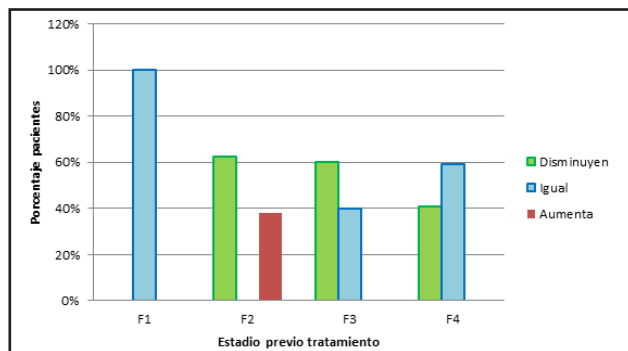


Figura 2: Modificación de la fibrosis en función del estadio previo al tratamiento.

Si analizamos cuántos estadios se modifican en cada grupo, observamos que:

- En el estadio F1, 100% se mantienen.
- En el F2, el 62,5% (5 pacientes) disminuyen 1 estadio y un 37,5% aumentan.
- En el F3, el 10% (2 pacientes) disminuyen en 1 estadio y 10 pacientes, un 50%, disminuyen hasta la normalidad (2 estadios), mientras que un 40% se quedan en un F3 sin tampoco progresar.
- Mientras que en el estadio F4, 16 pacientes (59,3%) se queda en un F4, un 14,8% (4 pacientes) bajan 1 estadio, un 7,4% bajan 2 estadios y un 18,5% bajan hasta la normalidad.

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la regresión de la fibrosis entre los diferentes grados previos de fibrosis ( $p < 0.001$ ), observándose que disminuyeron su fibrosis el 62,5% de los F2, el 60% de los F3 y el 40,7% de los pacientes con un grado previo F4. Por lo tanto, se confirma que un menor estadio de fibrosis previo a tratamiento, según estadiaje Metavir, favorece una mayor disminución de estadio. (Figura 3)

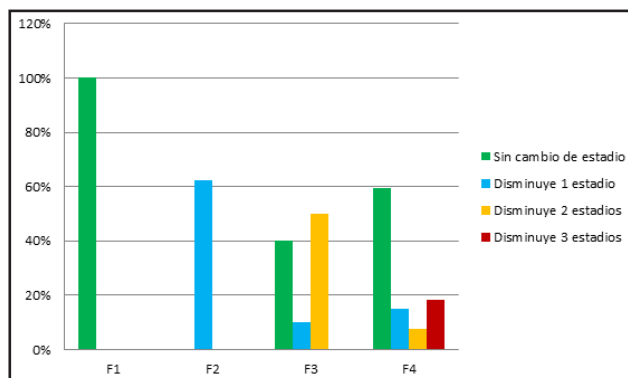


Figura 3: Número de estadios que disminuyen en cada una de las categorías de fibrosis previa al tratamiento.

Se analizó el comportamiento de los pacientes que, estando previamente en un estadio F4, tras el tratamiento, no cambiaron de estadio y su modificación de fibrosis fue una disminución media de 4,19 kPa.

Respecto al análisis según la coinfección o no con VIH, observamos que en el grupo de los mono infectados (VHC) el 31,6% de los pacientes disminuyeron de estadio Metavir y se quedaron en el mismo estadio el 68,4%; mientras que entre los coinfectados con VIH disminuyeron un 51,2%. Se quedaron en el mismo estadio un 41,9% (Figura 4). La asociación estadística entre

la coinfección y la modificación de la fibrosis no fue significativa ( $p=0,713$ ) lo cual indica que en este caso, las diferencias no se pueden atribuir al estado de coinfección de los pacientes.

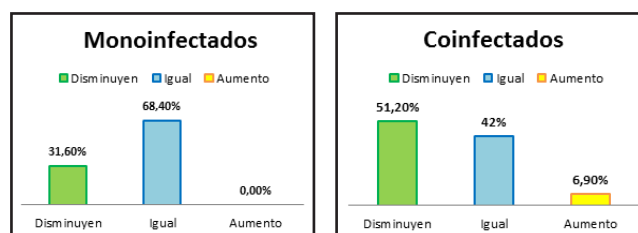


Figura 4: Diferencias en la modificación de la fibrosis entre mono infectados (VHC) y coinfectados (VIH/VHC).

Según el tratamiento recibido, observamos que entre los tratados con la pauta de PegIFN + RBV disminuyen su fibrosis el 30% de los pacientes y otro 70% permaneció en el mismo estadio. Entre los tratados con Boceprevir/Telaprevir + Peg IFN el 40% permaneció en su estadio y 60% lo disminuyó. Mientras que los tratados con los nuevos AAD disminuyeron el 47,8%, y permanecieron en el mismo estadio el 47,8% (Figura 5).

En nuestro estudio, no vimos asociación significativa, entre los tres tipos de tratamiento y la modificación de la fibrosis ( $p=0,445$ )

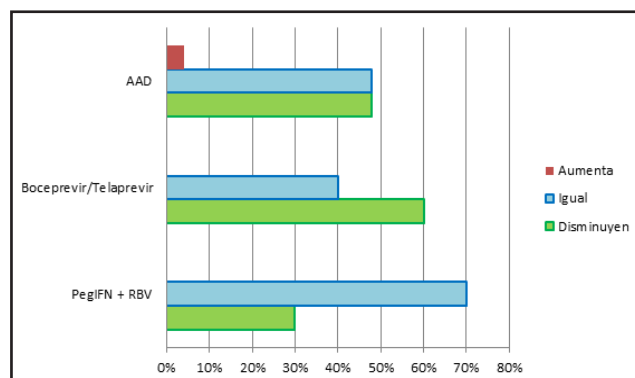


Figura 5: Modificaciones en la fibrosis según los diferentes grupos de tratamiento.

## DISCUSIÓN

En un análisis general, se observa que un 69,35% de los pacientes que alcanzan la RVS son capaces de disminuir su grado de fibrosis con una media de 9,45 kPa, sin embargo esta cifra es más baja si analizamos la disminución por estadios Metavir, donde disminuyen el 45,2% de los pacientes, con una media de 1,78 estadios de bajada. Tres fueron, sin embargo, los pacientes que aumentaron de estadio.

Por otro lado, el análisis que cuantifica el número de estadios en los que se modifica la regresión de la fibrosis revela que el 50% no modifica el estadio Metavir. Entre estos pacientes que no cambian de estadio, la disminución de la fibrosis media es de 2,23 kPa, lo cual indica que estos pacientes tienen una tendencia a reducir la fibrosis aunque no cambien su estadio.

Es importante señalar que los estadios en los que se divide la escala Metavir son irregulares en rango, en especial el estadio F4, que ocupa desde 14,6 kPa hasta 75. Por ello en nuestro análisis incluimos el cálculo de la modificación media de los pacientes que se mantuvieron en el estadio F4 y observamos que la tendencia es una disminución media de 4,1 kPa. Lo que

es relevante aunque no cambien de estadio. Estudios como el de Macías et al. sugieren que la relación entre los pequeños cambios de estos valores de rigidez hepática y el desenlace clínico debería ser estudiada (13) ya que valores bajos de rigidez hepática medidos por elastometría transitoria se correlacionan con valores de presión portal también más bajos (14) y, por tanto, con menor probabilidad de tener varices esofágicas (15) junto con una menor tasa de presentar eventos adversos hepáticos como hemorragias o ascitis (16). Este dato tiene implicación pronóstica, de manera que, por ejemplo, en pacientes con medidas de elastometría por encima de 21 kPa, está indicado realizar una endoscopia digestiva alta para descartar la presencia de varices esofágicas, mientras que en los pacientes con menos de 21 kPa no está indicado, con lo que, aunque no se modifique el estadio (en ambas situaciones hay un estadio F4), estos cambios pueden modificar el manejo del paciente. Además, en un estudio reciente Petta S. et al., han observado que alcanzar RVS en pacientes con HCVHC se asocia a una disminución de la progresión de la enfermedad hepática, de manera que en la evolución de estos pacientes no aumenta el riesgo de aparición de varices esofágicas, descompensaciones hepáticas, ni tampoco hepatocarcinoma, al contrario de lo que sucedería si se dejase evolucionar la HCVHC (17). Todo esto, invita a estudiar si los valores de presión portal de estos pacientes, que antes de conseguir la RVS tenían un grado de fibrosis avanzado, disminuyen de forma proporcional a la disminución de su fibrosis.

La literatura indica que la severidad de la enfermedad hepática es un conocido factor negativo en cuanto a la respuesta a los antivirales, y, que de igual manera, la disminución de la fibrosis puede ser menos probable en pacientes con enfermedad más avanzada o con una cirrosis ya establecida. En nuestro estudio observamos que el grupo que más disminuye su fibrosis en estadios es el grupo de los pacientes que previamente tenían un estadio F2, mientras que los que estaban en estadios F3 y F4 disminuyen también, pero en un porcentaje menor, al igual que está descrito en la literatura (18). Aun así, en un porcentaje importante de casos, (un 10% de los F3 y un 25,9% de los F4) que previamente tenían una fibrosis hepática significativa, consiguen descender su fibrosis hasta F2. Esto es relevante porque, con ello, disminuyen el riesgo de sufrir complicaciones derivadas de la fibrosis hepática excepto el hepatocarcinoma en aquellos pacientes con F3-F4 en los que sigue apareciendo.

Se encontró asociación estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ) entre el grado de fibrosis previo y la variación de ésta. Dado que nuestro período medio de seguimiento fue de 11 meses, probablemente hubiera sido necesario un período de seguimiento mayor para observar mayor reducción tanto en estadios como en kPa, debido a que algunos estudios sugieren que en este proceso de reducción fibrosa, primero ocurre una reducción en la inflamación y después sigue de un largo período de disminución de la fibrosis (19) y que, por ello, esta reducción fibrosa es dependiente del tiempo y el seguimiento, para ver estas diferencias, necesita ser más largo. En el estudio de Crissien et al. se comunicó que era necesario un tiempo medio de seguimiento de la fibrosis de 2,5 años en pacientes con fibrosis avanzada y de 3 años en aquellos que ya tuvieran cirrosis de base para observar esa mejoría (20). Por ello, pensamos que sería interesante diseñar un estudio en el que el período de seguimiento fuese más extenso y así poder evaluar también a aquellos en cuyo proceso se demore la disminución de la fibrosis.

La asociación entre la coinfección con VIH y una menor disminución de la fibrosis no fue significativa, aunque en la literatura algunos estudios sugieren que la coinfección está relacionada con una menor probabilidad de reducción de la fibrosis y apuntan que en ello influyen factores inmunitarios, como la depleción de linfocitos CD4 o una terapia antirretroviral inefectiva, lo que conduce específicamente a un aumento de episodios de descompensación hepática en pacientes coinfectados en comparación con los pacientes mono infectados (21).

Un área futura de investigación es conocer si la reducción de la fibrosis con los AAD es mayor o más rápida que con las antiguas pautas de PegIFN+ RBV. En principio, consideramos que no debería

haber diferencias, ya que el efecto antifibrótico está asociado a la eliminación del virus y no a la terapia farmacológica. En cualquier caso, investigar el tema es complejo debido al problema ético que supone tratar con IFN a pacientes que alcanzarían resultados más eficaces y seguros tratados con AAD.

Como limitaciones en nuestro trabajo, está un seguimiento medio corto, así como un número de pacientes limitado y con subgrupos de tratamientos AAD heterogéneos que no han permitido compararlos entre sí.

Concluimos que de los pacientes tratados contra el VHC y que alcanzaron una RVS, el 69,35% han obtenido una disminución media de 9,45 kPa y el 45,2% ha disminuido, en al menos un estadio en la escala Metavir, con independencia del tratamiento usado, incluso cuando estos ya tenían una cirrosis (estadio F4) de base sin que se observaran diferencias entre mono infectados y coinfectados.

Así mismo, se ha demostrado una asociación significativa entre el grado de fibrosis previo al tratamiento y la capacidad para disminuir la fibrosis, disminuyendo más estadios los que tenían un menor estadio antes del tratamiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wise M, Bialek S, Finelli L, Bell BP, Sorvillo F. Changing trends in hepatitis C-related mortality in the United States, 1995-2004. *Hepatology*. 2008;47(4):1128-35.10.1002/hep.22165
2. Alter MJ. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol*. 2006;44(1 Suppl):S6-9.10.1016/j.jhep.2005.11.004
3. Puoti M, Moioli MC, Travi G, Rossotti R. The burden of liver disease in human immunodeficiency virus-infected patients. *Semin Liver Dis*. 2012;32(2):103-13.10.1055/s-0032-1316473
4. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology*. 1999;30(4):1054-8.10.1002/hep.510300409
5. Graham CS, Baden LR, Yu E, Mrus JM, Carnie J, Heeren T, et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2001;33(4):562-9.10.1086/321909
6. Berenguer J, Alvarez-Pellicer J, Carrero A, Von Wichmann MA, Lopez-Aldeguer J, Mallolas J, et al. Clinical effects of viral relapse after interferon plus ribavirin in patients co-infected with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *J Hepatol*. 2013;58(6):1104-12.10.1016/j.jhep.2013.01.042
7. Lissen E, Clumeck N, Sola R, Mendes-Correa M, Montaner J, Nelson M, et al. Histological response to pegIFNalpha-2a (40KD) plus ribavirin in HIV-hepatitis C virus co-infection. *AIDS*. 2006;20(17):2175-81.10.1097/01.aids.0000247584.46567.64
8. Bruno S, Battezzati PM, Bellati G, Manzin A, Maggioni M, Crosignani A, et al. Long-term beneficial effects in sustained responders to interferon-alfa therapy for chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2001;34(5):748-55.[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278\(01\)00062-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278(01)00062-9)
9. Mallet V, Gilgenkrantz H, Serpaggi J, Verkarre V, Vallet-Pichard A, Fontaine H, et al. Brief communication: the relationship of regression of cirrhosis to outcome in chronic hepatitis C. *Ann Intern Med*. 2008;149(6):399-403.10.7326/0003-4819-149-6-200809160-00006
10. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36(4 Pt 1):986-92.10.1053/jhep.2002.36128
11. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol*. 2008;48(5):835-47.10.1016/j.jhep.2008.02.008
12. Macias J, del Valle J, Rivero A, Mira JA, Camacho A, Merchante N, et al. Changes in liver stiffness in patients with chronic hepatitis C with and without HIV co-infection treated with pegylated interferon plus ribavirin. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(10):2204-11.10.1093/jac/dkq272
13. Macias J, Rivero A, Cifuentes C, Camacho A, Neukam K, Rivero-Juarez A, et al. Sustained virological response to pegylated interferon plus ribavirin leads to normalization of liver stiffness in hepatitis C virus-infected patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(7):424-9.10.1016/j.eimc.2012.12.004
14. Vizzutti F, Arena U, Romanelli RG, Rega L, Foschi M, Colagrande S, et al. Liver stiffness measurement predicts severe portal hypertension in patients with HCV-related cirrhosis. *Hepatology*. 2007;45(5):1290-7.10.1002/hep.21665
15. Pineda JA, Recio E, Camacho A, Macias J, Almodovar C, Gonzalez-Serrano M, et al. Liver stiffness as a predictor of esophageal varices requiring therapy in HIV/hepatitis C virus-coinfecting patients with cirrhosis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;51(4):445-9.10.1097/QAI.0b013e3181ac6b75
16. Robic MA, Procopet B, Metivier S, Peron JM, Selves J, Vinel JP, et al. Liver stiffness accurately predicts portal hypertension related complications in patients with chronic liver disease: a prospective study. *J Hepatol*. 2011;55(5):1017-24.10.1016/j.jhep.2011.01.051
17. Petta S, Di Marco V, Bruno S, Enea M, Calvaruso V, Boccaccio V, et al. Impact of virus eradication in patients with compensated hepatitis C virus-related cirrhosis: competing risks and multistate model. *Liver Int*. 2016;36(12):1765-73.10.1111/liv.13156
18. Akhtar E, Manne V, Saab S. Cirrhosis regression in hepatitis C patients with sustained virological response after antiviral therapy: a meta-analysis. *Liver Int*. 2015;35(1):30-6.10.1111/liv.12576
19. Casado JL, Quereda C, Moreno A, Perez-Elias MJ, Marti-Belda P, Moreno S. Regression of liver fibrosis is progressive after sustained virological response to HCV therapy in patients with hepatitis C and HIV coinfection. *J Viral Hepat*. 2013;20(12):829-37.10.1111/jvh.12108
20. Highleyman L. Liver fibrosis improves after successful treatment for hepatitis C 2015 [Available from: <http://www.aidsmap.com/Liver-fibrosis-improves-after-successful-treatment-for-hepatitis-C/page/3015981/>].
21. Mandorfer M, Schwabl P, Steiner S, Reiberger T, Peck-Radosavljevic M. Advances in the management of HIV/HCV coinfection. *Hepatol Int*. 2016;10(3):424-35.10.1007/s12072-015-9691-4

## Respuesta a los agentes de acción directa frente al Virus de la Hepatitis C en condiciones de vida real

Response to direct acting agents against the hepatitis C virus in real life conditions.

López Zúñiga, Miguel Ángel<sup>1</sup>; Moreno Toro, Noelia<sup>2</sup>; Sola García, Miguel<sup>1</sup>; de Jesús, Samantha Elisabeth<sup>2</sup>; Javier Martínez, Rosario<sup>2</sup>; Hidalgo Tenorio, Carmen<sup>2</sup>; Castillo Fernández, Alba María<sup>1</sup>; López Ruz, Miguel Ángel<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Complejo Hospitalario de Jaén.

<sup>2</sup>Hospital Virgen de las Nieves de Granada

### Resumen

**Objetivos:** La infección por el Virus de la Hepatitis C (VHC) es un problema de salud pública tanto a nivel mundial como en España. Los tratamientos utilizados en los años precedentes tenían una limitada eficacia que no superaba de media el 50% de éxitos. La introducción de los agentes de acción directa (AAD) libres de interferón ha cambiado la tasa de respuestas de forma significativa. Nuestros objetivos han sido comparar la tasa de respuestas a AAD en vida real de los diferentes genotipos del VHC, frente a los resultados obtenidos en los ensayos clínicos y estudios de cohortes, así como comparar la tasa de respuesta con AAD en monoinfectados por el VHC respecto a coinfectados por VIH en los mismos escenarios.

**Métodos:** En 147 de pacientes, de los cuales eran monoinfectados 61 (25,2%) y coinfectados 86 (74,8%) que acudieron a consultas de la Unidad Enfermedades Infecciosas del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, se evaluó el genotipo del VHC y grado de fibrosis previa al tratamiento con AAD.

**Resultados:** En el estudio realizado se obtuvo una respuesta viral sostenida (RVS) a las 12 semanas de finalizar el tratamiento en 137 de ellos, lo que supone el 93,2%, siendo en los monoinfectados del 94,7% y en los coinfectados de 93%.

**Conclusiones:** En las condiciones de uso en la vida real los AAD alcanzan tasas de respuesta viral sostenida (RVS) iguales a los ensayos clínicos tanto en el global de pacientes como en monoinfectados o coinfectados con el VIH. Estos mismos resultados se repiten al compararlos con los estudios de cohortes.

### Abstract

**Objectives:** Hepatitis C virus (HCV) infection is a worldwide public health problem. The treatments used in previous years had a limited efficacy that did not reach 50% of success. The introduction of interferon-free direct acting agents (DAA) has significantly changed the response rate. Our objectives have been to compare the response rate to real-life DAA of the different HCV genotypes, versus the results obtained in clinical trials and cohort studies, as well as to compare the response rate with DAA in monoinfected by HCV respect to coinfecting by HIV in the same circumstances.

**Methods:** 147 patients, 61 (25.2%) monoinfected and 86 (74.8%) coinfecting, who visited the Infectious Diseases Unit of the Virgen de las Nieves Hospital in Granada, were evaluated for HCV genotype and degree of fibrosis previous to treatment with DAA.

**Results:** In the study, a sustained virologic response (SVR) was obtained 12 weeks after the end of treatment in 137 of them, representing 93.2%, 94% in monoinfected patients and 93% in coinfecting patients.

**Conclusions:** In real-life conditions, DAA achieve sustained virologic response rates (SVRs) equal to clinical trials both in the global patient population and in monoinfected or HIV coinfecting patients. These same results are in concordance when compared with cohort studies.

**Palabras clave:** virus de la hepatitis C (VHC), virus de la inmunodeficiencia humana VIH, agente de acción directa (AAD), Respuesta viral sostenida.

**Keywords:** Hepatitis C virus (HCV), Human immunodeficiency virus (HIV), direct acting agents (DAA), sustained virological response (SVR).

### INTRODUCCIÓN

Actualmente, se estiman unos 170 millones de pacientes infectados por el virus de la hepatitis C (VHC) (1), siendo la mortalidad por su causa de 350.000 personas cada año. El virus

de la hepatitis C provoca un daño hepático progresivo que puede dar lugar a diversas complicaciones, como cirrosis (20-25% de los casos de hepatitis crónica por VHC) y carcinoma hepatocelular. Por tanto, la infección por el VHC constituye un problema mundial de salud.



No solo es importante mencionar el aumento de la mortalidad y morbilidad en estos pacientes, sino también el gasto sanitario al tratarse de una enfermedad crónica, con las complicaciones antes mencionadas, así como el gasto que suponen los trasplantes hepáticos, que se llevan a cabo en estos pacientes con hepatopatía por VHC.

Además en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el VHC es la principal causa de mortalidad tras la introducción de los tratamientos antirretrovirales de gran actividad (TARGA) en 1996 (2). Con los nuevos antivirales de acción directa libres de interferón (AAD) las tasas de respuesta son similares en mono infectados y coinfectados en los ensayos clínicos (3).

Gracias al desarrollo de los nuevos fármacos AAD libres de interferón, cuya función es bloquear algunas de las proteínas virales (NS3/4A proteasa, NS5B polimerasa y la proteína NS5A) se ha conseguido mejorar las tasas de curación en pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (3).

Sabemos que la respuesta a los tratamientos es diferente según el genotipo del VHC del que estemos hablando. Ello hay que tenerlo en cuenta y buscar la mejor combinación de fármacos con la mayor tasa de respuesta en cada genotipo. Además hay otros factores que influyen en la respuesta y elección del tratamiento como son: el grado de fibrosis hepática, la respuesta a tratamientos previos y la coinfección con el VIH.

Los resultados en los ensayos clínicos normalmente son mejores que los obtenidos en la práctica real por diferentes motivos como puede ser: medicación gratuita, pago por participar en el ensayo, vigilancia muy estrecha, no incluir pacientes más complejos etc... por lo que los resultados pueden no ser estrictamente iguales a los de la vida real. Es por ello que nos planteamos los siguientes objetivos:

Principal: comparar la tasa de respuestas a los AAD según el genotipo que posea el paciente y grado de fibrosis en la práctica clínica habitual con los resultados obtenidos en diferentes estudios.

Secundario: ver si hay diferencia en la tasa de respuesta en mono infectados VHC y coinfectados VIH/VHC.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos realizado un estudio observacional sobre una cohorte. La población de estudio fueron los pacientes con carga viral positiva del VHC que acudieron a la consulta de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del hospital Virgen de las Nieves de Granada desde abril 2015 a abril del 2017.

Este estudio ha sido realizado respetando la confidencialidad y la protección de datos junto a las normativas aplicables a la investigación biomédica.

Se recogieron los siguientes datos de cada paciente a través de su historia clínica: la existencia de coinfección (VIH/VHC), carga viral (UI/ml) y genotipo del VHC, grado de fibrosis hepática antes de iniciar el tratamiento (medido mediante elastometría transitoria hepática). Se clasificaron según estos factores y según el tratamiento recibido.

Los criterios de inclusión fueron: a) presencia de carga viral del virus de hepatitis C positiva, b) criterios de tratamiento según las recomendaciones de las guías clínicas en el momento que se decidió el tratamiento, teniendo en cuenta las interacciones de los AAD y los fármacos antirretrovirales.

Según la normativa del Ministerio de Sanidad vigente durante la primera parte de estudio, tenían preferencia para tratamiento los grados de fibrosis 3 y 4; tratando a los

grados 1 y 2 únicamente en caso de riesgo de transmisión de la enfermedad, manifestaciones extra hepáticas o mujeres con deseos reproductivos.

El tratamiento fue administrado acorde a las guías establecidas en el momento del tratamiento y a las posibles interacciones que se podían dar en los fármacos usados para el tratamiento del VIH.

Los datos fueron analizados mediante un programa estadístico (SPSS versión 20).

Los resultados de la respuesta al tratamiento en cada paciente se evaluaron tras el periodo de seguimiento de 12 semanas postratamiento. Los datos de la muestra de estudio se pueden ver en la tabla 1.

	n (%)
<b>N total</b>	147 (100%)
<b>Género masculino</b>	107 (74.8%)
<b>Co-infección VIH</b>	86 (60.1%)
<b>Distribución de genotipos</b>	*
- Genotipo 1 <sup>a</sup>	39 (27.7%)
- Genotipo 1b	37 (26,2%)
- Genotipo 1 (sin subtipar)	7 (5.0%)
- Genotipo 2	7 (5.0%)
- Genotipo 3	24 (17,0%)
- Genotipo 4	27 (19,1%)
<b>Tratamiento previo</b>	58 (51,8%)*
- Respondedor parcial	3 (5,7%)
- Respondedor nulo	17 (32,1%)
- Recaedor	21 (22,6%)
- Suspensión por reacciones adversas	12 (22,6%)
<b>Grado de fibrosis</b>	*
- F1	16 (11,4%)
- F2	29 (20,7%)
- F3	48 (34,3%)
- F4	47 (33,6%)

Tabla 1. Características de la muestra\* En 6 pacientes se desconoce el genotipo, en 5 pacientes se desconoce la causa del fracaso del tratamiento previo y en 7 pacientes no se conoce su grado de fibrosis

## RESULTADOS

Los resultados de los EECC reflejados en las tablas 2 y 3 servirán para comparar con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

GENOTIPO	PAUTA	ENSAYO	RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA
Genotipo 1	SOF+SIM x 12s	COSMOS	93%
		HCV-TARGET	Global: 89% Cirrosis: 87%
		TRIO	No tratados previamente: 83% Cirrosis: 75%
	SOF+DCV x 12s	A1444-040	No tratados previamente: 100% Pretratados con IP: 90% Duración 24 semanas: 100%
	SOF+RBVx24s Solo en pacientes sin cirrosis	PHOTON-1+ PHOTON-2	81% Cirrosis: 64%
Genotipo 2	SOF+RBV x 12s	FISSION	97%
		POSITRON	93% Cirrosis: 94%
		VALENCE	93% Pretratados con cirrosis: 78%
		PHOTON-1 + PHOTON-2	89%
	SOF+RBV x 16s, si cirrosis	FUSION	Cirrosis x12s: 33% Cirrosis x16s: 66%
Genotipo 3	SOF+DCV x24s	VALENCE	85% Cirrosis y pretratado: 62%
		PHOTON-1+PHOTON-2	Naive: 90%. Cirrosis: 58%
	SOF+DCV x12s	ALLY-3	90% no tratados previamente
	SOF+DCV x24s, si cirrosis y contraindicación para IPeg	A1444-040	89
Genotipo 4	SOF+RBV x 24s, si IPeg contraindicado	PHOTON-2	84%. Cirrosis: 88%

Tabla 2. Resultados de los estudios realizados en mono infectados<sup>5</sup>. SOF: Sofosbuvir; SIM: Simeprevir; DCV: Daclatasvir; RBV: Ribavirina; s: semanas IPeg interferon pegilado.

Genotipo	Pauta	Ensayo	Respuesta viral sostenida
Genotipo 1	SOF+RBV 24s	PHOTON-1 y 2	76%-85%
	SOF+RBV+SIM x 16s SOF+RBV+SIMx 24s SOF+SIM x 12s	STOP C German cohort	82% 83% 84%
	SOF+ LPV	-Osinusi et al -ION-4	98% G1 no cirróticos 96% G1 no cirróticos
	OBV+PRV+rit+/- DSV	Turquoise program-1	92-94%
	SOF+ DCV	ALLY-2	96%
	SOF+DCV +/- RBV	French HEPACOHORT German cohort	95% 85%
Genotipo 2	SOF+RBV x 12s	PHOTON 1 y 2 Estudio Japón multicéntrico	88-100% En tratamiento 24 semanas resultados mejores 89% cirróticos a 100% cirróticos naive
	SOF+DCV +/-RBV	French HEPACOHORT (3% eran G2)	95%
Genotipo 3	SOF+RBV x12s	PHOTON 1 y 2	67%-89%
	SOF+RBV x 24s	VALANCE	85% global Naive no cirróticos 94%, cirróticos 92% Pretratados: no cirrosis 87%, cirróticos 60%
	SOF+DCV +/- RBV	French HEPACOHORT	95%
Genotipo 4	SOF+ DCV x 12s	ALLY-2	96%
	SOF + RBV x 24s	PHOTON 2 A1444042	No cirróticos: 83%, cirróticos 88% 82%
	SOF+DCV	HEPACOHORT french German cohort	95% 84-85%
	SOF+ SIM	German cohort	84-85%

Tabla 3. Resultados de los estudios realizados en coinfectados (1, 4) SOF: Sofosbuvir; SIM: Simeprevir; DCV: Daclatasvir; RBV: Ribavirina; LPV: Ledipasvir; PRV: Paritaprevir; OBV: Ombitasvir; DSV: Dasabuvir; rit: Ritonavir; s: semanas

Nuestros pacientes han recibido los siguientes tratamientos anti-VHC (tabla 4):

	Duración	1A	1B	1(Sin subtipar)	2	3	4	
<b>OBV + PRV + rit +/- DSV</b>	12sem	13	17	3	0	0	11	44
	16sem	0	1	0	0	0	1	2
	24sem	0	1	0	0	0	0	1
	<b>TOTAL</b>	13 (27,7%)	19 (40,4%)	3 (6,4 %)	0	0	12** (25,5%)	47
<b>SOF + LPV</b>	8sem	1	2	0	0	0	0	3
	12sem	11	4	1	0	0	8	23*
	24 sem	0	1	0	0	0	0	1
	<b>TOTAL</b>	12 (42,9%)	7 (25%)	1 (3,6%)	0	0	8 (28,6%)	28*
<b>SIM + SOF</b>	12 sem	7	4	1	0	0	1	13
	24 sem	1	0	0	0	0	0	1
	<b>TOTAL</b>	8 (57,1%)	4 (28,6%)	1 (7,1%)	0	0	1 (7,1%)	14
<b>SIM + RBV + IPeg</b>	24 sem	0	2 (100%)	0	0	0	0	2
<b>DCV + SOF</b>	12 sem	5	2	2	1	17	6	33
	16 sem	0	0	0	0	3	0	3
	24 sem	1	0	0	0	3	0	4
	<b>TOTAL</b>	6 (15%)	2 (4,9%)	2 (4,9%)	1 (2,4%)	23 (56,1%)	6 (14,6%)	40
<b>DCV + SIM</b>	12 sem	0	3 (100%)	0	0	0	0	3
<b>SOF + RBV</b>	12 sem	0	0	0	2	1	0	3
	16 sem	0	0	0	4	0	0	4
	<b>TOTAL</b>	0	0	0	6 (85,7%)	1 (14,3%)	0	7
<b>TOTAL</b>		39	37	7	7	24	27	141

Tabla 4. Resumen de los tratamiento y duración del mismo. SOF: Sofosbuvir; SIM: Simeprevir; DCV: Daclatasvir; RBV: Ribavirina; LPV: Ledipasvir; PRV: Paritaprevir; OBV: Ombitasvir; DSV: Dasabuvir, IPeg: Interferon Pegilado, rit: Ritonavir; sem: semanas

\*Existen 6 pacientes que no han podido ser genotipados, 4 tomaron SOF+LPV/12sem, uno de ellos DCV+SOF/12sem y el paciente restante fue tratado con Elbasvir + Grazoprevir.

\*\*Los pacientes de genotipo 4 fueron tratados sin usar Dasabuvir

Hemos obtenido confirmación de respuesta de 147 pacientes con los siguientes resultados:

- 137 (93,2%) pacientes tienen RVS con los siguientes resultados, concretándolos por grupos:
  - Monoinfectados: 94,73%
  - Coinfectados: 93%
  - Tratamiento previo: 89,7%
  - Sin tratamiento previo: 98,1%
- 10 pacientes no tienen RVS (7,8%). Los 10 fracasos tenían las siguientes características:
  - Fracaso 1.** Monoinfectado, pretratado, genotipo 1a, F4 tratado con DCV + SOF 24 semanas
  - Fracaso 2.** Coinfectado, pretratado, genotipo 3, F4 tratado con SOF + RBV 12 semanas.
  - Fracaso 3.** Coinfectado, pretratado, genotipo 2, F3, tratado con SOF + RBV 16 semanas.
  - Fracaso 4.** Monoinfectado, no tratado previamente, genotipo 3, F3, tratado con DCV + SOF 12 semanas.
  - Fracaso 5.** Coinfectado, no tratado previamente, genotipo 4, F4, tratado con Ledipasvir + SOF 12 semanas.
  - Fracaso 6.** Coinfectado, pretratado, genotipo 1b, F2, tratado con ombivastir + paritaprevir + ritonavir + dasabuvir 12 semanas.
  - Fracaso 7.** Coinfectado, pretratado, genotipo 4, F4, tratado con ombivastir + paritaprevir + ritonavir 16 semanas.
  - Fracaso 8.** Monoinfectado, no tratado previamente, genotipo 3, F4, tratado con DCV + SOF + ribavirina 12 semanas.
  - Fracaso 9.** Coinfectado, pretratado, genotipo 1b, F2, tratado con Simeprevir + Ribavirina + IPeg 24 semanas.
  - Fracaso 10.** Monoinfectado, no tratado previamente, genotipo desconocido, tratado con LDV + SOF 12 semana.

En la tabla 5 se muestra la RVS según tratamiento, genotipo y si el paciente es monoinfectado o coinfectado con VIH.

	COINFECTADOVIH	TRATAMIENTO ANTI-VHC	RVS		TOTAL
			NO	SI	
1A	NO	OMB+ PAR/RITO +DAS	0	5 (100%)	5
		SOF+LED	0	3 (100%)	3
		DCV+SOF	1 (50%)	1 (50%)	2
		SOF + SIM	0	3 (100%)	3
		<b>Total</b>	<b>1 (7,69%)</b>	<b>12 (92,3%)</b>	<b>13</b>
	SI	OMB+ PAR/RITO +DAS	0	8 (100%)	8
		SOF+ LED	0	9 (100%)	9
		DCV+SOF	0	4 (100%)	4
		SOF + SIM	0	5 (100%)	5
		<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>27 (100%)</b>	<b>27</b>
1B	NO	OMB+ PAR/RITO +DAS	0	10 (100%)	10
		SOF+ LED	0	3 (100%)	3
		DCV+SOF	0	2 (100%)	2
		DCV + SIM	0	2 (100%)	2
		SOF + SIM	0	2 (100%)	2
		<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>19 (100%)</b>	<b>19</b>
	SI	OMB+ PAR/RITO +DAS	1 (14,3%)	6 (85,7%)	7
		SOF+ LED	0	4 (100%)	4
		DCV + SIM	0	1 (100%)	1
		SOF + SIM	0	2 (100%)	2
		<b>SIM + RBV + IPeg</b>	<b>1 (50%)</b>	<b>1 (50%)</b>	<b>2</b>
		<b>Total</b>	<b>2 (12,5%)</b>	<b>14 (87,5%)</b>	<b>16</b>
1 (SIN SUBTIPAR)	NO	OMB+ PAR/RITO +DAS	0	1 (100%)	1
		DCV+SOF	0	2 (100%)	2
		<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>3 (100%)</b>	<b>3</b>
	SI	OMB+ PAR/RITO +DAS	0	2 (100%)	2
		SOF+ LED	0	1 (100%)	1
		SOF + SIM	0	1 (100%)	1
		<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>4 (100%)</b>	<b>4</b>
2	NO	SOF + RBV	0	3 (100%)	3
		DCV + SOF	0	1 (100%)	1
		<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>4 (100%)</b>	<b>4</b>
	SI	SOF + RBV	1 (33%)	2 (66%)	3
		<b>Total</b>	<b>1 (33%)</b>	<b>2 (66%)</b>	<b>3</b>
3	NO	DCV+SOF	2 (22,2%)	7 (77,8%)	9
		<b>Total</b>	<b>2 (22,2%)</b>	<b>7 (77,8%)</b>	<b>9</b>
	SI	DCV+SOF	0	14 (100%)	14
		SOF + RBV	1 (100%)	0	0
		<b>Total</b>	<b>1 (6,7%)</b>	<b>14 (93,3%)</b>	<b>15</b>
4	NO	OMB+ PAR/RITO	0	2 (100%)	2
		DCV+SOF	0	3 (100%)	3
		SOF+ LED	0	1 (100%)	1
		<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>6 (100%)</b>	<b>6</b>
	SI	OMB+ PAR/RITO	1 (10%)	9 (90%)	10
		SOF+ LED	1 (14,3%)	6 (85,7%)	7
		DCV+SOF	0	3 (100%)	3
		SOF + SIM	0	1 (100%)	1
		<b>Total</b>	<b>2 (9,5%)</b>	<b>19 (90,5%)</b>	<b>21</b>

Tabla 5. RVS según tratamiento antiVHC, CoinfecciónVIH y genotipo

SOF: Sofosbuvir; SIM: Simeprevir; DCV: Daclatasvir; RBV: Ribavirina; LPV: Ledipasvir; PRV: Paritaprevir; OBV: Ombitasvir; DSV: Dasabuvir; rit: Ritonavir; IPeg: Interferon Pegilado

\* En esta tabla no quedan reflejados aquellos paciente que, a pesar de haber tenido tratamiento y haber obtenido RVS, no se obtuvo genotipo del VHC.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en nuestro estudio con una tasa global de respuesta viral sostenida del 93,2%, incluyendo tanto a mono infectados como a coinfectados, está en los mismos valores de los ensayos clínicos hechos en mono infectados como el COSMOS (93% RVS) en genotipo 1, el POSITRON (93% RVS), el VALENCE (93% RVS) estos dos, hechos en genotipo 2, el PHOTON 2 (88% RVS) en genotipo 4 (5) o de estudios hechos en coinfectados como el ALLY-2 (96% RVS) para genotipo 1, el ION-4 (98% RVS) también en genotipo 1 o el VALANCE (85% RVS) en genotipo 3 (1, 4).

Si lo comparamos con cohortes, los resultados son similares. Así, en aquellas cohortes referidas sólo a coinfectados, como la French HEPAVIC: 95% RVS en genotipo 1, 95% RVS en genotipo 2, o el 95% RVS en genotipo 3 y la cohorte German con RVS del 85% en genotipo 4 (1, 4).

Cuando subdividimos entre pacientes mono infectados o coinfectados, por los diferentes genotipos y tipos de tratamientos pautados, como queda reflejado en la tabla 5, el número de pacientes que nos queda en cada subgrupo es muy pequeño. Por tanto, no podemos compararlos con cada ensayo clínico concreto, referido a un genotipo dado, en mono infectados o coinfectados o con determinado grado de fibrosis y tipo de respuesta previa a otros tratamientos, que son los aspectos que un determinado ensayo clínico puede abordar, para definir mejor la respuesta en un tipo concreto de pacientes. Es por ello, que hemos hecho una comparación global y una comparación, dividiéndolos en mono infectados y coinfectados, objetivando grados de respuesta similares a los ensayos y cohortes, tanto en mono infectados como en coinfectados.

Respecto a los fracasos están en la línea de lo publicado, fracasando más los genotipos 3 (3/10) como en los estudios A1444-040 (89% RVS) o ALLY-3 (90% RVS), los estadios de fibrosis F4 (5/10) como en los estudios PHOTON-1 y POTHON-2 (64% RVS) o los que no han tenido un tratamiento considerado hoy óptimo (6), como nuestro caso de un genotipo 3 y F4 con SOF+RBV, como los estudios PHOTON 1 y 2 (67-89% RVS en coinfectados) (5) o incluso prolongando este mismo tipo de tratamiento con tasas de RVS del 60% en F4 en coinfectados en el estudio BALANCE (1, 4).

Nuestro estudio tiene como limitación fundamental, que el número de pacientes que han podido ser evaluados son 147, de un total en seguimiento con AAD de 204 en el momento actual, pero que no han podido ser seguidos el suficiente tiempo para comprobar si existe RSV. Otra limitación es que la comparación paralela exacta, con un ensayo concreto, no ha sido posible puesto que las posibilidades de tratamientos, grado de fibrosis y genotipo hacen numerosas las combinaciones, no todas ellas representadas en número suficiente en nuestra población.

## CONCLUSIONES

Los resultados de nuestro estudio con una tasa global de RVS del 93,2% son similares a los alcanzados en los EECC y estudios de cohortes. La tasa de respuestas en pacientes mono infectados (94,7%) es similar a la de coinfectados VIH-VHC (93%), resultados igualmente similares a los estudios previos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arends JE, Lieveld FI, Boeijen LL, de Kanter CT, van Erpecum KJ, Salmon D, et al. Natural history and treatment of HCV/HIV coinfection: Is it time to change paradigms? *J Hepatol*. 2015;63(5):1254-62.10.1016/j.jhep.2015.06.034
2. Iorio A, Marchesini E, Awad T, Gluud LL. Antiviral treatment for chronic hepatitis C in patients with human immunodeficiency virus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010(1):CD004888.10.1002/14651858.CD004888.pub2
3. Poveda E, Wyles D, Morano L, Pineda JA, García F, Gehep. News on HIV-HCV Coinfection: Update From the 2015 GEHEP Conference. *AIDS Rev*. 2015;17(4):231-7
4. Berenguer J, Carmena J, Castro M, González J, Guardiola J, Labarga P, et al. Manejo de las hepatitis virales en pacientes infectados por el VIH 2015 [Available from: [http://www.gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2015/gesida-guiasclinicas-2015-Manejo\\_Hepatitis\\_Virales.pdf](http://www.gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2015/gesida-guiasclinicas-2015-Manejo_Hepatitis_Virales.pdf).
5. Carmena J, Castro MÁ, García F, del Toro MG, Granados R, Mena Á, et al. Documento de consenso del grupo español para el estudio de Hepatitis (GEHEP) sobre el tratamiento de hepatitis C 2014 [Available from: <http://seimc.org/contenidos/gruposdeestudio/gehep/dcientificos/documentos/gehep-dc-2014-TratamientodelaHepatitisC.pdf>.
6. Pineda J, Rivero A, Fornis X, Calleja J, Bruguera M, Bañares R, et al. Documento del III Consenso español sobre tratamiento de hepatitis C 2015 [Available from: <http://aehe.es/wp-content/uploads/2016/04/Documento-del-III-Consenso-espanol-so-bre-tratamiento-de-la-hepatitis-C.pdf>.



## Identificación y análisis de la percepción de los conceptos umbrales en ingeniería tisular en estudiantes del grado de medicina

Identification and threshold concepts' perceptions in tissue engineering medical students

Saavedra-Casado, Salvador<sup>1</sup>; Campos, Fernando<sup>2</sup>; Santisteban-Espejo, Antonio<sup>3</sup>; Martín-Piedra, Miguel Ángel<sup>4</sup>; Durand-Herrera, Daniel<sup>4</sup>; Campos-Sánchez, Antonio<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Hospital Comarcal de Melilla

<sup>2</sup>Iniciativa Andaluza de Terapias Avanzadas, Sevilla

<sup>3</sup>Hospital Puerta del Mar, Cádiz

<sup>4</sup>Departamento de Histología, Granada

<sup>5</sup>Grupo de Investigación AREA HUM-672, Junta de Andalucía.

### Resumen

**Objetivo.** El trabajo que presentamos pretende identificar y realizar un análisis de la percepción que los estudiantes de grado en Medicina presentan sobre los conceptos umbrales en el campo de la Ingeniería Tisular. Ello redundará en una mejor planificación de su formación y permitirá programar la enseñanza para un mejor aprendizaje autorregulado.

**Material y método.** Se elaboró un cuestionario con veinte ítems agrupados posteriormente en tres secciones en función de la condición de cada concepto umbral que se formalizó a los alumnos. El estudio se realizó sobre una muestra de 63 estudiantes de grado en Medicina de la Universidad de Granada, de estos 37 eran mujeres y 26 eran varones, todos ellos se encontraban cursando la asignatura optativa de Ingeniería Tisular. Los distintos ítems existentes en cada una de las secciones fueron evaluados por los estudiantes utilizando una escala de tipo Likert de cinco niveles que oscila entre nivel 1 "totalmente en desacuerdo" y nivel 5 "totalmente de acuerdo", en función de la consideración que cada alumno tenía sobre el ítem como concepto umbral en el campo de la Ingeniería Tisular. Posteriormente se realizó un análisis estadístico con la prueba t de Student comparando los valores por género (mujer o varón) y las diferencias entre las distintas secciones.

**Resultados.** Los conceptos más valorados fueron los de la sección 1 correspondiente a "conceptos básicos en Ingeniería Tisular" con una media de 4,19 sobre 5, seguido de los conceptos de la sección 2 "control de la calidad celular" y 3 "biofabricación y traslación a la clínica" con unas medias de 3,90 y 3,53 respectivamente. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos. El concepto más valorado fue el ítem nº 4 "células madre" con una media de 4,63 y el menor fue el ítem nº 9 "bioimpresoras" con una media de 3,13. Solo se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la valoración de varones frente a mujeres en el ítem nº 13 "biomecánica".

**Conclusiones.** Las diferencias observadas deben ser tenidas en cuenta a la hora de la organización del programa de asignaturas específicas como la Ingeniería Tisular y en la formación de todo estudiante de grado de Medicina.

### Abstract

**Objectives:** The aim of this work is to study the threshold concepts' perceptions in tissue engineering medical students in order to a better planning of their training and a better self-regulated learning.

**Methods:** A twenty item-questionnaire, regarding three grouped sections of threshold concepts in tissue engineering, was carried out by 63 undergraduate medical students (37 women and 26 men) from the University of Granada. The different items in each section were evaluated by students using a five-level Likert scale ranging from level 1 "strongly disagree" to level 5 "strongly agree", depending on the consideration that each Student had on the item as a threshold concept in the field of Tissue Engineering. Subsequently, a statistical analysis was performed with the Student t test comparing the values by gender (woman or men) and the differences between the different sections.

**Results:** The most valued concepts were those of section 1 corresponding to "basic concepts in tissue engineering" with an average of 4.19 out of 5, followed by the concepts of section 2 "control of cellular quality" and 3 "biofabrication and translation to the clinic" with averages of 3.90 and 3.53 respectively. There are statistical significant differences ( $p < 0,01$ ) among the three sections.

**Palabras clave:** Conceptos umbral, ingeniería tisular, estudiantes de Medicina.

**Keywords:** threshold concepts, tissue engineering, medical students.

The most valued concept was item # 4 “stem cells” with an average of 4.63 and the smallest item was item 9 “bioprinters” with an average of 3.13. Only a statistically significant difference was observed between the assessment of men versus women in item # 13 “biomechanics.”

**Conclusions:** The differences observed in this study regarding threshold concepts should be taken into account when organizing the program and training of Tissue Engineering subject in the medical curriculum.

## INTRODUCCIÓN

La naturaleza del proceso de aprendizaje constituye una de las áreas de investigación más relevantes de las últimas décadas. En este contexto uno de los ámbitos, objeto de estudio, es la comprensión, en las distintas materias, de los conceptos básicos que constituyen su núcleo fundamental (1, 2).

Existen en este sentido ciertos conceptos de difícil comprensión que, una vez entendidos, dotan al estudiante, de un conocimiento duradero, profundo y funcional, que le lleva a desechar aprendizajes superficiales perecederos e inútiles. A estos conceptos son a los que recientemente se ha denominado “conceptos umbrales” (3).

Meyer y Land, profesores de economía, propusieron en 2003 la denominación de conceptos umbral en un proyecto de investigación con el objeto de mejorar los entornos de aprendizaje en su ámbito universitario (3, 4). Dichos autores llegaron a la conclusión de que ciertos conceptos eran claves para dominar una disciplina y se percataron que la falta de comprensión de los mismos paralizaba el proceso de aprendizaje de los alumnos (4).

Apartir de este trabajo inicial se han llevado a cabo numerosas investigaciones sobre la naturaleza y las características de los conceptos umbrales y de la importancia que los mismos tienen en el proceso educativo (2, 3, 5-9). Fruto de dicha investigación los conceptos umbrales de una disciplina deben ser conceptos que reúnan al menos cinco características (3, 7). En primer lugar, que sean **transformativos**, esto es que una vez comprendidos, la percepción y la comprensión de esa disciplina por parte del estudiante cambie de forma radical. En segundo lugar, que sean **irreversibles**, esto es que, una vez bien comprendidos, olvidarlos sea muy difícil. En tercer lugar, que sean **integradores**, esto es que conecten y abran puentes en el seno de la propia disciplina y entre varias disciplinas y finalmente, en cuarto lugar, que sean **problemáticos**, esto es que constituyan un reto y que, por tanto, a partir de ellos surjan nuevos interrogantes.

Cuando los alumnos comprenden estos conceptos umbrales se produce un salto cuantitativo en su proceso de aprendizaje o lo que es lo mismo se abre una puerta (1, 8) que permite acceder a algo que antes era inaccesible para el alumno (3, 6, 10).

Los conceptos umbrales adquieren además especial importancia en el momento presente como consecuencia del giro que se ha producido en los últimos años en relación con el papel activo que debe desarrollar el estudiante en su propio proceso formativo, esto es, en relación con lo que se ha denominado el aprendizaje autorregulado. Indagar los conceptos umbrales de las distintas disciplinas y el modo en cómo deben acceder a ellos los estudiantes constituye por tanto un objeto fundamental en la investigación educativa en nuestros días (10).

En el presente trabajo realizamos un estudio sobre los conceptos umbrales en la materia de Ingeniería Tisular del grado de Medicina. Dicha materia constituye una rama emergente de la medicina actual que, sustentada en la ciencia histológica tiene por objeto la generación de tejidos artificiales destinados a la terapéutica (11-13).

Nuestro estudio tiene por objeto evaluar la percepción que tienen los estudiantes sobre los posibles conceptos umbrales de dicha materia. Ello redundará en una mejor planificación de la asignatura y permitirá programar la enseñanza para un mejor aprendizaje autorregulado (14-16).

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó sobre una muestra total de 63 estudiantes de grado en Medicina de la Universidad de Granada. De estos alumnos 37 eran mujeres y 26 varones, todos ellos se encontraban cursando la asignatura optativa de Ingeniería Tisular que oferta el Departamento de Histología de dicha universidad. La edad media de la muestra fue de 19,57 años con una edad mínima de 19 años y una edad máxima de 21 años. La nota media de selectividad de estos alumnos fue de 13,05 puntos sobre un máximo de 14 puntos, con una nota mínima de 12 puntos y una nota máxima de 13,66 puntos en nuestra muestra.

Nº de Item	Bloque 1: Conceptos Básicos en IT
1	Concepto de tejido biológico
2	Concepto de tejido artificial
3	Concepto de constructo
4	Concepto de componentes básicos (células madre)
5	Concepto de componentes básicos (biomateriales)
17	Concepto de medicamento celular y tisular
Nº de Item	Bloque 2: Control de la Calidad Celular
10	Control de calidad ex vivo
11	Control de calidad in vivo
12	Concepto de control de calidad (viabilidad celular)
13	Concepto de control de calidad (biométrica)
14	Concepto de control de calidad (genética)
15	Concepto de control de calidad (histológica)
16	Concepto de control de calidad (inmunología)
Nº de Item	Bloque 3: Biofabricación y Traslación Clínica
6	Concepto de biofabricación (factores moleculares)
7	Concepto de biofabricación (nanotecnología)
8	Concepto de biofabricación (biorreactores)
9	Concepto de biofabricación (biopresoras)
18	Concepto de biofabricación (AEMPS)
19	Concepto de biofabricación (GMP)
20	Concepto de biofabricación (necesidad ensayo clínico)

Tabla 1: Bloques e ítems sobre conceptos umbrales en Ingeniería Tisular.

Con el objeto de identificar y evaluar la percepción que los alumnos de grado de Medicina que cursan la asignatura tienen sobre los conceptos umbrales de la Ingeniería Tisular se ha utilizado un cuestionario “ad hoc” elaborado por el Departamento de Histología de la Universidad de Granada. Dicho cuestionario consta de veinte ítems con conceptos umbrales sobre Ingeniería Tisular. Los conceptos se han agrupado en tres bloques que se indican en la tabla 1.

La participación de los estudiantes fue voluntaria y de acuerdo con las normas aprobadas por la comisión de investigación y ética de la Universidad de Granada. La realización de la encuesta se llevó a cabo en el periodo de docencia de la asignatura optativa de Ingeniería Tisular. Los estudiantes recibieron información sobre las características de la encuesta y de cómo cumplimentar el cuestionario. Los distintos ítems existentes en cada una de las secciones fueron evaluados por los estudiantes utilizando una escala de tipo Likert de cinco niveles que oscila entre nivel 1 “totalmente en desacuerdo” y nivel 5 “totalmente de acuerdo”, en función de la consideración que cada alumno tenga sobre el ítem como concepto umbral en el campo de la Ingeniería Tisular.

Tras la obtención de los valores medios de los distintos ítems de cada bloque en ambos géneros, así como los valores totales en los alumnos de la asignatura Ingeniería Tisular, se realiza un análisis estadístico con la prueba t de Student comparando los valores por género (mujer o varón) y otras pruebas de t de Student para la comparación de las medias de las tres secciones entre ellas.

## RESULTADOS

Los resultados se expresan en la tabla 2 donde para cada ítem se recogen los valores medios puntuados por todos los estudiantes con la diferenciación posterior de mujer frente a varón y el análisis estadístico comparativo.

	PROMEDIO	PROMEDIO MUJERES	PROMEDIO VARONES	TEST
1 Concepto de tejido biológico	4,365	4,297	4,462	0,408
2 Concepto de tejido artificial	4,397	4,459	4,308	0,407
3 Concepto de constructo	3,762	3,811	3,692	0,661
4 Concepto de componentes básicos (células madre)	4,635	4,541	4,769	0,158
5 Concepto de componentes básicos (biomateriales)	4,016	3,973	4,077	0,695
6 Concepto de biofabricación (factores moleculares)	3,794	3,649	4,000	0,193
7 Concepto de biofabricación (nanotecnología)	3,302	3,270	3,346	0,742
8 Concepto de biofabricación (biorreactores)	3,159	3,108	3,231	0,599
9 Concepto de biofabricación (bioimpresoras)	3,127	3,054	3,231	0,442
10 Control de calidad ex vivo	3,937	3,865	4,038	0,401
11 Control de calidad in vivo	3,984	3,892	4,115	0,286
12 Concepto de control de calidad (viabilidad celular)	3,968	3,838	4,154	0,188
13 Concepto de control de calidad (biomecánica)	3,635	3,432	3,923	0,029
14 Concepto de control de calidad (genética)	3,714	3,514	4,000	0,058
15 Concepto de control de calidad (histológica)	4,079	4,000	4,192	0,357
16 Concepto de control de calidad (inmunológica)	4,000	3,919	4,115	0,377
17 Concepto de medicamento celular y tisular	3,952	3,892	4,038	0,561
18 Concepto de traslación a la clínica (AEMPS)	3,730	3,730	3,731	0,997
19 Concepto de traslación a la clínica (GMP)	3,492	3,432	3,577	0,604
20 Concepto de traslación a la clínica (necesidad ensayo clínico)	4,127	4,027	4,269	0,344

Tabla 2: Promedios de veinte ítems diferencia mujer-varón con análisis estadístico.

La tabla 3 contiene los promedios en cada una de las tres secciones con los valores medios obtenidos y la diferencia mujer y varón.

	PROMEDIO	PROMEDIO MUJERES	PROMEDIO VARONES
BLOQUE 1: CONCEPTOS BÁSICOS EN IT	4,19	4,16	4,22
BLOQUE 2: CONTROL DE LA CALIDAD CELULAR	3,90	3,76	4,07
BLOQUE 3: BIOFABRICACIÓN Y TRASLACIÓN CLÍNICA	3,53	3,47	3,63

Tabla 3: Promedios de bloques diferencia mujer-varón.

La figura 1 muestra la puntuación media de los tres bloques considerados: conceptos básicos en ingeniería tisular, control de la calidad celular y biofabricación y traslación clínica, respectivamente. Existen diferencias significativas entre cada uno de los bloques ( $p < 0,01$ ).

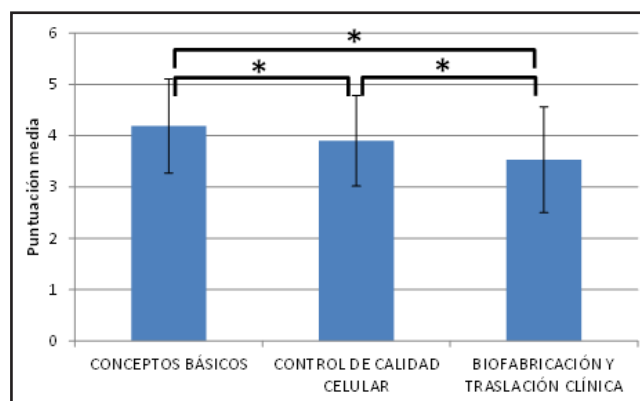


Figura 1: Valores medios de puntuación de cada bloque de conceptos umbral. \*:  $p < 0,01$ .

## DISCUSIÓN

Como se ha indicado en la introducción, una de las áreas de investigación educativa más relevante en la actualidad es la comprensión de los conceptos básicos que constituyen el núcleo cognitivo fundamental de una ciencia o materia concreta (1, 2).

La Ingeniería Tisular, materia de la que nos ocupamos en el presente trabajo posee ciertos conceptos de difícil comprensión que, una vez entendidos, dotan al estudiante, de un conocimiento más claro, duradero y funcional, que le lleva a desechar aprendizajes más superficiales perecederos e inútiles. A estos conceptos, como indicamos en la introducción, son a los que recientemente se han denominado conceptos umbral (3).

La importancia de la identificación de estos conceptos umbrales en el campo de la Ingeniería Tisular como ciencia emergente en la formación del estudiante de grado de Medicina (11-13) permitirá por un lado una mejor comprensión de la asignatura y por otro una más acertada programación de la enseñanza, lo que hará posible un mejor aprendizaje autorregulado (14-16).

Indagar los conceptos umbrales y el modo de cómo deben acceder a ellos los estudiantes constituye por tanto un objeto fundamental en la investigación educativa en nuestros días (10).

Dada la novedad del estudio de conceptos umbrales no existe en la actualidad un cuestionario general ni particular para el campo de la Medicina ni en concreto de la Ingeniería Tisular por lo que para llevar a cabo la presente investigación elaboramos uno propio “ad hoc” de veinte ítems con posibles conceptos umbrales creado por el Grupo de investigación de Ingeniería Tisular del Departamento de Histología de la Universidad de Granada. El desarrollo de una encuesta de este tipo adquiere importancia hoy día como consecuencia del giro educativo que se ha producido en la formación en Ciencias de la Salud; en concreto, en relación con el papel activo que debe desarrollar el estudiante en su propio proceso formativo, esto es, en el denominado aprendizaje autorregulado (17-19).

Posteriormente agrupamos los veinte ítems en tres bloques en función del tipo de concepto umbral como quedó reflejado en la tabla 1. Tras la recogida de datos en una muestra de 63 alumnos de la asignatura se procedió al estudio estadístico descriptivo y comparativo con los test correspondientes.

El concepto más valorado fue el ítem nº 4 “concepto de componente básico (células madre)” con una media de 4,63 puntos sobre un máximo de 5; lo que sin duda se debe a la importancia que, en el campo de la Ingeniería Tisular, tiene el concepto de célula madre como elemento inherente a esta ciencia y base esencial y fundamental de la misma (20-22). Por otro lado el ítem menor puntuado fue el nº 9 “concepto de biofabricación (bioimpresoras)” con una media de 3,13 sobre 5; ello se debe probablemente a su reciente aparición en el contexto de la ingeniería tisular y al poco conocimiento de dicho concepto por parte del alumnado, que considera el proceso de biofabricación menos relevante y más relacionado con aspectos tecnológicos que con aspectos propiamente biomédicos (23, 24). No se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en la valoración que le daban a cada ítem los varones respecto a las mujeres excepto en el ítem nº 13 correspondiente a “concepto de control de la calidad (biomecánica)” donde obtuvimos un ( $p < 0,05$ ) sin encontrar justificación aparente.

Los conceptos más valorados fueron los del bloque 1 correspondiente a “conceptos básicos en Ingeniería Tisular” con una media de 4,19 sobre 5, seguido de los conceptos de los bloques 2 “control de la calidad celular” y 3 “biofabricación y traslación a la clínica” con unas medias de 3,90 y 3,53 respectivamente; todo ello con un estudio estadístico que pone de relieve diferencias estadísticamente significativas entre la valoración de los tres bloques.

El bloque 1 es el más valorado probablemente debido a que el cuestionario lo ejecutaron alumnos de grado de Medicina y no de otros grados, profesionales clínicos o investigadores que probablemente hubieran valorado con más interés los conceptos de control de la calidad o los de biofabricación y traslación clínica. De igual manera consideramos que el bloque 3 es el menos valorado por las características de nuestra muestra y por el desconocimiento por parte de los alumnos de la realidad que significa la biofabricación y la traslación clínica en el campo de la Ingeniería Tisular.

En conclusión, el estudio realizado demuestra por tanto la existencia de diferencias relevantes en la percepción que tienen los estudiantes de grado en Medicina de la Universidad de Granada respecto a los diferentes conceptos umbrales en el ámbito de la Ingeniería Tisular y nos permite identificar que los conceptos básicos son los más valorados seguidos de los conceptos referidos al control de la calidad y a los de biofabricación y traslación clínica respectivamente. Así mismo el estudio refleja que no existen diferencias en la valoración de dichos conceptos entre varones y mujeres excepto lo indicado con anterioridad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cousin G. An introduction to threshold concepts. Planet. 2006;17(1):4-5.10.11120/plan.2006.00170004

2. Kiley M. Identifying threshold concepts and proposing strategies to support doctoral candidates. Innovations in Education and Teaching International. 2009;46(3):293-304.10.1080/14703290903069001
3. Carmichael P. Threshold concepts, disciplinary differences and cross-disciplinary discourse. Learning and teaching in higher education: Gulf perspectives. 2010;7(2):53-72.http://dx.doi.org/10.18538/lthe.v7.n2.43
4. Meyer J, Land R. Threshold concepts and troublesome knowledge: Linkage to ways of thinking and practising within the disciplines. Edinburgh: University of Edinburgh; 2003.
5. Cope C, Staehr L. Improving student learning about a threshold concept in the IS discipline. Informing Science: the International Journal of an Emerging Transdiscipline. 2008;11:349-64
6. Fouberg EH. “The world is no longer flat to me”: student perceptions of threshold concepts in world regional geography. J Geogr High Educ. 2013;37(1):65-75.10.1080/03098265.2012.654467
7. Land R, Meyer J, Smith J. Threshold Concepts Within the Disciplines. Rotterdam: Sense Publishers; 2008.
8. Meyer J, Land R. Overcoming barriers to student understanding : threshold concepts and troublesome knowledge. London ; New York: Routledge; 2006. xxiii, 213 pages p.
9. Rodger S, Turpin M, O'Brien M. Experiences of academic staff in using threshold concepts within a reformed curriculum. Stud High Educ. 2015;40(4):545-60.10.1080/03075079.2013.830832
10. Martín E, Hernández J. Pedagogía audiovisual: monográfico de experiencias docentes multimedia. Madrid: Servicio de publicaciones de la Universidad Rey Juan Carlos; 2014.
11. Campos A. Objetivos conceptuales y metodológicos de la investigación histológica. Educación Médica. 2004;7:36-40
12. Campos A. Las cuatro ruedas del carro de la excelencia. Desafíos y limitaciones en la educación médica. Educación Médica. 2016;17(3):88-93.10.1016/j.edumed.2016.06.001
13. Gómez de Ferraris ME, Campos A. Histología y embriología Bucodental: Ed. Panamericana; 1999.
14. Lonka K, Joram E, Bryson M. Conceptions of learning and knowledge: Does training make a difference? Contemp Educ Psychol. 1996;21(3):240-60.10.1006/ceps.1996.0021
15. Purdie N, Hattie J. Assessing students' conceptions of learning. Australian Journal of Educational and Developmental Psychology. 2002;2:17-32
16. Sánchez-Quevedo MdC, Cubero MA, Alaminos M, Vicente Crespo P, Campos A. El mapa conceptual. Un instrumento educativo polivalente para las ciencias de la salud: Su aplicación en histología. Educación Médica. 2006;9:51-8
17. González MC, Figueroa JT. Autoconcepto y rendimiento escolar: sus implicaciones en la motivación y en la autorregulación del aprendizaje: EUNSA; 1992.
18. Montalvo FT, Torres MG. Self-regulated learning: current and future directions. Electronic Journal of Research in Educational Psychology. 2004;2(1):1-34
19. Nuñez JC, Solano P, González-Piñeda JA, Rosario P. El aprendizaje autorregulado como medio y meta de la educación. Papeles del Psicólogo. 2006;27(3):139-46
20. Bianco P, Robey PG. Stem cells in tissue engineering. Nature. 2001;414(6859):118-21.10.1038/35102181



21. Campos A. Cuerpo, Histología y Medicina. De la Descripción Microscópica a la Ingeniería Tisular: Real Academia Nac. Medicina; 2004.
22. Forriol F, Esparza R. Tissue engineering: Applications of pluripotent stem cells in traumatology and orthopedic surgery. Trauma. 2008;19(2):88-101
23. Carnevale R. La impresora de órganos. Ficciones y realidades de la producción de tejidos artificiales. Química Viva. 2010;9(2):76-85
24. Garcia Villegas C, Vidarte Pastrana M. Informe 1. Estado del arte de la bioimpresión 3D. Universidad El Bosque-Fundación M3D. 2011:1-14

## Células Madre endometriales: Aplicaciones clínicas y terapéuticas

### Endometrial Stem Cells: Clinical and therapeutical applications

Gonzalo Lendínez Sánchez

Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

#### Resumen

Las células madre endometriales son las células madre adultas presentes en el endometrio encargadas de la regeneración del mismo tras cada menstruación. Deben tener una alta capacidad proliferativa y unas propiedades inmunológicas especiales para que cada mes el endometrio alcance el tamaño y las condiciones ideales para la implantación del óvulo fecundado y que éste no sea rechazado. Por dichas propiedades numerosos científicos están realizando investigaciones *in vitro* y en modelos animales para conocer mejor sus propiedades y características. Esta población de células endometriales incluye células madre mesenquimales, células madre epiteliales y las "side population cell", y suponen una alternativa a las células madre mesenquimales provenientes de la médula ósea, a las células embrionarias y a las células madre provenientes del cordón umbilical debido a que pueden ser extraídas y aisladas de forma no invasiva y evitan conflictos éticos al tratarse de células madre adultas. Las hipotéticas aplicaciones se están dirigiendo hacia los campos de las enfermedades neurodegenerativas, terapia celular para la reparación de ciertos órganos e incluso en la creación de novedosas matrices 3D de tejidos bioartificiales mediante ingeniería tisular. Los resultados son muy prometedores y aunque se ha avanzado bastante, queda mucho trabajo e investigación por realizar para que estas hipotéticas aplicaciones lleguen algún día a la clínica. Como toda célula del organismo, las células madre endometriales son susceptibles de patología. La proliferación descontrolada fuera de la cavidad uterina se conoce como endometriosis, sin embargo ningún modelo animal ni humano ha reportado nunca esta enfermedad.

#### Abstract

Endometrial stem cells are the adult stem cells present in the endometrium which are responsible of its regeneration after each menstruation. They must have a high proliferative ability and special immunological properties for the endometrium to reach every month an adequate size and the perfect conditions for implantation of the fertilized egg and avoid any rejection. Due to these properties scientists are reporting some *in vitro* and *in vivo* research these stem cell population. The endometrial stem cells population includes mesenchymal stem cells, epithelial stem cells and side population cells, and they are an alternative to bone marrow stem cells and umbilical stem cells because of the fact that they can be obtained and isolated in a non-invasive procedure and they also avoid ethical issues due to be adult stem cells. Their potential applications are being aimed to the treatment of neurodegenerative diseases, cell therapy for repairing damaged tissues and organs and also in the creation of new 3D bioartificial organs which is part of the emerging tissue engineering. The results are really promising and although there is some available research, a long road must be crossed in order to translate these hypothetical applications to the clinic. Endometrial stem cells, as any other cell, could undergo pathological. The uncontrolled proliferation outside the uterine cavity is known as endometriosis, however any animal or human study has never reported this.

**Palabras clave:** Células madre endometriales, aplicaciones, endometriosis, ingeniería tisular, terapia celular, inflamación.

**Keywords:** Endometrial stem cells, applications, endometriosis, tissue engineering, cell therapy, inflammation.

#### INTRODUCCIÓN

Las células madre adultas son células indiferenciadas observadas en numerosos tejidos adultos. Tienen capacidad de regeneración y diferenciación en una o más líneas celulares además de alta capacidad proliferativa [1]. Junto con los

mecanismos de cicatrización son las responsables de la reparación de tejidos cuando se produce una lesión. Por todo esto se le han atribuido, a través de los medios de comunicación científicos y ordinarios, grandes y ambiciosas aplicaciones terapéuticas sobre todo en los campos de la medicina regenerativa, terapia celular y la novedosa ingeniería tisular.

Las células madre pueden ser de diversos tipos: adultas, entre las que destacan: célula madre mesenquimal (MSC), célula madre hematopoyética (HSC), multipotent adult progenitor stem cell (MAPC) y embrionarias: células madre del cordón umbilical (UCBSC) y células madre embrionarias (ES)[2]. A pesar de que las células madre embrionarias tengan mayor potencialidad, presentan una serie de inconvenientes en comparación con las células madre adultas [3]:

1. Son más difíciles de cultivar, al tener más necesidades que las células madre adultas.
2. Las células madre embrionarias requieren más pasos hasta diferenciarse en la célula definitiva funcional.
3. Las células madre embrionarias forman teratomas.
4. El rechazo inmunológico es mayor con las células madre embrionarias.
5. Conflictos éticos.

Sin embargo estas células madre adultas también presentan el inconveniente de ser obtenidas por procedimientos invasivos además de no presentar tasas de proliferación tan elevadas [2].

En el año 2004 Gargett y colaboradores [4] descubrieron una población de células madre adultas presentes en el endometrio. Son las células madre endometriales (EnSC) que en investigaciones posteriores han demostrado una serie de ventajas frente a las células madre adultas provenientes de la médula ósea al ser fáciles de aislar, expandirse, proliferar abundantemente, no suponer un método invasivo ni requerir anestesia [2, 5, 6]. Más recientemente se ha descrito una población con unas características muy similares a las EnSC que están presentes en la sangre menstrual, son las llamadas células madre endometriales menstruales o células regenerativas del endometrio (ERC) [1, 4, 7, 8]. Estas ERC y las anteriormente EnSC son células descritas muy reciente en la literatura científica y sus propiedades y posibles aplicaciones aún no han sido completamente investigadas.

Al tratarse de células madre su principal aplicación estará encaminada hacia la medicina regenerativa y existen numerosos artículos de ensayos y experimentación tanto en animales como en seres humanos. El objetivo de este artículo de revisión es dar a conocer las características, avances y aplicaciones terapéuticas que tienen las EnSC y las ERC en los campos de la medicina regenerativa. Al considerar la significación médica y las aplicaciones terapéuticas es necesario identificar las enfermedades en las que intervienen o pueden tener relación las EnSC y ERC. En concreto describiremos la endometriosis por ser la más prevalente y haberse demostrado que las EnSC y las ERC juegan un papel principal en su fisiopatología.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se tuvieron en cuenta 32 artículos procedentes de la base de datos PubMed al seleccionar todos los artículos de los últimos 10 años hasta el 23/07/2016, resultantes de la búsqueda de las palabras: ("Endometrial stem cells" OR "Endometrial regenerative cells") AND (endometriosis OR "cell therapy" OR inflammation OR "tissue engineering"[title])

## CUERPO DE LA REVISIÓN

### Fisiología del útero

El endometrio es un tejido dinámico a lo largo de la vida reproductiva de la mujer que alterna procesos de crecimiento y destrucción cada mes para la preparación del tejido encargado

de recibir el óvulo fecundado. Mensualmente ocurren procesos de hiperproliferación y angiogénesis [1]. Esta perfecta armonía fisiológica está bajo control de las hormonas sexuales femeninas estrógenos y progesterona que provocan, entre otras acciones, la diferenciación y proliferación de las células presentes en el endometrio. Para ello resulta necesario la presencia de una población de células madre adultas las cuales no fueron aisladas con precisión hasta el año 2004[4].

Las EnSC son responsables de la regeneración del endometrio y la diferenciación hacia células más especializadas (células endometriales decidualizadas) en lo que se conoce como reacción de decidualización [4, 9]. La decidualización se define como la transformación de las células mesenquimales del endometrio a células secretoras. Se inicia en respuesta a altas concentraciones de progesterona que incrementan la concentración de AMPc en el tejido [10]. La decidualización conlleva un ambiente proinflamatorio en el útero que aumenta las interleuquinas (IL) circulantes que actúan como señal para regular el proceso de implantación. Esta respuesta inflamatoria es autolimitada y participa en el control de calidad que las células decidualizadas realizan al embrión recién implantado. El control de calidad implica la acción de numerosas quimiocinas inflamatorias, radicales libres, hormonas del estrés (cortisol) y se encarga de descartar aquellos embriones no aptos [10].

El endometrio presenta dos capas: la funcional y la basal. La primera es la que se desprende en cada ciclo y se pueden hallar células epiteliales (luminales y glandulares), estromales, endoteliales y leucocitos. En la segunda se encuentran principalmente las células progenitoras que originan la proliferación del endometrio, sin embargo éstas también se encuentran en la capa funcional pues es la que se desprende en cada período y en la sangre menstrual se pueden encontrar células madre adultas [9, 11].

### Características de las EnSC y ERC

Las EnSC son una población de células madre que incluye tres poblaciones: Células madre mesenquimales endometriales (eMSC), células madre epiteliales y las "side population cells" (SP) [3, 7]. Estas EnSC han sido localizadas perivascularmente a las arterias del endometrio [4]. Sin embargo existe otro tipo de célula madre adulta en el endometrio. Son las células madre endoteliales, las cuales proceden a partir de las SP y no pueden ser aisladas a partir de la sangre menstrual, lo que hace indicar que esta subpoblación se encuentra únicamente en la capa basal que no se desprende y no se incluyen en la clasificación [4].

Numerosos autores han intentado definir el fenotipo y características de las EnSC: Se consideran células mesenquimales al presentar adherencia al plástico, proliferación y diferenciación en numerosas líneas celulares [4]. En lo que respecta a los marcadores moleculares por citometría de flujo, varios autores definen a las EnSC por ser: CD29+, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+, CD146+. CD31-, CD34-, CD45-, CD133-, STRO1- [2, 4, 11, 12, 13, 14]. Es de destacar la ausencia del marcador STRO1, pues en las células mesenquimales endometriales es negativo mientras que es positivo en las células mesenquimales de la médula ósea [16]. Respecto a los factores de transcripción EnSC expresan NOTHC1, SOX2 y MSI1, Nanog, Oct4 y KLF4 [17, 18]. La reprogramación de células en células madre pluripotentes inducidas (iPS) se lleva a cabo a través de la expresión de OCT4, SOX2, KLF4 y c-myc [3]. El tener algunos de estos factores hace que las EnSC sean una fuente de células para ser reprogramadas más eficaz que el resto de células al emplear sólo 12 días en el proceso, mientras que el tiempo estándar suele ser de 4 semanas [3, 4, 7].

Las ERC por otra parte expresan CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146 OCT-4 y MHC-I manteniendo la ausencia de STRO-1 [7]. Por otra parte expresan como factores de transcripción SOX4, NANOG, SSEA-4 de forma muy variable y a veces inexistente [4].

	Marcadores de superficie	Factores de transcripción	Referencias
eMSC	CD29,CD44,CD73,CD90, CD105, CD146	NOTHC1, SOX2 y MSI1, Nanog, Oct4 y KLF4	[2, 4, 11, 12, 13, 14, 17, 18]
Célula madre epitelial	Sin marcador específico	Sin factores específicos.	[4]
Side population cells	CD10, CD31, CD34 CD105, CD146,	Sin factores específicos	[4]
ERC	CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146 OCT-4 y MHC-I	SOX4, NANOG, SSEA-4	[4, 7]

Tabla 1: Marcadores fenotípicos y factores de transcripción de las poblaciones de células madre endometriales

Las propiedades y características que hacen a las EnSC unas células madre de elección para futuros tratamientos son:

1. Facilidad de aislamiento y crecimiento, al ser obtenidas las denominadas ERC de la sangre menstrual y las EnSC de una biopsia de endometrio que no requiere anestesia [1, 2, 7, 12]
2. Capacidad angiogénica[3, 4, 7, 12, 19]. Son capaces de estimular el crecimiento de vasos sanguíneos, algo que puede ser muy útil pues en ocasiones el problema de un injerto es el fracaso en el aporte sanguíneo al nuevo tejido.
3. Son capaces de proliferar muy rápidamente y duplicar su población en 20 horas[7]
4. Expresan telomerasa [4] y han demostrado mantener un cariotipo estable tras 40 pases [7].
5. Pueden diferenciarse en multitud de tejidos como tejido neural [20, 21], hepatocitos [12], osteoblastos [1], músculo liso [4], cartílago [4], tejido muscular cardíaco[4], adipocitos [4], megacariocitos[1] y páncreas [6].
6. Inducen la transformación de los macrófagos tipo I responsables de la inflamación aguda en macrófagos tipo II encargados de iniciar los procesos de regeneración y reparación [4] Además aumentan el número de linfocitos Treg [8]. Por ello se están probando las EnSC en patologías inflamatorias crónicas [3].
7. La baja expresión de moléculas de HLA-II y moléculas co-estimuladoras de la respuesta inmune provoca una baja alorreactividad, lo que hace a estas células viables para un trasplante alogénico [4].

#### Aplicaciones en animales y humanos realizadas

En modelos animales han resultado ser útiles en la insuficiencia ovárica [22], en el reemplazo de neuronas dopaminérgicas en enfermedad de Parkinson [21]; aumentaron el número de islotes beta-pancreáticos en el páncreas de ratones con diabetes tipo I [7], mejoran la enfermedad de Duchenne en ratones al diferenciarlas en tejido muscular esquelético [4], han sido utilizadas en ratones infartados donde fueron diferenciadas a cardiomiocitos con la consecuente mejora de la función cardíaca [4], administradas de forma local su eficacia ha sido demostrada en modelos animales para enfermedades inflamatorias crónicas como esclerosis múltiple [3], encefalomiелitis autoinmune [4] y colitis ulcerosa [8].

En humanos, las EnSC han sido utilizadas en un pequeño ensayo en fase I de cuatro pacientes de esclerosis múltiple donde las EnSC fueron administradas vía intravenosa e intratecal. Los resultados no muestran reacción inmunológica o efectos adversos un año después de la administración [3].

Otro estudio incluyó un paciente que padecía distrofia muscular de Duchenne. Le fueron administradas inyecciones intramusculares de EnSC. Los seguimientos realizados no reportaron efectos adversos después de tres años y pusieron de manifiesto un incremento en la fuerza muscular y una disminución de las enfermedades respiratorias [3].

Un tercer estudio usó las EnSC en un paciente con insuficiencia cardíaca congestiva, al que le fueron administradas EnSC por vía intravenosa, reveló un aumento de la fracción de eyección desde un 30% a un 40% [3].

#### Endometriosis

Como toda célula del organismo, las EnSC pueden ser una fuente de patología. Es el caso de patologías como endometriosis, hiperplasia de endometrio, cáncer de endometrio y adenomiosis [23]. En el presente artículo, de acuerdo con lo indicado con anterioridad nos ocuparemos de la endometriosis por ser la más frecuente y relevante ya que afecta al 6-10% de la población femenina en edad fértil [24, 25]. Se define la endometriosis como [11] “enfermedad crónica dependiente de estrógenos caracterizada por la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina.” Aunque sea benigno prolifera en exceso, invade tejidos y puede ser causa de infertilidad [11]. Los tratamientos pueden ser quirúrgicos o médicos pero en ambos casos no son definitivos y la enfermedad recidiva, parece ser que debido a las EnSC [11, 25]. La causa de la endometriosis no está bien definida, puede ser multifactorial y se han postulado varias teorías [26]: Menstruación retrógrada, metaplasia celómica, restos embrionarios, metástasis linfoides o vasculares, o células madre.

Entre todas estas teorías destaca la menstruación retrógrada que provoca la colonización de las EnSC en el peritoneo siendo éstas responsables de las recidivas [9, 11, 23, 25, 27, 28]. Sin embargo la menstruación retrógrada afecta al 90% de la población femenina en edad fértil y sólo el 6-10% padece la enfermedad [28]. Esto se debe a que las EnSC en una paciente con endometriosis son diferentes a las que presentan pacientes sin endometriosis [15]. Se han encontrado alteraciones y sobreexpresión de OCT4, NANOG y el protooncogén c-KIT en las células madre que forman la tumoración en la endometriosis [24]. Otro artículo destaca el papel de la vía de señalización Notch1 en el origen de la enfermedad, apuntando que la infraexpresión de estos receptores mejora la enfermedad y disminuye la probabilidad de recidiva [25]. Finalmente otro estudio destaca el aumento de los marcadores de superficie CD9, CD10 y CD29 en EnSC de pacientes con endometriosis [27].

Es de destacar que, aunque son la mayoría, no todas las endometriosis se encuentran en la cavidad peritoneal. Parece ser que la endometriosis fuera de la cavidad peritoneal está causada por células madre mesenquimales provenientes de la médula ósea [11].

#### Futuras aplicaciones

Las EnSC son protagonistas en numerosas revistas de actualidad científica al poder ser una potente terapia para enfermedades degenerativas muy prevalentes como el Alzheimer o el Parkinson [2, 29] ya que pueden ser diferenciadas hacia tejido neural. También demuestran ser útiles en lesiones de órganos y tejidos blandos como hígado o páncreas (diabetes tipo I) sin embargo el mecanismo exacto sobre como las EnSC provocan la regeneración y reparación de los tejidos aún no está claro y sería necesario realizar más investigaciones al respecto [3].

Otra aplicación que en un futuro pueden tener las EnSC es en el campo de los tejidos artificiales dentro de la ingeniería tisular. Su facilidad de aislamiento y cultivo, su alta capacidad

de proliferación, baja inmunogenicidad, capacidad angiogénica y estabilidad genómica las convierte en una fuente de células madre para completar las matrices que componen estos órganos bioartificiales mejores que las células embrionarias, umbilicales o mesenquimales [6]. Se han propuesto matrices de hidrogeles de fibrina para la reparación de nervios periféricos, donde las EnSC fueron diferenciadas con éxito hasta células de Schwann [30], matrices tridimensionales de tejido óseo para dichas lesiones [31] y una matriz tridimensional de una vejiga al ser diferenciadas en músculo liso [32]. Se ha propuesto también crear una matriz en 3D que contenga EnSC diferenciadas en células de los islotes beta pancreáticos para poder trasplantarlos directamente y así tratar la diabetes mellitus I [6].

Numerosos autores destacan el riesgo teórico de endometriosis que existe al usar las EnSC, sin embargo ningún modelo animal ni humano ha reportado esto [3], ya que tal y como se comentaba en el apartado anterior para que se diera dicha enfermedad es necesario la presencia de ciertas alteraciones en las células puesto que las EnSC de la endometriosis y las EnSC de una mujer sana no son iguales [15].

### Conclusiones

En su corto tiempo desde su descubrimiento las EnSC, por sus resultados *in vitro* y en modelos humanos y animales, han demostrado tener un enorme potencial en la regeneración y reparación de ciertas lesiones óseas, intestinales, de nervios periféricos, neurodegenerativas o de partes blandas. En el futuro desarrollo de órganos artificiales que plantea la ingeniería tisular las EnSC serían unas candidatas ideales para poblar las distintas matrices con las que son construidos.

En relación a la endometriosis es necesario seguir investigando y determinar los cambios que llevan a las EnSC a proliferar de forma anómala, así como aportar mayor cantidad de evidencia sobre si los tratamientos con EnSC podrían llegar a provocar una endometriosis iatrogénica en el órgano dañado.

Los resultados alcanzados hasta este momento indican la necesidad de investigar más sobre esta población de células pues sus mecanismos de reparación y regeneración así como su papel en la regulación de la respuesta inmune dentro del propio cuerpo aún siguen constituyendo una incógnita. Para que estas teóricas aplicaciones llegasen algún día a la clínica sería necesario conocer perfectamente dichos mecanismos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ghobadi F, Mehrabani D, Mehrabani G. Regenerative Potential of Endometrial Stem Cells: A Mini Review. *World J Plast Surg.* 2015;4(1): 3–8.
- Mobarakeh ZT, Ai J, Yazdani F et al. (2012) Human endometrial stem cells as a new source for programming to neural cells. *Cell Biol. Int. Rep.* 19(1):art:e00015. doi:10.1042/CBR20110009
- Verdi J, Tan A, Shoaie-Hassani A, Seifalian AM. Endometrial stem cells in regenerative medicine. *J Biol Eng.* 2014;8:20
- Gargett CE, Schwab KE, Deane JA. Endometrial stem/progenitor cells: the first 10 years. *Hum Reprod Update* 2016; 22 pp. 137–163
- Pal L. Uterine stem cells—promise and possibilities. *Maturitas.* 2015 Nov;82(3):282–3. doi: 10.1016/j.maturitas.2015.07.018.
- Niknamasl A, Ostad SN, Soleimani M, et al. A new approach for pancreatic tissue engineering: human endometrial stem cells encapsulated in fibrin gel can differentiate to pancreatic islet beta-cell. *Cell Biol Int.* 2014 Oct;38(10):1174–82
- Xu Y, Zhu H, Zhao D, Tan J. Endometrial stem cells: clinical application and pathological roles. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(12):22039–22044
- Lv Y, Xu X, Zhang B et al. Endometrial regenerative cells as a novel cell therapy attenuate experimental colitis in mice. *J Transl Med* 2014;12:344.
- Marin Figueira PG, Abrao MS, Krikun G, Taylor H. Stem cells in endometrium and their role in the pathogenesis of endometriosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2011;1221:10–17.
- Lucas ES, Salker MS, Brosens JJ. Uterine plasticity and reproductive fitness. *Reprod BioMed Online* 2013 Dec;27(6):664–72. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.10.003. Epub 2013 Oct 12.
- G. Pittatore, A. Moggio, C. Benedetto, B. Bussolati, and A. Revelli. Endometrial Adult/Progenitor Stem Cells: Pathogenetic Theory and New Antiangiogenic Approach for Endometriosis Therapy. *Reprod Sci* 2014; 21(3):296–304
- Khademi F, Soleimani M, Verdi J, et al. Human endometrial stem cells differentiation into functional hepatocyte-like cells. *Cell Biol Int.* 2014; 38:825–834
- Noureddini M, Verdi J, Mortazavi-Tabatabaei SA et al. Human endometrial stem cell neurogenesis in response to NGF and bFGF. *Cell Biol. Int.* 2012;36:961–966
- Verdi J, Sharif S, Banafshe HR, Shoaie-Hassani A. Sertraline increases the survival of retinoic acid induced neuronal cells but not glial cells from human mesenchymal stem cells. *Cell Biol Int.* 2014;38:901–909
- Nikoo S, Ebtekar M, Jeddi-Tehrani M, et al. Menstrual blood-derived stromal stem cells from women with and without endometriosis reveal different phenotypic and functional characteristics. *Mol Hum Reprod* 2014;20(9):905–918
- Wang H, Jin P, Sabatino M, et al. Comparison of endometrial regenerative cells and bone marrow stromal cells. *J Transl Med* 2012;10:207–221
- Mohseni R, Shoaie-Hassani A, Verdi J. Reprogramming of endometrial adult stromal cells in the presence of a ROCK inhibitor, thiazovivin, could obtain more efficient iPSCs. *Cell Biol Int.* 2015;39:515–518.
- A. N. Schüring, J. Braun, S. Wüllner, L. Kiesel, M. Götte. mRNA-Expression of ER $\alpha$ , ER $\beta$ , and PR in Clonal Stem Cell Cultures Obtained from Human Endometrial Biopsies. *ScientificWorldJournal.* 2011;11:1762–9. doi: 10.1100/2011/949823.
- Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E et al. Stem Cell-Like Properties of the Endometrial Side Population: Implication in Endometrial Regeneration. *PLoS One*, 2010 28;5(4)
- Bayat N, Ebrahimi-Barough S, Ardakan MM et al. Differentiation of Human Endometrial Stem Cells into Schwann Cells in Fibrin Hydrogel as 3D Culture. *Mol Neurobiol* (2015).
- Navaei-Nigjeh M, Amoabedini G, Noroozi A et al. Enhancing neuronal growth from human endometrial stem cells derived neuron-like cells in three-dimensional fibrin gel for nerve tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2014;102(8)
- Liu T, Huang Y, Zhang J et al. Transplantation of Human Menstrual Blood Stem Cells to Treat Premature Ovarian Failure in Mouse Model. *Stem Cells Dev.* 2014;23(13).
- C.E.Gargett. Uterine stem cells: What is the evidence?. *Hum Reprod Update* 2007;13(1): 87–101
- Fraunhofer NA, Meilerman Abuelafia A, Stella I, Galliano S, Barrios M, Vitullo AD. Identification of germ cell-specific VASA and IFITM3 proteins in human ovarian endometriosis. *J Ovarian Res* 2015;8:66



25. He H, Liu R, Xiong W, Pu D, Wang S, Li T. Lentiviral vector-mediated down-regulation of Notch1 in endometrial stem cells results in proliferation and migration in endometriosis. *Mol Cel Endocrinol* 2016;436:210-218
26. Sassona IE, Taylor HS. Stem Cells and the Pathogenesis of Endometriosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 ;1127:106–115
27. Nikoo S, Ebtekar M, Jeddi-Tehrani M et al. Menstrual blood-derived stromal stem cells from women with and without endometriosis reveal different phenotypic and functional characteristics. *Mol Hum Reprod* 2014;20(9):905–918
28. O DF, Roskams T, Van den Eynde K et al. The Presence of Endometrial Cells in Peritoneal Fluid of Women With and Without Endometriosis. *Reprod Sci.* 2016. 10.1177/1933719116653677
29. Shoaie-Hassani A, Mortazavi-Tabatabaei SA, Shari S, Rezaei-Khaligh H, Verdi J. DHEA provides a microenvironment for endometrial stem cells neurogenesis. *Med Hypotheses* 2011;76:843–846
30. Bayat N, Ebrahimi-Barough S, Ardakan MM et al. Differentiation of Human Endometrial Stem Cells into Schwann Cells in Fibrin Hydrogel as 3D Culture. *Mol Neurobiol*, 2015. doi:10.1007/s12035-015-9574-7
31. Alizadeh A, Moztarzadeh F, Ostad SN, Azami M, Geramizadeh B, Hatam G. Synthesis of calcium phosphate-zirconia scaffold and human endometrial adult stem cells for bone tissue engineering *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2016;44(1):66-73
32. Shoaie-Hassani A, Sharif S, Seifalian AM, Mortazavi-Tabatabaei SA, Rezaie S, Verdi J. Endometrial stem cell differentiation into smooth muscle cell: a novel approach for bladder tissue engineering in women. *BJU Int.* 2013; 112(6):854-63

## Hipertensión arterial maligna y trombopenia en trasplantado renal tras cambio de sirolimos a tacrolimus

Malignant hypertension and thrombopenia in renal transplant after switching from sirolimus to tacrolimus

Clara M<sup>a</sup> Moriana Domínguez, Francisco José Borrego Utiel, María Pilar Pérez del Barrio, Josefa Borrego Hinojosa.

Servicio de Nefrología. Complejo Hospitalario de Jaén, España.

### Resumen

Presentamos un caso clínico, hasta ahora no descrito, de paciente trasplantado renal que desarrolla hipertensión arterial maligna tras el cambio de sirolimus por tacrolimus. Además presentó trombopenia y anemia que como primera orientación podrían hacer pensar en un síndrome hemolítico urémico, pero la evolución del caso confirmó que todo fue debido a la hipertensión maligna.

### Abstract

We report a case, undescribed until now, of a renal transplant patient who developed a malignant hypertension after change sirolimus by tacrolimus. Also presented thrombocytopenia and anemia as a first orientation could suggest a hemolytic uremic syndrome, but subsequent events confirmed that everything was due to malignant hypertension.

**Palabras clave:** Hipertensión arterial maligna, Trasplante renal.

**Keywords:** Malignant hypertension, renal transplantation.

### INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial en pacientes trasplantados renales es de origen multifactorial (1,2) siendo su incidencia discretamente mayor cuando la inmunosupresión se realiza con ciclosporina que con tacrolimus (3,4). La aparición de hipertensión arterial maligna en trasplantados renales es extremadamente rara. Se ha descrito en trasplantados de médula ósea asociado al uso de ciclosporina (5) y muy rara vez en trasplantados con tacrolimus (6). Por otra parte tacrolimus puede desencadenar un síndrome urémico-hemolítico con elevación de la presión arterial en trasplantados renales de forma muy infrecuente, que obliga al tratamiento con plasmáferesis o infusiones de plasma para su manejo con buenos resultados (7,8).

Presentamos un caso de hipertensión arterial maligna con trombopenia y anemia en un trasplantado renal de larga evolución que se desarrolló al cambiar la inmunosupresión, de sirolimus a tacrolimus.

### CASO CLÍNICO

Varón de 18 años con enfermedad renal crónica secundaria a nefronoptosis que inició hemodiálisis en marzo de 2008.

Recibió trasplante renal el 1 de octubre de 2008 con tratamiento inmunosupresor inicial: daclizumab, tacrolimus, MMF y prednisona. Presentó retraso en la función del injerto, con biopsia que mostró rechazo y datos de nefrotoxicidad por anticalcineurínicos por lo que se cambió tacrolimus por sirolimus. El injerto renal sufrió deterioro progresivo de la función renal con presencia de proteinuria creciente en el curso de los años, presentando en julio/2012 Cr 4,28 mg/dl y proteinuria 2,6 g/día. Tenía un peso de 94 kg y un IMC 33 kg/m<sup>2</sup>. Seguía tratamiento antihipertensivo con losartán 50 mg/12 h, enalapril 7,5 mg/12 h y amlodipino 7,5 mg/12 h manteniendo tensión arterial de 127/65 mmHg. La inmunosupresión en este momento era: sirolimus 2 mg/24 h, micofenolato de mofetilo 250 mg/12 h y prednisona 7,5 mg/24 h. En el curso de los meses se observó incremento de los edemas en miembros inferiores junto con elevación de la presión arterial por lo que en febrero/2013 se sustituyó enalapril por ramipril hasta 5 mg/12 h y en marzo/2013 se añadió furosemina 40 mg/día. En mayo/2013 mostró incremento ponderal de 6 kg con TA 159/99 mm Hg y ascenso de la proteinuria a 6,8 g/día, por lo que se cambió sirolimus por tacrolimus (6 mg/día), a la vez que se sustituyó amlodipino por manidipino, se añadió doxazosina (hasta 4 mg/8 h) y se subió dosis de furosemina a 120 mg/día. En junio/2013 acude a Urgencias con TA 210/120 mm Hg con edematización hasta ingles, descubriendo deterioro severo de la función renal (Cr 9,3 mg/dl), anemia (Hb 8,6 g/dl) y trombopenia (79.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>). Se realiza fondo de ojo en donde se visualizan hemorragias retinianas

y papiledema, con desprendimiento seroso del epitelio pigmentario bilateral. Se coloca catéter venoso femoral derecho y se inicia hemodiálisis y ultrafiltración logrando controlar la presión arterial tras reducción de 12 kg de su peso corporal y mejoría significativa de los datos de hemólisis en 4 días (Hb 9,7 g/dl y plaquetas 204.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>), sin precisar infusión de plasma ni plasmaféresis. Asimismo se inicia retirada de tratamiento inmunosupresor a lo largo de las semanas siguientes y se incluye de forma definitiva en hemodiálisis.

## DISCUSIÓN

Los edemas son frecuentes en pacientes trasplantados renales en tratamiento con inhibidores de la m-TOR siendo atribuidos a una inhibición de la linfangiogénesis. En estudios experimentales se ha comprobado un menor desarrollo de vasos linfáticos cuando se administra sirolimus y se ha observado que la inhibición de la vía m-TOR provoca que VEGF-C y VEGF-D no tengan efecto sobre su receptor VEGF-3, necesario en la proliferación y regeneración de vasos linfáticos (9,10). En modelos experimentales también se ha encontrado que sirolimus es capaz de incrementar la expresión y actividad de cotransportadores de sodio en células tubulares renales en cultivo (11), aunque este mecanismo no está claro si está involucrado en la génesis del edema. Su manejo incluye administración de altas dosis de diuréticos junto con fármacos venotónicos, con una eficacia más bien poco exitosa, siendo el principal motivo de retirada de estos fármacos.

El desarrollo de hipertensión maligna es muy raro en trasplantados renales (6) y puede ser explicado por varios factores en nuestro caso. Por una parte observamos un empeoramiento inicial del control de la presión arterial antes del cambio de sirolimus, asociado a una ganancia de peso y mayores edemas, por lo que en parte puede ser atribuido a la expansión del volumen extracelular en un paciente con una función renal deteriorada, que dificulta la adecuada excreción renal de agua y sodio. Tacrolimus pudo empeorar el control tensional por su conocido efecto vasoconstrictor sobre las arteriolas aferente y eferente glomerulares, con reducción del flujo sanguíneo renal y del filtrado glomerular (12), que es mediado por un incremento de la producción de sustancias vasoconstrictoras como la endotelina y el tromboxano A<sub>2</sub> (13), un incremento del tono simpático (14), además de la reducción de la producción de sustancias vasodilatadoras como prostaglandinas y óxido nítrico (13). Sin embargo, diferentes trabajos experimentales consideran que el efecto más importante es el estímulo del cotransportador de cloro-sodio (NCC) sensible a tiacidas en el túbulo contorneado distal, que conduce a una reabsorción incrementada de sodio y agua (15,16). En nuestro caso sobre la expansión de volumen extracelular existente y una función renal reducida, es posible que el incremento de la reabsorción tubular de sodio y agua inducido por tacrolimus, supusiera el mecanismo descompensador definitivo que provocara el incremento de la presión arterial para desembocar finalmente en una hipertensión maligna.

La función renal sufrió un rápido deterioro tras la introducción de tacrolimus, acompañado de trombopenia y anemia. Este deterioro puede relacionarse en principio con un simple deterioro como evolución final de la disfunción crónica del injerto renal y quizás favorecido por la vasoconstricción renal del tacrolimus, más que por el efecto de la hipertensión maligna sobre el lecho vascular renal, dado el poco tiempo transcurrido. La presencia de trombopenia y anemia está presente en la hipertensión maligna (17) pero también es un dato de un síndrome urémico-hemolítico. Tacrolimus se ha asociado al desarrollo de microangiopatía trombótica en los trasplantados renales de forma poco frecuente (7,8). Su tratamiento suele requerir la retirada del fármaco, el cambio a un inhibidor de la m-TOR y realización de plasmaféresis. En nuestro caso la anemia y trombopenia cedieron rápidamente tras la entrada en diálisis, sin retirar la inmunosupresión y no precisando infusión de plasma ni plasmaféresis, por lo que parece que la anemia microangiopática podría ser más bien una manifestación más de la hipertensión arterial maligna.

Por tanto, en los casos en que se cambie la inmunosupresión de un paciente trasplantado renal desde un inhibidor de un m-TOR

a tacrolimus por la presencia de edemas severos, es conveniente incrementar convenientemente la administración de diuréticos para asegurar una eliminación urinaria adecuada de sodio y agua, que evite el incremento sin control de la presión arterial. La tensión arterial debe ser estrechamente monitorizada empleando entre la medicación prescrita diuréticos tiazídicos (12) y/o calcioantagonistas dado su efecto vasodilatador de la arteriola aferente y su efecto beneficioso mostrado en pacientes que toman anticalcineurínicos (18).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mangray M, Vella JP. Hypertension after kidney transplant. *Am J Kidney Dis.* 2011; 57(2): 331-41.
2. Chatzikyrkou C, Menne J, Gwinner W, et al. Pathogenesis and management of hypertension after kidney transplantation. *J Hypertens.* 2011; 29(12): 2283-94.
3. Vincenti F, Jensik SC, Filo RS, Miller J, Pirsch J. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation.* 2002; 73(5): 775-82.
4. Campistol J.M., Romero R., Paul J., Gutiérrez-Dalmau A. Epidemiology of arterial hypertension in renal transplant patients: changes over the last decade. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(Suppl 3): iii62-iii66.
5. Textor SC, Forman SJ, Bravo EL, Carlson J. De novo accelerated hypertension during sequential cyclosporine and prednisone therapy in normotensive bone marrow transplant recipients. *Transplant Proc.* 1988; 20(3 Suppl 3): 480-6.
6. Neu AM, Furth SL, Case BW, Wise B, Colombani PM, Fivush BA. Evaluation of neurotoxicity in pediatric renal transplant recipients treated with tacrolimus (FK506). *Clin Transplant* 1997; 11(5 Pt 1): 412-4.
7. Trimarchi HM, Truong LD, Brennan S, Gonzalez JM, Suki WN. FK506-associated thrombotic microangiopathy: report of two cases and review of the literature. *Transplantation.* 1999; 67(4):539-44.
8. Karthikeyan V, Parasuraman R, Shah V, Vera E, Venkat KK. Outcome of plasma exchange therapy in thrombotic microangiopathy after renal transplantation. *Am J Transplant.* 2003; 3(10): 1289-94.
9. Huber S, Bruns CJ, Schmid G, et al. Inhibition of the mammalian target of rapamycin impedes lymphangiogenesis. *Kidney Int.* 2007; 71(8): 771-7.
10. Desai N, Heenan S, Mortimer PS. Sirolimus-associated lymphoedema: eight new cases and a proposed mechanism. *Br J Dermatol* 2009; 160(6): 1322-6.
11. Yue G, Edinger RS, Bao HF, Johnson JP, Eaton DC. The effect of rapamycin on single ENaC channel activity and phosphorylation in A6 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279(1): C81-8.
12. Perico N., Ruggerenti P., Gaspari F., et al. Daily renal hypoperfusion induced by cyclosporine in patients with renal transplantation. *Transplantation* 1992; 54(1): 56-60.
13. Lanese DM, Conger JD. Effects of endothelin receptor antagonist on cyclosporine-induced vasoconstriction in isolated rat renal arterioles. *J Clin Invest* 1993; 91(5): 2144-9.
14. Scherrer U., Vissing S.F., Morgan B.J., et al. Cyclosporine-induced sympathetic activation and hypertension after heart transplantation. *N Engl J Med* 1990; 323(11): 693-9.
15. Hoorn EJ, Walsh SB, McCormick JA, et al. The calcineurin inhibitor tacrolimus activates the renal sodium chloride

- cotransporter to cause hypertension. *Nat Med.* 2011; 17(10): 1304-9.
16. Luft FC. How calcineurin inhibitors cause hypertension. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27(2): 473-5.
  17. Shavit L, Reinus C, Slotki I. Severe renal failure and microangiopathic hemolysis induced by malignant hypertension--case series and review of literature. *Clin Nephrol.* 2010; 73(2):147-52.
  18. Ruggerenti P, Perico N., Mosconi L, et al. Calcium channel blockers protect transplant patients from cyclosporine-induced daily renal hypoperfusion. *Kidney Int* 1993; 43: 706-11.

## Propranolol, efecto terapéutico simultáneo en una paciente. ¿Existe la polipíldora?

Propranolol, simultaneous therapeutic effect in a patient. Is there a polypill?

Fernando Leiva-Cepas<sup>1,2,5</sup>, Isabel López-López<sup>6</sup>, Adriana Cabello Chanfreut<sup>2,5</sup>, Alba López Matarín<sup>4,5</sup>, Joao Miguel Madeira Martins<sup>3,5</sup> y José Ángel Fernández García<sup>2,5</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Morfológicas. Sección de Histología. Facultad de Medicina y Enfermería. Universidad de Córdoba.

<sup>2</sup>UGC de Occidente. Consultorio de Villarrubia. Distrito Sanitario Córdoba-Guadalquivir. Servicio Andaluz de Salud. Junta de Andalucía.

<sup>3</sup>UGC de Fuensanta. Distrito Sanitario Córdoba-Guadalquivir. Servicio Andaluz de Salud. Junta de Andalucía.

<sup>4</sup>UGC Guadalquivir. Distrito Sanitario Córdoba-Guadalquivir. Servicio Andaluz de Salud. Junta de Andalucía.

<sup>5</sup>Unidad Docente de Medicina Familiar y Comunitaria de Córdoba. Zona I. Distrito Sanitario Córdoba-Guadalquivir. Servicio Andaluz de Salud. Junta de Andalucía.

<sup>6</sup>Servicio de Nefrología. Hospital Universitario "Reina Sofía" de Córdoba.

### Resumen

Ante la presencia de pacientes con diferentes problemas clínicos, el reto para el médico es minimizar al máximo el número de fármacos para conseguir un adecuado cumplimiento terapéutico. Diariamente surgen en el mercado nuevas alternativas farmacológicas que son capaces de conseguir un efecto terapéutico más potente y duradero, reduciendo a su vez los efectos adversos de sus predecesores. *Propranolol*, es un fármaco ampliamente conocido y empleado para el tratamiento de diversas patologías. La aparición de nuevas opciones en la prevención y tratamiento de eventos cardiovasculares ha disminuido su prescripción en los últimos años y ha favorecido su sustitución en pacientes estables. Como sabemos, es importante hacer una valoración individualizada e integral del paciente ante cualquier modificación de tratamiento. Presentamos el caso clínico de una paciente con múltiples patologías potencialmente graves en la que la suspensión del tratamiento con *propranolol* fue el desencadenante de la descompensación de su patología de base.

**Palabras clave:** *propranolol, betabloqueante, eventos cardiovasculares, temblor esencial, hipertiroidismo.*

### Abstract

In patients with different clinical problems, the challenge for the physician is to minimize number of drugs to achieve adequate therapeutic compliance. New pharmacological alternatives are emerging in the market that are capable of achieving a more potent and lasting therapeutic effect, while reducing the adverse effects of its predecessors. *Propranolol*, is a drug widely known and used for the treatment of various pathologies. The emergence of new options in the prevention and treatment of cardiovascular events has decreased its prescription in the last years and has favored its substitution in stable patients. As we know, it is important to make an individualized and comprehensive assessment of the patient before any treatment modification. We present the case of a patient with multiple potentially serious pathologies in which the suspension of the treatment with *propranolol* was the trigger of the decompensation of its pathology.

**Keywords:** *propranolol, betablocker, cardiovascular events, essential tremor, hyperthyroidism.*

### INTRODUCCIÓN

El propranolol es un principio activo cuyo mecanismo de acción consiste en el bloqueo antagonista de los receptores adrenérgico beta 1 ( $\beta_1$ ) y beta 2 ( $\beta_2$ ). Surgió a partir de la modificación farmacológica del pronéfalol.

Los betabloqueantes (BB) producen una inhibición competitiva directa en los receptores  $\beta$  con las catecolaminas, y, además tienen una acción estabilizante directa sobre las membranas tipo quinidina. Sobre el sistema cardiovascular las acciones principales son: disminuir la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la contractilidad miocárdica.



Existen tres características que diferencian a unos BB de otros:

1. *Cardioselectividad*: actuando sobre receptores  $\beta_1$  sin antagonizar los receptores  $\beta_2$ , no actuando en el músculo liso bronquial, arterial sistémico o coronario. Así, evitan los efectos de broncoespasmo y vasoconstricción vascular que resultaría de una estimulación alfa sin oposición.
2. *Actividad simpaticomimética intrínseca*: la poseen algunos BB al realizar un agonismo parcial sobre los receptores beta -propiedad perjudicial en pacientes que presentan angina severa o de reposo-.
3. *Hidrosolubilidad o liposolubilidad*: algunos BB, como el propranolol, son liposolubles. Esto influye tanto en su dosificación como en la aparición de efectos adversos con más frecuencia que con los fármacos hidrosolubles.

Entre los efectos secundarios de los BB destaca el bloqueo de los receptores  $\beta_2$  en el músculo bronquial (crisis de asma y broncoconstricción en pacientes afectados de EPOC).

La acción inotrópica negativa sobre el corazón puede desencadenar insuficiencia cardíaca, y el antagonismo adrenérgico a nivel periférico, favorece la aparición de crisis de Raynaud y agrava los síntomas de la enfermedad vascular periférica.

Por otro lado, los BB no cardioselectivos inhiben la glucogenólisis y debilitan la respuesta adrenérgica a la hipoglucemia. Pueden provocar náuseas, diarrea, impotencia, estreñimiento, depresión, sedación y trastornos del sueño, por su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE).

El propranolol en un fármaco ampliamente utilizado desde su desarrollo en la década de 1960. Sus principales efectos terapéuticos están relacionados con el control de la frecuencia cardíaca, así como la prevención de un remodelado ventricular anómalo tras un infarto agudo de miocardio.

Se presenta el siguiente caso clínico con el objetivo de enfatizar el hecho de que con un solo fármaco se controlaron 4 procesos patológicos, descompensados tras retirarlo.

## CASO CLÍNICO

Mujer de 90 años con antecedentes personales de: hipertensión arterial (HTA, 1987), insuficiencia cardíaca (2008), fibrilación auricular (FA, 1999), hipertiroidismo (2001), temblor esencial (1996W), anemia de trastornos crónicos y hematoma subdural (2013). Como tratamiento habitual: propranolol, furosemida, clopidogrel, carbimazol, levetiracetam, sulfato ferroso y cianocobalamina.

La paciente que debuta con temblor esencial muy limitante que no toleró primidona, prescribiéndose propranolol para el control de los síntomas con mejoría significativa. Años más tarde se inicia un cuadro de palpitaciones (1999, fibrilación auricular), anticoagulando a la paciente con acenocumarol. Como complicación a este tratamiento, tras un traumatismo craneoencefálico, se desarrolló un hematoma subdural que obliga a la retirada de cumarinas y tratamiento con heparina y AAS; que debe de ser igualmente retirado por sangrado, asumiendo el riesgo trombótico. Cinco meses después de este episodio, se detecta en consulta de Atención Primaria un hipertiroidismo paucisintomático, probablemente por el tratamiento betabloqueante.

Tres años más tarde, en el contexto de una descompensación aguda de su insuficiencia cardíaca por una infección respiratoria, se le retira el tratamiento BB por considerarse "obsoleto" según las guías clínicas del momento. Días más tarde acude de nuevo a urgencias por sintomatología de edema agudo de pulmón (EAP) por

empeoramiento de su FA de base. Durante el ingreso hospitalario se detectó además empeoramiento de su patología tiroidea previa que requirió tratamiento con antitiroideos y propranolol.

Aun así esta paciente, poco consultadora, se tuvo conocimiento *a posteriori* que padecía migraña desde la infancia, cuyas crisis redujeron drásticamente la frecuencia después de la instauración del propranolol.

Exploración y pruebas complementarias, día del ingreso por EAP: afectación del estado general. Auscultación cardiorrespiratoria: taquiaritmia a 150 lpm, sin extratonos. Murmullo vesicular disminuido, taquipnéica, crepitantes hasta campos medios y sibilantes. Abdomen sin hallazgos. Edemas en miembros inferiores sin signos de trombosis venosa. ECG: FA a 130-150 lpm, con eje izquierdo, BRD conocido. Sin alteraciones agudas de la repolarización. Hemograma, bioquímica y gasometría arterial normales. Rx de tórax: exudados alveolares a nivel de ambos hilos, con pinzamiento de ambos senos costofrénicos.

## DISCUSIÓN

El uso del propranolol ha disminuido en los últimos años, especialmente desde la incorporación de nuevos BB. Sin embargo, no ha sido desplazado en determinadas patologías, e incluso se está incorporando al tratamiento en patología dermatológica con resultados esperanzadores.

En el control de la frecuencia cardíaca, propranolol por su farmacocinética, precisa de dosis elevadas separadas en varias tomas para alcanzar una dosis óptima, siendo sustituido por bisoprolol que es el más y mejor empleado<sup>1</sup>; si bien en episodios de urgencia (fibrilación auricular rápida, en pacientes con FA ya conocida) se emplea para el control de la frecuencia. Así mismo, su empleo como hipotensor (1971) fue más tardío que como antianginoso (1964), ya que este fármaco era el prototipo de BB.

Actualmente, su empleo como fármaco de primera línea para el tratamiento de HTA está en desuso, especialmente en pacientes de más de 60 años, diabéticos y/o fumadores<sup>2</sup>. Las nuevas formulaciones como carvedilol y nebivolol no aumentan el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2<sup>3</sup>, y disminuyen el riesgo de accidente cerebrovascular<sup>4</sup>, lo que ha hecho que propranolol actualmente tenga escasas indicaciones como hipotensor. Carvedilol está indicado de forma prioritaria en casos de disfunción ventricular secundaria a eventos isquémicos y nebivolol es un fármaco que favorece la síntesis de óxido nítrico y que proporciona buenos resultados es monoterapia. Además, los nuevos BB tienen mejores propiedades farmacocinéticas, aumentando el intervalo de tiempo de dosificación, favoreciendo la adherencia terapéutica.

Respecto a la profilaxis de la migraña, el propranolol se usa principalmente en la de tipo vestibular. Recientes estudios<sup>5</sup> muestran eficacia similar a fármacos como flunarizina (aumento de peso), amitriptilina (taquicardia) o topiramato (disgeusia) donde en ausencia de fenómeno de Raynaud, asma o insuficiencia cardíaca son ideales pues se evitan los efectos secundarios de los fármacos anteriormente citados. Su mecanismo de acción parece estar mediado por la vasodilatación de los vasos cerebrales.

En el temblor esencial, los BB son los fármacos que más utilizados<sup>6</sup> y se conocen para esta indicación desde hace mucho tiempo, siendo el más estudiado el propranolol, que se emplea desde 1971. Su mecanismo de acción parece ser periférico mediado por un bloqueo  $\beta_2$ , sin precisarse fármacos que atraviesen la BHE, permitiendo su empleo en temblor cerebeloso o del derivado de la enfermedad de Parkinson.

En el control de los síntomas del hipertiroidismo, los BB disminuyen las manifestaciones de esta patología mientras los antitiroideos comienzan su acción en pacientes muy sintomáticos; además tienen cierta capacidad para la inhibición periférica de T3.

Independiente de los efectos controlados por el fármacos en cuestión, pretendemos analizar a su vez el resto de aplicaciones terapéuticas del propranolol.

Los pacientes cirróticos con varices esofágicas, que han tenido antecedente de sangrado o un aumento de gradiente vascular demostrado, tienen indicado propranolol para evitar la hemorragia digestiva. Su mecanismo de acción se basa en la reducción del gasto cardíaco y del flujo sanguíneo portocolateral. La administración ha de ser a dosis crecientes hasta que el descenso de la frecuencia cardíaca no baje de 55 lpm o la PAS sea menor de 90 mmHg<sup>7</sup>. Es importante tener en cuenta que la presencia de un paciente con patología asmática, bloqueo AV, estenosis aórtica o claudicación intermitente concomitante contraindica su empleo.

Por otro lado, se están aplicando en los últimos años como alternativa terapéutica empírica en determinados tipos de angiomias, el uso de propranolol, con resultados muy esperanzadores especialmente en la edad pediátrica especialmente por su eficacia superior a otros, además de ser el único aprobado para este uso<sup>8</sup>. El cómo se produce tal efecto está en cuestión todavía, pero sus usos están siendo esperanzadores.

Para el tratamiento del glaucoma, el propranolol fue ensayado hace ya algunas décadas, cuando la vía ocular no estaba tan extendida. Está establecido que los BB disminuyen la producción de humor acuoso, desconociéndose el mecanismo exacto, si bien se han identificado receptores  $\beta$ -adrenérgicos en el iris, el cuerpo ciliar y la trabécula. Algunos estudios sugieren que estos fármacos pueden antagonizar el efecto de las catecolaminas circulantes sobre los receptores  $\beta_2$  en el epitelio ciliar. También se ha observado que pueden facilitar el drenaje del humor acuoso, aunque este efecto se considera menos relevante. No obstante, la aparición de nuevos BB como timolol y su combinación con prostaglandinas han mostrado mejores resultados tanto en posología como en adherencia al tratamiento<sup>9</sup>.

Por último, el propranolol dada su ya comentada acción BB permite la disminución de sintomatología ansiosa, sin las contraindicaciones ni efectos colaterales del empleo de otros fármacos como las benzodiazepinas (amnesia retrógrada, tendencia al sueño, acumulación en el tejido adiposo en ancianos, etc). Los efectos del propranolol en el tratamiento de los trastornos de ansiedad no se han evaluado sistemáticamente antes. Existen metaanálisis<sup>10</sup> que no han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la eficacia de propranolol y benzodiazepinas en cuanto al tratamiento a corto plazo del trastorno de pánico con o sin agorafobia. Además, no se ha encontrado evidencia de efectos de propranolol en la gravedad de los síntomas del trastorno de personalidad a través de la inhibición de la reconsolidación de la memoria. En conclusión, la calidad de la evidencia de la eficacia del propranolol en la actualidad es insuficiente para apoyar el uso rutinario de propranolol en el tratamiento de este grupo de patologías. Aun así, su utilidad para evitar sintomatología vegetativa en eventos como exposiciones en público, exámenes entre otros sigue siendo utilizada en nuestro medio<sup>10</sup>.

En muchas ocasiones, se ven pacientes de Atención Primaria con tratamientos de larga duración, que en el contexto médico actual pueden estar obsoletos. En este caso clínico, la paciente conseguía un efectivo control de cuatro patologías potencialmente muy graves con un solo fármaco. Evaluar el paciente en su conjunto, unido a su MAP que suele conocer a sus pacientes con años de evolución es fundamental en el momento de comenzar, añadir o retirar una nueva alternativa terapéutica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bauer J, Grimm D. The effects of newer beta-adrenoceptor antagonists on vascular function in cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2012;10:378–390.
2. Wiysonge CA, Bradley, Volmink J, Mayosi BM, Mbewu A, Opie LH. Beta-Blockers for hypertension. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;14:11.
3. Bakris GL, Fonseca V, Katholi RE, McGill JB, Messerli FH, Phillips RA, et al. Metabolic effects of carvedilol vs metoprolol in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;292(18):2227–2236
4. Lindholm LH, Carlberg B, Samuelsson O. Should beta blockers remain first choice in the treatment of primary hypertension? A meta-analysis. *Lancet*. 2005;366(9496):1545–1553.
5. Salmito MC, Duarte JA, Morganti LOG, Brandão PVC, Nakao BH, Villa TR, et al. Prophylactic treatment of vestibular migraine. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2016. [Epub ahead of print].
6. Bermejo PE, Ruiz-Huete C, Terrón C. Relationship between essential tremor, Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Rev Neurol*. 2007;45(11):696–694.
7. Del Olmo JA. Prophylaxis of digestive hemorrhaging due to esophageal varices. *Rev Sdad Valenciana Patol Dig*. 2000;19(4):163–167.
8. Baselga Torres E, Bernabéu Wittle J, van Esso Arbolave L, Febrer Bosch MI, Carrasco Sanz A, de Luca Laguna R, et al. Consenso español sobre el hemangioma infantil. *An Pediatr (Barc)*. 2016;85(5):256–265.
9. Sacchi M, Specchia C, Williams SE, Villani E, Nucci P. Efficacy of bimatoprost plus timolol fixed combination in open angle glaucoma patients previously treated with dorzolamide plus timolol fixed combination. *Curr Eye Res*. 2016;41(11):1433–1437.
10. Steenen SA, van Wijk AJ, van der Heijden GJ, van Westrhenen R, de Lange J, de Jongh A. Propranolol for the treatment of anxiety disorders: systematic review and meta-analysis. *J Psychopharmacol*. 2016;30(2):128–139.

## Neurociencia

### Neuroscience

*Editado por: Dale Purves, George J. Augustine, David Fitzpatrick, William C. Hall, Anthony-Samuel Lamantia y William White.  
Editorial: Médica Panamericana. 2016*

Fernando Leiva-Cepas

*MIR-R4 de Medicina Familiar y Comunitaria. Unidad Docente de Medicina Familiar y Comunitaria de Córdoba.  
Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina y Enfermería de Córdoba. Universidad de Córdoba.*

El libro "Neurociencia" de la editorial médica Panamericana coordinado por Dale Purves (Departamento de Neurobiología, Centro Médico de la Universidad de Duke, EE.UU.) y elaborado por verdaderas referencias del campo de la neurociencia consta de 800 páginas y está dividido en 5 bloques (el señalamiento neural, la sensibilidad y el procesamiento sensitivo, el movimiento y su control central, el encéfalo cambiante y las funciones encefálicas compleja), con un total de 31 capítulos, un apéndice y un pequeño atlas final de estructuras y esquemas nerviosos al final.

Describe, desde el punto de vista anatómico, electrofisiológico y molecular, cómo las neuronas realizan sus funciones básicas. Incluye una gran cantidad de información clínica (técnicas de diagnóstico por imagen, referencias a patología neurológica actual –esclerosis múltiple o enfermedad de Alzheimer, enfermedades por priones, epilepsia, etc....-), y la relación de esta información con aminos biógenas neurotransmisoras. Estudia en profundidad temas de gran interés y actualidad, como canales y transportadores iónicos, neurotransmisores y receptores, señalización celular y molecular a nivel neuronal, plasticidad sináptica, la memoria, o la sexualidad y el encéfalo.

Cada capítulo, está ordenado en apartados con una estética atractiva, con una longitud ponderada que ofrece la información intercalada adecuadamente con recuadros, tablas o imágenes clínicas. Es muy notorio señalar, que cada recuadro menciona, en síntesis, aspectos relacionados normalmente con enfermedades concretas o fenómenos fisiológicos, con una bibliografía al final del mismo muy sugerente y de alta calidad.

Así mismo, cada capítulo termina con una bibliografía, recomendada para la ampliación de conocimientos, de gran calidad y que está debidamente clasificada en función de la procedencia de la misma: revisiones, artículos originales, libros.

La información presentada en esta nueva edición servirá como punto de partida para los estudiantes de ciencias de la salud, los graduados que se especializan en neurociencias y otros lectores que deseen conocer cómo funciona el sistema nervioso y descubrir las complejas funciones del encéfalo.

Como mayor crítica a este libro habría que indicar que el espacio web recomendado por la obra no es tan didáctico como otros de los ofrecidos por esta editorial en obras similares. Así como una mejora visual de la combinación cromática de la maquetación final.

## Síndrome fibromiálgico: ¿fecha de la primera referencia en la bibliografía médica mundial?

Syndrome fibromyalgia date of the first reference in the bibliography medical world?

José Antonio García Viudez

Consulta extrahospitalaria de reumatología. Almería. España.

Sr. Editor:

La fibromiálgia, es el término aceptado por la ACR (American College of Rheumatology) en 1990 (1). Ha tenido numerosas denominaciones, tales como fibrositis (2) y otras bastante conocidas, como: fibromiositis, miofibrositis, reumatismo muscular, reumatismo psicogénico, neurastenia, síndrome doloroso cervicocéfalo, síndrome miofascial, etc.

Al tratarse la fibromiálgia como un conjunto de síntomas, se ha considerado, por autores expertos en este tema, como un síndrome y no como una enfermedad.

Después de revisar PubMed desde el año 1964 y en el buscador Google, en diciembre de 2016, con las claves "Fibromyalgia syndrome o síndrome fibromiálgico" (traducción del inglés), no aparece ninguna referencia con anterioridad, hasta el año 1984 en el que Yunus MB, publicó un artículo que incluía el nombre de fibromyalgia Syndrome (3)

Pero antes de la fecha mencionada, en el mes de febrero de 1978, José A. G. Viudez, en una revisión: síntesis diagnóstica de la polimialgia reumática, publicada en la Revista de reumatología, en la página 8 escribí "fibrositis (**síndrome fibromiálgico**)".

En el libro Fibromyalgia y síndrome miofascial, Yunus MB, publicado en 1994 (4), que fue uno de los tres autores que lograron que la ACR aceptara el término "fibromiálgia", rectificó y la denominó a esta como Fibromyalgia Syndrome en 67 ocasiones y en 43 veces como Fibromyalgia.

En los últimos años se han publicado más de mil artículos mencionando a la fibromiálgia también como síndrome fibromiálgico. Como ejemplo está un artículo que se publicará en enero del año 2017 (5).

El término fibromyalgia syndrome es el aceptado en el idioma inglés, pero no en el idioma español, porque fibromyalgia es femenino, syndrome es masculino y ambos contienen una "y" griega, que en castellano sería una "i" latina, pero sí es equivalente el "síndrome fibromiálgico" que traducido al inglés sería fibromyalgia syndrome.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, et al. The American College of Rheumatology 1990. Criteria for the classification of fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee Arthritis Rheum 1990; 33: 160-172.
2. Gowers WR. Lumbago: its lesson and analogues. Br Med J 1904; 1:117-121.
3. Yunus MB. Primary fibromyalgia Syndrome: current concepts. Compr Ther; 10: 21-28, 1984.
4. Myofascial Pain and Fibromyalgia. Trigger Point Management E. S. Rachlin Mosby St. Louis 1994. 3-29
5. Grape HE, Solbrenke KN, Kirkevold M, Mengshoel A M: Physiother Theory pract, 2017, Jan; 33 (1); 31-40.

## La AEPD autoriza la publicación de los pagos de la industria farmacéutica a los profesionales sanitarios sin su consentimiento: análisis de implicaciones en privacidad, fiscalidad e incompatibilidades

The national data protection authority from Spain authorizes the publication of transfers of value from pharmaceutical companies to healthcare professionals without their authorization: analysis of implications in privacy, tax and incompatibilities law

Javier Villegas Flores<sup>1</sup>, Manuel Jesús Pérez Sarabia<sup>2</sup>, Beatriz Acedo López<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Abogado especialista en Seguridad de la Información en Previsión Sanitaria Nacional Servicios y Consultoría, Abogado

<sup>2</sup>Secretario General Técnico-Letrado del Consejo Andaluz de Colegios de Médicos

<sup>3</sup>Abogada en Departamento Asesoría Fiscal Colegio Oficial de Médicos de Sevilla

### Resumen

**Objetivo.** Abordar las implicaciones legales que se derivan de la publicación individualizada de las transferencias de valor efectuada por los laboratorios a los profesionales sanitarios, detallando las consecuencias negativas que puede acarrear para el derecho a la protección de la salud de los pacientes, motivado por el riesgo que conlleva para la supervivencia de la colaboración entre la industria farmacéutica y los profesionales sanitarios. **Método.** Análisis de la normativa aplicable en materia fiscal, de privacidad, y en cuanto al régimen de incompatibilidades, los informes y dictámenes emitidos sobre la cuestión, y los pronunciamientos de los sectores implicados, tanto la industria farmacéutica como el colectivo médico y la administración.

**Resultados.** Del estudio realizado se concluye que la publicación individualizada de las transferencias de valor efectuada por los laboratorios a los profesionales sanitarios puede conllevar un incumplimiento de la normativa en materia de privacidad y ser contraria al espíritu del Reglamento Europeo que entra en vigor en 2018. Supone además una contradicción con el régimen de incompatibilidades del ordenamiento jurídico. Por último, el control tributario que se pretende llevar a cabo usando dicha información no es conforme a nuestro derecho, al ampliar una sujeción tributaria por una vía distinta a la promulgación de una Ley.

**Conclusión.** Urge una armonización normativa que acabe con la incertidumbre sembrada con la publicación de las transferencias de valor, y que impida que se ponga en peligro la supervivencia de la histórica y necesaria colaboración entre la industria farmacéutica y los profesionales sanitarios, pilar fundamental en el que se asienta el desarrollo y la investigación imprescindibles para garantizar el derecho a la protección de la salud.

### Abstract

**Objective.** To address the legal implications related to the individual publication of transfers of value from Pharmaceutical Companies to Healthcare professionals, detailing the negative consequences that may result for the right to health protection, motivated by the risk that leads to the survival of collaboration between the pharmaceutical industry and healthcare professionals.

**Method.** Analysis of the regulations applicable in fiscal, privacy Law and Law of incompatibilities, reports and opinions issued on the matter, and statements of the sectors involved, both the pharmaceutical industry as well as the medical professionals and the Government.

**Results.** The study concludes that the individual publication of transfers of value from Pharmaceutical Companies to Healthcare professionals can lead to a breach of the rules on privacy and to be contrary to the spirit of the European Regulation that comes into force in 2018. It also supposes a contradiction with the legal frame of incompatibilities. Finally, the tax control that is intended to be carried out using such information is not in accordance with our Law, by extending a tax duty through a different route to the adoption of a Law.

**Conclusion.** There is a need for a harmonization of legislation that finish the uncertainty arising from the publication of publication of transfers of value and to prevent the survival of the historic and necessary collaboration between the pharmaceutical industry and health professionals, which is a fundamental pillar which establishes the development and the essential research to guarantee the right to health protection.

**Palabras clave:** Protección de datos; Industria farmacéutica; profesionales sanitarios; transferencias de valor; fiscalidad; congresos; incompatibilidades.

**Keywords:** Data protection; pharmaceutical industry; healthcare professionals; transfers of value; tax; congress; incompatibilities.



***“O aclaramos rápido ese tema, o nos vamos a encontrar con que va a colapsar un sistema de formación continuada de éxito, que ha permitido que la medicina española esté a un nivel comparable al resto”.***

Esta frase la ha pronunciado José Luis Andreu, Presidente de la Sociedad Española de Reumatología, e ilustra a la perfección la situación en la que se encuentra el tradicional sistema colaborativo de formación entre industria farmacéutica y profesionales sanitarios, tras la aprobación de la modificación del Código de Buenas Prácticas de la industria, que supone la publicación individualizada de las transferencias de valor realizadas a los profesionales. La incertidumbre sobre el modo en que la publicación de estos datos puede afectar a los médicos fundamentalmente desde un punto de vista fiscal (si tendrán que tributar por los costes del patrocinio de su formación e investigación) y de compatibilidades profesionales (si pueden ser sancionados por incurrir en incompatibilidad) es lo que tiene en vilo al sector, y cuya regulación aplicable y sus posibles interpretaciones vamos a intentar aclarar en este artículo.

En primer lugar, procedemos a explicar el objeto de las publicaciones: se conoce como **transferencia de valor** al soporte económico que la industria farmacéutica aporta mediante donaciones y patrocinios para actividades formativas, de investigación, desarrollo e innovación en ámbito sanitario que realizan los profesionales y organizaciones sanitarias, y que resultan imprescindibles para seguir mejorando los tratamientos médicos y la salud de las personas. Engloban los tradicionales **congresos, charlas y actividades que organizan y costean las compañías farmacéuticas y a las que asisten los profesionales sanitarios.**

#### IMPLICACIONES EN PRIVACIDAD

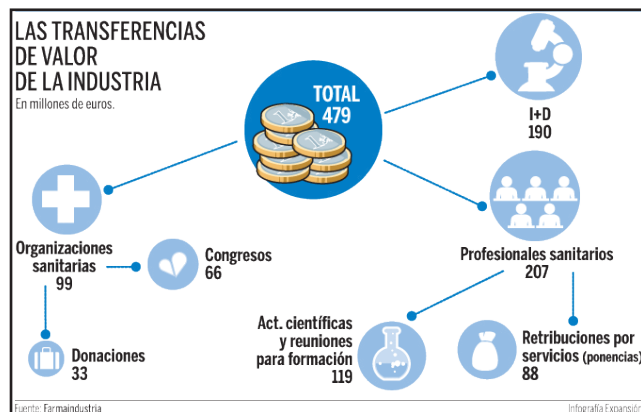
El Código de divulgación de la EFPIA (European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations) obligaba a todas las empresas miembros a dar esta información sobre las transferencias de valor de forma agregada y anónima, salvo que hubieran obtenido el consentimiento previo del profesional sanitario, en cuyo caso sí podrían proceder a la publicación individual de sus transferencias de valor.

En España, la Asociación Nacional Empresarial de la Industria Farmacéutica (Farmaindustria) elevó a la Agencia Española de Protección de Datos (AEPD) una consulta relativa a la **procedencia de publicar en sus sitios web estas transferencias de valor, con los nombres y apellidos de cada beneficiario, pero sin recabar su consentimiento**, contenido que incluía en su propuesta de modificación del Código de Buenas Prácticas, con el fin de aumentar la transparencia.

La Agencia se planteaba aquí la procedencia o no de aplicar el art. 7 de la Directiva 95/46/ CE, que señala que, para tratar datos sin consentimiento del afectado, se requiere que sea **“necesario para la satisfacción del interés legítimo perseguido por el responsable del tratamiento o por el tercero o tercero a los que se comuniquen los datos, siempre que no prevalezca sobre el interés o los derechos y libertades fundamentales del interesado”**. Este artículo, según la célebre sentencia del

el **interés legítimo** perseguido por el **Responsable del fichero** (industria farmacéutica) y **terceros** (público en general, pacientes) a los que se comuniquen los datos, frente al derecho a la intimidad **del interesado** (profesional sanitario), que incluye su derecho a la protección de datos. El informe, sin embargo, no tiene en cuenta en esta ponderación otros derechos como los relativos a la formación, desarrollo profesional o a la investigación.

En cuanto al **interés legítimo**, Farmaindustria argüía que la finalidad perseguida por la modificación del Código de Buenas Prácticas era **“garantizar el adecuado conocimiento por la generalidad, y en particular por los pacientes de un determinado profesional sanitario, que la actuación del mismo no se encuentra mediatizada en modo alguno como consecuencia de la interven-**



**ción de los laboratorios asociados a la consultante”,** para poner de manifiesto **“la integridad e independencia de dichos profesionales al realizar una determinada prescripción, dispensación y administración de los medicamentos”**.

Esta argumentación encuentra su amparo en el Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio (Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios), que señala el deber de publicar las transferencias de valor, si bien es cierto que no especifica en ningún momento la obligatoriedad de que este sistema sea individualizado.

Una vez puesto sobre la mesa el interés legítimo perseguido, hay que valorar si éste prevalece sobre el **derecho a la intimidad** del profesional cuya información aparecería publicada.

En la consulta a la Agencia, Farmaindustria afirmaba que la publicación se llevaría a cabo respetando los principios generales de la Ley Orgánica de Protección de Datos (LOPD): informando al profesional conforme a lo indicado en el artículo 5 de la LOPD, y comunicando la información de forma agregada (se sabría el montante total para cada categoría, y no se desglosaría su procedencia), por lo que el principio de calidad del artículo 4 (proporcionalidad en el tratamiento de los datos, de forma que estos sean los adecuados, pertinentes y no excesivos para la finalidad del mismo) también se vería cumplido.

Para que la balanza entre el interés legítimo de la Compañía farmacéutica y la protección de datos del profesional sanitario se decante en favor de la primera, y por tanto no sea necesario el consentimiento del interesado, la Agencia añade que habrá que incorporar **medidas que impidan un tratamiento posterior de los datos distinto de la finalidad perseguida y legitimadora.**

A este respecto, señala la conveniencia de evitar la indexación de esta información por parte de los buscadores, y que se especifique en la web donde aparece publicada un aviso advirtiendo la prohibición de tratar la información con una finalidad distinta a la indicada en la consulta, algo similar a lo que ocurre con las páginas de Colegios Profesionales que incluyen listados de colegiados, en los que se debe alertar de la prohibición de su uso con finalidades comerciales o publicitarias.

#### AVISO LEGAL

La publicación de estos datos responde a las obligaciones de transparencia derivadas del Código de Buenas Prácticas de la Industria Farmacéutica.

De la publicación de la información no se deriva una habilitación general para que quienes accedan al sitio web puedan llevar a cabo un tratamiento adicional de los datos de los profesionales, tales como su cruce con las informaciones publicadas en sitios web de otros asociados.

El laboratorio ha adoptado niveles de seguridad para evitar la indexación de la información a través de motores de búsqueda.

Tribunal de Justicia de la Unión Europea del 24 de noviembre de 2011, proclama que el artículo 7 f) es de aplicación directa en el ordenamiento nacional.

Por tanto, a la AEPD le tocaba analizar la ponderación entre

Ejemplo de aviso con los requisitos establecidos por la AEPD (sitio web Laboratorios Lilly España lilly.es)

*En definitiva, la Agencia dio el visto bueno a la modificación del Código de Buenas Prácticas de Farmaindustria, y en consecuencia todas las compañías adheridas al Código **publicarán de forma individualizada las transferencias de valor realizadas a los profesionales sanitarios derivadas de su colaboración en materia de formación, reuniones científico-profesionales y prestación de servicios, al ser compatible con el cumplimiento de la normativa de protección de datos. Esta medida verá la luz en 2018, fecha en la que se publicarán las realizadas en 2017.***

## IMPLICACIONES FISCALES

La Publicación de los datos de forma individualizada ha alertado al Ministerio de Hacienda, que ha puesto el foco en estas transacciones que, según lo comunicado por la propia patronal Farmaindustria, ascendieron el pasado año hasta los 496 millones de euros.

De todos los conceptos incluidos en el gráfico, es la parte correspondiente a los gastos para acudir a congresos y reuniones profesionales lo que genera más dudas actualmente en el seno de la Agencia Tributaria. Si bien la legislación fiscal no ha cambiado, se ha puesto en el punto de mira la tributación de esas partidas, que hasta ahora, y como venía siendo habitual, no se declaraban, tributando solo los honorarios percibidos por asesorías, y no por las invitaciones a congresos y patrocinios de reuniones científicas.

A raíz, de la entrada en vigor del Código de Buenas Prácticas, los técnicos de Hacienda nos han recordado que consideran la financiación al profesional para acudir a un congreso médico como retribución en especie y, salvo excepciones, no exenta de tributar en la declaración del IRPF como parte del salario de las rentas del trabajo. Así lo sostienen sendos dictámenes de la **Dirección General de Tributos, de fechas 2002 y 2006**, que no han sido rectificadas hasta la fecha.

Cierto es que las contestaciones a las consultas, incluso las vinculantes, no son normas jurídicas aplicables, si bien, estas posibles dudas interpretativas condicionan a la doctrina administrativa, y pueden permitir que se empiecen a considerar esas invitaciones como rentas en especie, idea en la que no estamos de acuerdo, como a continuación expondremos:

Empezaríamos por definir qué considera la Administración retribución en especie, y para esto iríamos al **artículo 42 de la Ley 35/2006 del Impuesto sobre la Renta de las Personas Físicas**: *“Constituyen rentas en especie la utilización, consumo u obtención para fines particulares, de bienes, derechos o servicios de forma gratuita o por precio inferior al normal de mercado, aun cuando no supongan un gasto real para quien las conceda. Cuando el pagador de las rentas entregue a los trabajadores importes en metálico para que este adquiera los bienes, derechos o servicios, la renta tendrá la consideración de dineraria.”*

Analizando pormenorizadamente el referido artículo 42, podríamos poner en duda que esas rentas (viajes, hoteles, inscripciones, etc.) que se quieren imputar a los médicos asistentes a los congresos se encontrasen sujetas a tributación, y subsidiariamente, en el caso de que así fuera, podríamos concluir que estarían exentas, en base a varios motivos:

1. Finalidad de los Congresos y patrocinios de reuniones científicas.
2. Utilidad de los Congresos y patrocinios de reuniones científicas.
3. Relación profesional de asistentes a Congresos con la organización y/o pagador
4. Coste repercutido de los Congresos y patrocinios de reuniones científicas a los asistentes.

I.- Respondiendo al punto primero, nadie dudaría que la finalidad de cualquier Congreso es claramente profesional, especialmente para el sector sanitario, siendo estos eventos la columna vertebral de difusión de investigaciones médicas que contribuyen a la formación continuada del profesional sanitario.

**No existe ningún beneficio particular** para el médico, por consiguiente, no podría considerarse por parte de la Agencia Tributaria retribución en especie para él, sino como hasta ahora, un gasto de las compañías farmacéuticas u otros para que los profesionales puedan realizar sus funciones.

II.- Obviando el punto anterior, es decir, la finalidad profesional de esas rentas, cabría discutir si se trata de rentas en especie sujetas a tributación o no. Para ello sería necesario preguntarnos qué utilidad tienen para los médicos asistir a un Congreso.

La respuesta es clara y directa: los Congresos refuerzan la formación o labor investigación de los profesionales. Si bien, la Ley del IRPF no contempla este supuesto concreto por su naturaleza especial, ya que la formación en este caso no la proporciona la empresa empleadora -que sería lo habitual- sino un tercero (empresa farmacéutica). **Cuando el empleador es el que proporciona la ayuda para la formación, ésta NO se considera renta en especie (y por tanto está exenta de tributar)**, siempre que la empresa no satisfaga una retribución en metálico al empleado para reembolsar el pago del importe del curso/máster o similar abonado previamente (art. 42.2 Ley IRPF).

III.- En relación con lo anterior, habría que determinar la relación que une al médico con la industria farmacéutica, y el vacío normativo que existe al respecto, al no ser una relación dependiente.

La normativa tributaria solo contempla la **exoneración de gravamen** de las dietas (asignaciones para gastos de locomoción y de manutención y estancia) en los supuestos en los que los desplazamientos vienen impuestos por el empleador ocasionan al empleado unos gastos, y no derivan de la propia voluntad del interesado, que acepta, por ejemplo, una invitación para impartir la conferencia que dará lugar al pago de la correspondiente renta del trabajo y, por ende, de la compensación por el desplazamiento efectuado.

Al no existir regulación en supuestos de no dependencia, la Administración (Dirección General de Tributos) hace interpretación restrictiva de la norma y rechaza la exoneración de esos gastos, obligando a tributar por ello, lo que supone una discriminación inaceptable respecto al tratamiento de un mismo sujeto, cuando se desplaza por mandato de su empresa habitual y cuando lo hace por invitación de otro empleador/ pagador ocasional (que va a tener una relación temporal con el que coincide con la impartición del curso, conferencia, etc.), consecuencia de lo cual consideramos que tendría que existir una vía alternativa para llegar al mismo resultado en ambos supuestos, y así evitar una diferencia no contemplada por el legislador e, incluso, problemas mayores con los principios de capacidad económica y no confiscatoriedad.

IV.- Por último, y en caso de que se consideraran rentas en especie sujetas a tributación, se plantea también el problema de su valoración. La cuestión estaría clara, cuando el dinero se da directamente al médico y él se lo gestiona por ejemplo en dietas, pero no cuando el laboratorio declara posteriormente un valor que el profesional no controla, por ejemplo, para la compra de billetes de avión o las estancias de hotel. La ley señala que su valoración es a mercado, pero en estos casos, los precios o valores podrían variar una barbaridad dependiendo de la fecha, de la cantidad, de la condición del comprador..., resultando entonces muy arbitrario, hasta el punto de suponer un gran perjuicio en declaración del IRPF del médico, y llegar a no interesarle la asistencia a ningún congreso.

Pues bien, a pesar de todo lo apuntado, los técnicos de Hacienda consideran que la financiación al profesional para acudir a un congreso médico debe ser considerada como retribución en

especie y, salvo excepciones, no exenta de tributar en la declaración del IRPF como parte del salario de las rentas del trabajo. Así lo sostienen sendos dictámenes de la **Dirección General de Tributos, de fechas 2002 y 2006**, que no han sido rectificadas hasta la fecha. Esto nos llevaría al hecho de que **los profesionales sanitarios tendrían que abonar una especie de tasa por la formación que necesitan recibir para completar sus conocimientos, investigar y, a la postre, contribuir a mejorar la salud de los pacientes.**

Por el contrario, Farmaindustria asegura que en ningún caso cambiará su relación con Hacienda, señalando que el profesional que acude a un Congreso está completando su formación, intercambiando conocimientos, actualizándose, debatiendo, etc., y no recibiendo una retribución por prestar servicios al laboratorio en cuestión, por lo que el pago del viaje o gastos de alojamiento y manutención nunca debería considerarse como retribución en especie, y por tanto estar sujeto al IRPF. Añade que, como argumenta la AEPD, los datos publicados no pueden ser utilizados para una finalidad diferente de la inicialmente prevista, lo que supuestamente impediría a Hacienda hacer uso de ellos.

En cualquier caso, los dictámenes vinculantes siguen vigentes y de momento no han sido discutidos, por lo que la advenida transparencia, a día de hoy y tal y como ha sido planteada (de forma errónea según nuestro criterio), perjudicaría a la sanidad, los pacientes y los profesionales, abriendo la puerta a un **indebido control tributario de estas ayudas**, salvo que operara la excepción del principio de calidad advertida por la Agencia Española de Protección de Datos, que impide hacer uso de la información de la publicación individualizada de las transferencias de valor con una finalidad distinta a la de su publicación (en este caso, prohibiría usar la información para fines tributarios). Este principio de calidad también se podría oponer para evitar una publicación inexacta e indiscriminada, y cabría argumentarlo para que se publicara la información solo cuando se justificara ese interés legítimo: por ejemplo, cuando un paciente solicitara expresamente esta información sobre su médico. Así, se podría comprobar igualmente si la actuación del profesional sanitario se encuentra mediatizada o no por la intervención de los laboratorios, garantizando la pretendida transparencia y respetando el principio de proporcionalidad en el tratamiento de los datos.

Aun así, hay que esperar a un **nuevo dictamen de la Dirección General de Tributos**, que ha recibido una consulta de un colectivo médico para aclarar definitivamente el tratamiento fiscal de estas actividades, y quien sabe si a un posterior pronunciamiento de la AEPD, para delimitar si es legítimo o no el uso de los datos publicados individualmente con este fin. Desde luego una cosa sí está clara: ya van tarde.

Desde nuestro punto de vista, uno de los puntos clave para aclarar esta cuestión es el hecho de que **la Ley de IRPF no contemple que el patrocinio de un congreso para desarrollar investigación sea un pago en especie sujeto a tributación**. Ante la ausencia de una regulación expresa en la Ley del IRPF, consideramos que esta interpretación extensiva de la Agencia Tributaria no es conforme a nuestro derecho, ya que **no tiene cabida ampliar una sujeción tributaria por una vía que no sea la promulgación de una Ley, con el agravante de que se penaliza el ejercicio de una vocación de investigación para la salud de los pacientes**, que es un derecho fundamental de los mismos reconocido en los artículos 15 y 43 de la Constitución Española.

*Si patrocinar el coste de un congreso para que un profesional sanitario pueda investigar y desarrollar su formación -la cual va a tener una indudable repercusión en la calidad asistencial de los pacientes- es objeto de gravamen fiscal como se pretende, el profesional tendría que desembolsar a la Agencia Tributaria una cuantía económica que no ha percibido, pudiendo llegarse al escenario de que el médico en empleo precario no pueda asistir a un evento científico por no poder abonar las tasas tributarias correspondientes al coste del patrocinio del mismo. Entendemos que la administración y los agentes empresariales deben facilitar el ejercicio vocacional del interés público que es la medicina. En definitiva, priorizar las personas al afán recaudatorio.*

## IMPLICACIONES EN EL RÉGIMEN DE INCOMPATIBILIDADES

Otro de los “problemas” derivados de estas publicaciones de las transferencias de valor es la posibilidad de utilizar estos datos para controlar el régimen de incompatibilidades de los profesionales sanitarios que trabajen “en la pública”. La Ley 53/1984, de 26 de diciembre, de Incompatibilidades del Personal al Servicio de las Administraciones Públicas, señala en su artículo 11 que *“no podrá ejercer, por sí o mediante sustitución, actividades privadas, incluidas las de carácter profesional (...) que se relacionen directamente con las que desarrolle el Departamento, Organismo o Entidad donde estuviera destinado”*, añadiendo el art. 14 que en todo caso requerirán *“el previo reconocimiento de compatibilidad”*. Se exceptúan estas actividades que realicen *“para sí los directamente interesados”* (art. 11.1).

Pero existen algunas actividades excluidas del régimen de incompatibilidades, que detalla el art. 19 de la Ley:

*f) La producción y creación literaria, artística, científica y técnica, así como las publicaciones derivadas de aquéllas, siempre que no se originen como consecuencia de una relación de empleo o de prestación de servicios.*

(...)

*h) La colaboración y la asistencia ocasional a Congresos, seminarios, conferencias o cursos de carácter profesional.*

La industria farmacéutica y el **Código de Buenas Prácticas** (art. 16.1) engloban dentro de la categoría de **prestación de servicios las “ponencias en reuniones como conferenciante o moderador, actividades de formación, reuniones de expertos, etc., que impliquen el abono de una remuneración y/o los gastos de desplazamiento y manutención”**.

La aplicación literal de este precepto equivaldría a que todo profesional sanitario del sistema público que realice una actividad de las señaladas anteriormente constaría públicamente como ejecutor de una “prestación de servicios”, lo que es inexacto o erróneo, ya que **la producción, la creación científica y técnica, y la asistencia y colaboración ocasional a Congresos o seminarios profesionales, están excluidas expresamente del régimen de incompatibilidades al considerarse que “no son una prestación de servicios”, con lo que contradice flagrantemente la Ley**. Esta denominación inexacta que realiza la industria ofrece la apariencia de que el profesional está incurriendo en incompatibilidad, y por tanto incumpliendo la Ley, estando a partir de ese momento sujeto a la potestad sancionadora de la Administración, además de verse expuesto a perder su derecho al complemento de exclusividad en el caso de que lo tuviera reconocido.

*Entendemos, por tanto, que la industria farmacéutica erra una vez más, ya que las ponencias, charlas, seminarios y producción científica, es decir, la publicación oral o escrita de resultados de una investigación, en definitiva, no son prestación de servicios. Este error es grave y genera un perjuicio directo en el profesional, puesto que éste puede realizar perfectamente esta actividad sin solicitar la compatibilidad, por estar excluida de la Ley de Incompatibilidades en virtud de su artículo 19, pero al figurar erróneamente como prestación de servicios puede generar conflictos a los profesionales con las administraciones sanitarias.*

## CONCLUSIONES Y SOLUCIONES PROPUESTAS

En definitiva, si seguimos una aplicación de la normativa vigente según la interpretación que de la misma han hecho los organismos pertinentes, **la asistencia por parte de los profesionales sanitarios a congresos-seminarios (1) y a actividades formativas o reuniones de expertos en calidad de ponentes (2)**, equivaldría a tener que hacer frente al **pago del impuesto con una formulación propia de una tasa penalizadora** en el primer caso, y a **incurrir en causa de incompatibilidad** con posibles consecuencias sancionadoras en el segundo, con lo que se limitaría la investigación, formación, desarrollo, estudio, in-



vestigación e innovación, imprescindible para el avance de la medicina, la cura y la prevención de enfermedades.

De todo lo expuesto, extraemos las siguientes conclusiones y posibles soluciones:

- La **transparencia es un instrumento necesario** en nuestra sociedad, en la cual los profesionales sanitarios han sido pioneros con la declaración obligada de posibles conflictos de intereses. No parece entonces procedente tener que poner de manifiesto la integridad e independencia del profesional sanitario cuando ésta forma parte intrínseca de su vocación, así como de sus obligaciones deontológicas, sometidas al régimen sancionador de los Colegios Oficiales correspondientes. Por tanto, entendemos que la fórmula empleada tiene dos errores fundamentales: por un lado, nace de un origen erróneo, **la desconfianza, que es una asignatura pendiente de la industria farmacéutica, pero no de la profesión médica**, que la primera pretende trasladar de manera desafortunada. Por otro, se ha llevado a cabo sin contar con la autorización ni el consenso de la profesión médica, principal afectado de la medida.
- Tal como hoy por hoy está contemplado que se realicen las publicaciones de transferencias de valor, consideramos que **no se está respetando el principio de calidad o proporcionalidad del tratamiento de los datos (art. 4 LOPD)**, revelándose de forma muy evidente con la inexistencia de un sistema que evite ulteriores tratamientos que excedan de la finalidad en la que se justifica la publicidad de los mismos. Además, el Reglamento Europeo de Protección de Datos, que será de aplicación directa en España a partir de mayo de 2018, refuerza este principio de calidad con el principio de “limitación de la finalidad” y “minimización de datos”, indicando que los datos deben ser “*recogidos con fines determinados, explícitos y legítimos, y no serán tratados ulteriormente de manera incompatible con dichos fines*”, añadiendo que deben ser “*limitados a lo necesario en relación con los fines para los que son tratados*”.
- La solución lógica pasa por que a **los datos del portal de transferencias de valor se pueda acceder previa solicitud expresa y justificada para los fines previstos**, con lo que se respetarían los derechos de unos y otros. Por supuesto, es imprescindible separar lo que pueda corresponder a ponencias o divulgación científica, de lo que es una prestación de servicios. Y, desde luego, pretender admitir los patrocinios de desplazamiento y alojamiento para desarrollo de la investigación como retribución en especie no exenta de tributar como renta del trabajo, supondría marcar un punto de inflexión que indudablemente dificultaría el avance de la medicina.

*En conclusión, urge una **armonización normativa** que acabe con la incertidumbre en la que nos encontramos inmersos, y que **impida que se ponga en peligro la supervivencia de la histórica y necesaria colaboración entre la industria farmacéutica y los profesionales sanitarios**, pilar fundamental en el que se asienta el desarrollo y la investigación imprescindibles para garantizar nuestro derecho a la protección de la salud.*

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <http://www.lilly.es/es/responsabilidad-social-empresarial/publicacion-de-las-transferencias-de-valor/index.aspx>
- [https://www.agpd.es/portalwebAGPD/canal/documentacion/informes\\_juridicos/common/pdf\\_destacados/2016-0172\\_Publicacion-individualizada-de-transferencias-de-valor-Inter-ee-s-leg-ii-timo.pdf](https://www.agpd.es/portalwebAGPD/canal/documentacion/informes_juridicos/common/pdf_destacados/2016-0172_Publicacion-individualizada-de-transferencias-de-valor-Inter-ee-s-leg-ii-timo.pdf)
- [http://www.farmaindustria.es/web/prensa/notas-](http://www.farmaindustria.es/web/prensa/notas-de-prensa/2016/05/26/farmaindustria-refuerza-su-compromiso-con-la-transparencia-aprobando-la-publicacion-individualizada-de-las-transferencias-de-valor-a-profesionales-sanitarios/)

[de-prensa/2016/05/26/farmaindustria-refuerza-su-compromiso-con-la-transparencia-aprobando-la-publicacion-individualizada-de-las-transferencias-de-valor-a-profesionales-sanitarios/](http://www.farmaindustria.es/web/prensa/notas-de-prensa/2016/05/26/farmaindustria-refuerza-su-compromiso-con-la-transparencia-aprobando-la-publicacion-individualizada-de-las-transferencias-de-valor-a-profesionales-sanitarios/)

- <http://www.economistas.es/Contenido/Consejo/ResumenPrensa/2016/Julio/04/4eleco.pdf>
- <http://refor.economistas.es/wp-content/uploads/2016/10/p2hac.pdf>
- <https://www.redaccionmedica.com/secciones/sanidad-hoy/hacienda-proyecta-fiscalizar-la-formacion-medica-1028>
- <https://www.responsabilidadsocio sanitaria.com/secciones/politica-socio sanitaria/buenas-practicas-o-miedo-a-delinquir-vicios-y-virtudes-de-la-transparencia-en-el-sector-farmaceutico-6557>
- <https://transparency.lilly.com/EFPIA-2015-Spain.pdf>
- <http://www.bbvacontuempresa.es/a/empresa-y-formacion-repercusiones-en-irpf>
- [http://basededatos.indicator.es/retribuciones\\_en\\_especie/te\\_pago\\_el\\_curso/ESACLBAR\\_EU13200601/related](http://basededatos.indicator.es/retribuciones_en_especie/te_pago_el_curso/ESACLBAR_EU13200601/related)

## NORMATIVA Y TEXTOS RELACIONADOS:

- Ley 53/1984, de 26 de diciembre, de incompatibilidades del personal al servicio de las Administraciones Públicas
- Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal
- Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 95/46/CE (Reglamento general de protección de datos)
- Ley 35/2006, de 28 de noviembre, del Impuesto sobre la Renta de las Personas Físicas y de modificación parcial de las leyes de los Impuestos sobre Sociedades, sobre la Renta de no Residentes y sobre el Patrimonio
- Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios
- Directiva 95/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de octubre de 1995, relativa a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos
- Constitución Española
- Código de Buenas Prácticas de Farmaindustria
- Código de divulgación de la EFPIA
- Informe 143318/2016 AEPD



## Leucemia linfática crónica B. Diagnóstico, pronóstico y tratamiento

### B chronic lymphocytic leukemia. Diagnosis, prognosis and treatment

Paloma García Martín, José Manuel Puerta Puerta, Manuel Jurado Chacón  
UGC Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves

#### INTRODUCCIÓN

La leucemia linfática crónica (LLC) es la leucemia en adultos más frecuente vista en la consulta de hematología. Se considera una proliferación clonal de linfocitos morfológicamente maduros, de estirpe B y funcionalidad comprometida. Su incidencia es de 4 nuevos casos por 100.000 habitantes/año, aumentando significativamente con la edad. La mediana de edad al diagnóstico está en torno a los 70 años de forma que casi el 70% de los pacientes con LLC son mayores de 65 años; menos del 2% son menores de 45 años; un 9,1%, entre 45 y 54 años; 19,3%, entre 55 y 64 años; 26,5%, entre 65 y 74; 30,0%, entre 75 y 84; y 13,2%,  $\geq 85$  años de edad. La enfermedad es más prevalente en varones (1,5:1) y en raza blanca.

#### ETIOLOGÍA Y CLÍNICA

La etiología de la enfermedad es desconocida aunque hasta en un 5% de los casos se ha observado historia familiar de LLC u otros síndromes linfoproliferativos, siendo la edad de presentación más temprana en estos casos. El curso clínico es extremadamente heterogéneo ya que algunos pacientes viven durante décadas sin necesidad de tratamiento para su enfermedad, mientras que otros tienen un curso clínico rápidamente agresivo. Al diagnóstico, más de un 80% de los pacientes están asintomáticos y la linfocitosis se detecta en un análisis realizado de forma rutinaria por otra causa. La sintomatología que puede acompañar a la patología es inespecífica siendo lo más frecuente un cuadro asténico y síntomas B (fiebre  $\geq 38^\circ\text{C}$ , pérdida de peso  $\geq 10\%$  en 6 meses, sudoración nocturna). Otros signos asociados son anemia o plaquetopenia. En el estudio de las citopenias ha de diferenciarse entre causa infiltrativa por invasión medular o por fenómenos autoinmunes porque tendrán implicaciones pronósticas diferentes. Las complicaciones más frecuentes y que van a condicionar la calidad de vida y motivar los múltiples ingresos hospitalarios de los pacientes con LLC son las infecciones, principalmente las respiratorias y urinarias provocadas por bacterias encapsuladas (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*), virus (VHS, CMV, VEB, VVZ) y agentes oportunistas (*P. jirovecii*). Las segundas neoplasias pueden ir asociadas a esta entidad aumentando el riesgo de forma significativa en piel, tracto digestivo y pulmón.

#### DIAGNÓSTICO

No es estrictamente necesario para el diagnóstico de la LLC-B, aunque sí recomendable, el estudio medular en estos pacientes ya que el diagnóstico puede realizarse en sangre periférica mediante un estudio morfológico e inmunofenotípico compatible con síndrome linfoproliferativo crónico. La clasificación de la Organización Mundial de la Salud considera LLC y linfoma linfocítico de células pequeñas como diferentes manifestaciones clínicas de la misma entidad. Se diagnostica de linfoma linfocítico cuando la enfermedad infiltra ganglios linfáticos (5% de los casos). Las células de la LLC son linfocitos B redondos, pequeños, monomórficos,  $> 5 \times 10^9/\text{L}$  en sangre periférica durante más de 3 meses, clonales y con fenotipo CD5+, CD19+, CD20+ débil, inmunoglobulina de superficie monoclonal débil ( $\kappa$  o  $\lambda$ ) y CD23+. La expresión de CD38 es variable y tiene significación pronóstica. La presencia de  $< 5 \times 10^9/\text{L}$  en ausencia de ganglios, megalias, citopenias o clínica se define como linfocitosis B monoclonal de significado incierto (LBM). El desarrollo de técnicas como cariotipo, FISH o secuenciación masiva han constituido herramientas diagnósticas que han demostrado alteraciones como la del17p/TP53, del13q, del11q o trisomía 12 que son importantes por su valor pronóstico y pueden ayudar en la decisión terapéutica.

#### ESTADIFICACIÓN

Existen 2 sistemas de estadificación ampliamente utilizados en la LLC que se muestran a continuación y que tienen implicaciones pronósticas en cuanto a supervivencia.

\*Ver tabla página 53

#### TRATAMIENTO

Aunque la LLC sigue definiéndose como una hemopatía incurable excepto con un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, opción valorada para casos muy seleccionados, en la última década se han producido grandes avances en la comprensión de la fisiopatología y tratamiento



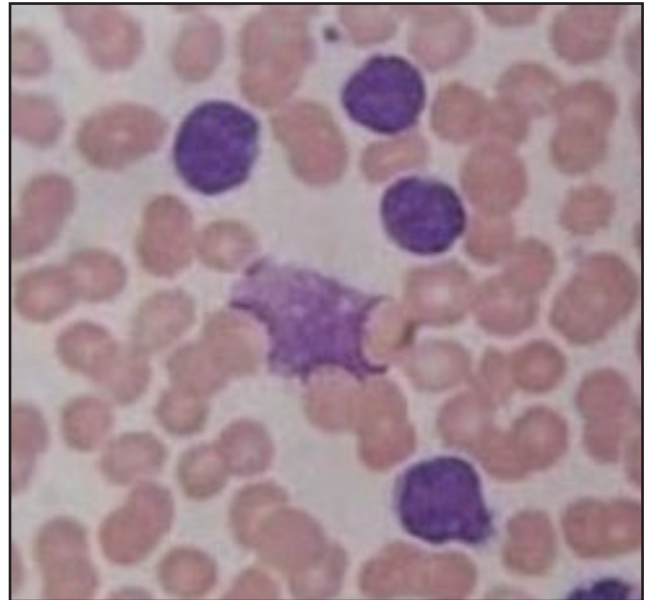
de esta enfermedad. En la actualidad se mantiene vigente la estrategia de “esperar y ver” en pacientes asintomáticos y en estadios iniciales de la enfermedad. Los regímenes de inmunoterapia como FCR, bendamustina, clorambucilo-obinituzumab son alternativas eficaces en pacientes con buen estado general. En los últimos años se han comercializado fármacos que actúan sobre cinasas que participan en la señalización del BCR (receptor del linfocito B) como ibrutinib o idelalisib e inhibidores de BCL-2 (molécula reguladora de la apoptosis) como venetoclax. A día de hoy, son varias guías nacionales e internacionales como las del Grupo Español de LLC, NCCN, ESMO o las del Grupo Alemán, válidas en la ayuda para decidir el mejor tratamiento para nuestros pacientes con LLC en primera línea como en sucesivas por refractariedad, recaída o intolerancia a los tratamientos pautados.

Cuál es la terapia de primera línea óptima y cuándo iniciarla según los factores pronósticos, qué papel tiene la terapia de mantenimiento o el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en esta enfermedad siguen siendo cuestiones a resolver en los próximos años.

### CONCLUSIONES

En la última década se ha avanzado de forma contundente en el conocimiento de la fisiopatología de la LLC y en los resultados en salud con los nuevos tratamientos, aunque siga considerándose una hemopatía incurable sin el papel del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. Los médicos de familia son, en una buena parte de ocasiones, los que detectan este proceso en análisis rutinarios y entonces los deriva al Hematólogo. El desarrollo de ensayos clínicos que permitan estudiar a los agentes terapéuticos

eficaces tanto en monoterapia como en combinación sigue siendo fundamental. Este enfoque nos permitirá determinar la terapia óptima, cuándo debemos iniciar el tratamiento y si el tratamiento debe ser adaptado individualmente a cada paciente por factores de riesgo específicos de la enfermedad. Las respuestas a estas, para nada fáciles preguntas, ayudarán al hematólogo a mejorar los resultados de los pacientes con LLC-B en vida real, con respuestas más duraderas y mejoría en su calidad de vida.



CLASIFICACIÓN DE RAI			
Estadios			Supervivencia (años)
O	Linfocitosis en sangre periférica y médula ósea	Bajo riesgo	17
I	Linfocitosis + adenopatías	Riesgo intermedio	8
II	Linfocitosis + esplenomegalia y/o hepatomegalia		6
III	Linfocitosis + anemia (Hb < 11 g/dL)	Alto riesgo	3
IV	Linfocitosis + trombocitopenia (<100 x 10 <sup>9</sup> /l)		3
CLASIFICACIÓN DE BINET			
Estadios			Supervivencia (años)
A	Linfocitosis con afectación ≤ 2 áreas linfoides		15
B	Linfocitosis con afectación ≥ 3 áreas linfoides		7
C	Anemia (Hb < 10 g/dL) o trombocitopenia (<100 x 10 <sup>9</sup> /l)		3

*Clasificación de estadios en la leucemia linfática crónica*

## INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES DE ACTUALIDAD MÉDICA

### NORMAS GENERALES

ACTUALIDAD MÉDICA es una revista centenaria ([www.actualidadmedica.es](http://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](http://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](http://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.

#### AGRADECIMIENTOS

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

#### POLÍTICA EDITORIAL Y PUBLICIDAD

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

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

El Comité Editorial.

1 de abril de 2015.



---

# ACTUALIDAD M É D I C A

[www.actualidadmedica.es](http://www.actualidadmedica.es)

---



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

**Con la colaboración:**

