

BOLETIN

ESCUELA DE MEDICINA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE



Volumen 31 N°2 Año 2006

ISSN 0716-0860

Director de la Escuela

Dr. Ignacio Sánchez D.

Editor

Dr. Alejandro Fajuri N.

Comité Editorial

Dr. Francisco Aboitiz D.

Dr. Domingo Arriagada M.

Dr. Mauricio Camus A.

Dr. Jorge Carvajal C.

Dr. Gastón Chamorro S.

Dr. Arnaldo Foradori C.

Dr. Ernesto Guiraldes C.

Dr. José Manuel López A.

Dr. Rodrigo Moreno B.

Dr. Carlos Pérez C.

Dra. Sofía Salas I.

Dr. Carlos Reyes A.

Dr. Ricardo Zalaquett S.

CONTENIDOS

I	EDITORIAL: 35 años del Boletín de la Escuela de Medicina	86
II	MEDICINA AL DÍA: Cáncer Papilar de Tiroides: Visión actual (Dr. Hernán González y cols.)	87
	Retinopatía Diabética (Dr. Rodrigo Álvarez)	92
III	CASO CLÍNICO: Dolor Abdominal Recurrente en la Pancreatitis Crónica, un Dilema Diagnóstico y Terapéutico (Dr. Luis Rojas y cols.)	98
IV	MOMENTOS DE DOCENCIA Y APRENDIZAJE: La Muerte de Nuestro Primer Paciente (Dra. Sofía Salas)	101
V	JORNADAS DE INVESTIGACIÓN: (III parte)	103
VI	INSTRUCCIÓN A LOS AUTORES	167
VII	MSD Informa:	169

35 años del Boletín de la Escuela de Medicina

Dr. Ignacio Sánchez D.

Director
Escuela de Medicina
Pontificia Universidad Católica de Chile

El Boletín de la Escuela de Medicina nace en el año 1971, siendo el Decano el Dr. Ramón Ortúzar, el Director de la Escuela, el Dr. Víctor Maturana, y su primer Director-Editor el Dr. Santiago Soto. Este año celebramos los 35 años del Boletín, publicación que ha tenido una historia difícil, fiel reflejo de la historia de nuestra Escuela de Medicina. En sus inicios, la orientación estuvo marcada por su proyección y orientación a nuestros egresados que se desempeñaban en provincia, como un real aporte a la Educación Médica Continua de ellos. Durante todo el período que ha transcurrido, el trabajo ha estado a cargo de un Editor y un Comité Editorial bajo el alero de la Dirección de la Escuela de Medicina. En sus diferentes etapas se realizaron actualizaciones en temas de gran importancia, dando paso posteriormente a monografías de las más diversas áreas del quehacer médico. Es necesario reconocer el trabajo de Editores de diferentes Departamentos de la Escuela de Medicina, los que han entregado su trabajo desinteresado, con el único objetivo de servir a la Escuela de Medicina, y de cumplir el mandato de docencia, investigación y extensión al que

nos llama nuestra Misión. Dentro de estos profesores destacan, entre otros, los Drs. G. Chamorro, A. Valdivieso, J. Torres, N. Velasco y R. Moreno.

Luego de una interrupción de un período de cinco años, el año pasado reapareció el Boletín, con una frecuencia de 2 números al año, con el propósito de entregar una publicación de actualización en Medicina, que presente los problemas de mayor trascendencia en la mayoría de las especialidades, ya sea por su prevalencia o gravedad a nivel de un médico no especialista en el tema.

En su actual formato, la orientación ha sido mostrar lo que ocurre al interior de nuestra Escuela de Medicina: la generación de nuevo conocimiento a través de proyectos de investigación, la revisión y actualización de temas de importancia, con el enfoque propio de nuestros académicos, que habitualmente refleja un largo y arduo trabajo en el tema. Junto a lo anterior, especial mención merecen los casos clínicos, aspecto significativo en el aprendizaje que realizamos a partir de nuestros pacientes reales. Actualmente nuestros lectores son los médicos recién egresados, los que trabajan en provincia,

internos y becados de nuestra Escuela y de otros lugares de Chile. A través de la inclusión de los números del Boletín en la página Web de la Escuela de Medicina, <http://escuela.med.puc.cl>, el público que puede acceder al Boletín se ha multiplicado, permitiendo que este gran esfuerzo pueda llegar a un número mayor de médicos de Chile y Latinoamérica. Para finalizar, quisiera agradecer el trabajo del Dr. Alejandro Fajuri, Editor actual, y todo el apoyo profesional de la Dirección de Extensión de la Escuela de Medicina, quienes aportan un apoyo crucial a la edición del Boletín. Mi reconocimiento especial al Laboratorio Merck Sharp Dhome por su apoyo y confianza en la reedición de este Boletín desde el año 2005.

Invito a todos los miembros de la comunidad académica de la Facultad de Medicina a enviar su aporte al Boletín, con el objeto que perdure en su rol de apoyo a la Educación Médica Continua de las nuevas generaciones de médicos.

Cáncer Papilar de Tiroides: Visión Actual

Drs. Hernán González D.(*) , Lorena Mosso (**)

* Profesor Auxiliar, Sección de Cirugía Oncológica y Cabeza y Cuello. Correspondencia: hgonzale@med.puc.cl

** Profesor Adjunto, Departamento de Endocrinología.

Introducción

El cáncer de tiroides es la neoplasia endocrina más frecuente siendo el carcinoma papilar de tiroides (CPT) el subtipo que representa el 75 – 80% de los casos [1]. Clásicamente se lo ha considerado a este cáncer como de buen pronóstico teniendo en cuenta los datos que describen cánceres ocultos en autopsias en hasta un 20% de pacientes fallecidos por otras causas. En los últimos años, el enfrentamiento clínico a esta neoplasia se ha hecho problemático dado el aumento exponencial en su diagnóstico. Los nódulos tiroideos pueden encontrarse hasta en un 60% de la población dependiendo de la técnica utilizada. Dado que entre un 0.6 hasta un 12 % pueden ser malignos, algunos estudios ya están alertando acerca de una “epidemia” de cáncer tiroideo (1-2). Recientemente, en la experiencia del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica reportamos un dramático aumento del número de tiroidectomías por cáncer de tiroides, llegando a quintuplicarse el número de casos en los últimos 10 años (Fig. 1) [3]. Frente al aumento de la prevalencia de la enfermedad, y al reporte de casos de comportamiento particularmente agresivo

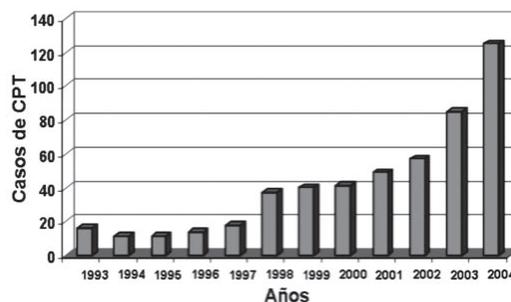


Figura 1: Casos de cáncer papilar de tiroides operados en el Hospital Clínico U.C. entre los años 1993-2004.

(4), nos parece pertinente y útil esta breve revisión que muestra la importancia del enfrentamiento multidisciplinario del CPT, destacando aspectos generales del diagnóstico, etapificación y tratamiento con énfasis en las áreas que aún están en investigación.

Etiología

El proceso de oncogénesis debe ser concebido como una serie de eventos genéticos y ambientales que alteran el control de la proliferación y diferenciación celular. En este contexto podemos distinguir en el cáncer de tiroides mecanismos genéticos y otros factores:

Mecanismos genéticos

El proto-oncogen c-myc es expresado en adenomas y carcinomas tiroideos; mutaciones y sobre-expresión del h-ras se han descrito en CPT pero también en bocios multinodulares. La expresión tiroidea del oncogen ret/PTC1 puede inducir CPT. Mutaciones del BRAF también son frecuentes en CPT. Muchos otros genes como el gen supresor de tumores TSG101, galectina 3, timosin beta 10, hTERT, CD97, VEGF, se han descrito en CPT, sin embargo no está claro si son causa o consecuencia. Las mutaciones del receptor de TSH no se han relacionado con el proceso tumoral y más bien la pérdida de expresión del receptor se asocia a mal pronóstico. La delección

de genes supresores tumorales como p53 y RB se ha descrito en CPT. Algunos de estos oncogenes y sus mutaciones se han utilizado como marcadores tumorales de diseminación y gravedad, como ejemplo el PX8-PPARgamma se asocia a multifocalidad e invasión vascular, las mutaciones del RAS se asocian a tamaño tumoral, invasión extratiroidea, diseminación y recurrencia tumoral, la osteopontina también se ha asociado con un comportamiento más agresivo. Si bien el CPT no se considera un cáncer familiar existe un riesgo 3 veces mayor de contraer la enfermedad en hijos de pacientes con CPT y 6 veces si está afectado un hermano, sin embargo la aparición dentro de síndromes de neoplasias familiares (síndrome de Cowden, Garner, etc) es rara.

Otros factores

Radiación

La historia de radiación del orden de 500 a 2000 rads en el área del tiroides, como se usó antiguamente para tratar la hiperplasia del timo o adenoides, se encontró hasta en un 80% de niños con CPT. El periodo de latencia entre la exposición y el tumor podía ser de hasta 20 años. Dosis menores de radiación externa o por I131, no se asocian a una mayor incidencia de cáncer. Luego del accidente de Chernobyl se observó un aumento de la incidencia de cáncer de tiroides de 1/106 a 100/106 en niños expuestos

Yodo

En áreas de bocio endémico por falta de yodo se ha encontrado un aumento de cánceres de tipo folicular probablemente asociado a estimulación crónica por TSH que se ha descrito en estos tumores, sin embargo, con el aumento del aporte de yodo y en áreas de exceso de consumo se ha observado un aumento del CPT cuya fisiopatología esta por aclararse.

Asociación con otras patologías

tiroideas:

Se ha descrito la co-existencia del CPT con enfermedad de Hashimoto, tiroiditis linfocitaria y enfermedad de Graves, sin embargo no está claro si esto es un epifenómeno o en el caso de la tiroiditis puede ser la reacción al tumor.

Edad, factores raciales y género

La incidencia del CPT aumenta con la edad pero en la infancia se comporta con una particular agresividad y tendencia a metástasis sin condicionar esto una mayor mortalidad de este grupo. Los datos epidemiológicos son escasos, en USA se observa una mayor incidencia mujeres de raza blanca vs raza negra (11,2 vs 5.8). Por otra parte, se ha reportado una mayor incidencia en filipinas y vietnamitas sin poder establecerse si esta asociado a alimentación. En las mujeres la incidencia global es mayor que en hombres, sin embargo, en la etapa pre-puberal y post-menopausia la incidencia es igual para ambos grupos, no habiéndose identificado algún factor asociado a estrógenos.

Presentación clínica

El CPT se presenta con mayor frecuencia como un nódulo tiroideo palpable, que puede ser único o en el contexto de un bocio multinodular. El aumento del uso y calidad de la ecografía para la evaluación de patología tiroidea, asociado al alto rendimiento de la punción con aguja fina (PAF), a incrementado la detección de microcarcinomas papilares (tumores < a 1 cm.) no palpables en forma muy significativa [3]. En relación a tumores pequeños, no es infrecuente (5-10%) que microcarcinomas ocultos se diagnostiquen en la anatomía patológica después de una tiroidectomía total por enfermedad benigna. Otra forma es la presentación del CPT es el hallazgo de una adenopatía

cervical palpable (10 - 15% de los casos). La presentación clínica por metástasis a distancia es rara, ocurriendo en no más del 1-2 % de los casos y compromete con mayor frecuencia el pulmón. En niños el nódulo cervical sigue siendo la forma más típica de presentación, no obstante la presencia de adenopatías es mucho mas frecuente (50-80%), pudiendo ocurrir en forma agresiva con enfermedad localmente avanzada y metástasis a distancia [5].

Diagnóstico

La presencia de un nódulo tiroideo con algún criterio radiológico de malignidad como la presencia de microcalcificaciones, un margen nodular irregular, flujo vascular intralesional o hipoeocogenicidad, hace recomendable solicitar una punción con aguja fina (PAF). La PAF es una excelente herramienta de diagnóstico del CPT. El rendimiento es altísimo para el diagnóstico del CPT con un 1% de falsos positivos y 2% de falsos negativos [6]. Este procedimiento diagnóstico tiene muy baja morbilidad y puede repetirse para el seguimiento de un nódulo con punción previa negativa, pero que entre los controles ha cambiado, adquiriendo características sospechosas. Otros criterios para solicitar una PAF son el crecimiento significativo de un nódulo (<20% en un año), más aún si el crecimiento ha ocurrido bajo terapia de supresión con levotiroxina [7]. Por criterios técnicos y falta de evidencia de largo plazo, es cuestionable puncionar nódulos menores a 5 mm siendo recomendable en estos casos observar su evolución ecográfica.

Etapificación

Una vez que se ha confirmado el diagnóstico de CPT, como en cualquier cáncer, se debe realizar la etapificación. Aunque existen múltiples clasificaciones para el CPT, nosotros utilizamos el sistema TNM de la American Joint Committee on Cancer. El TNM, al igual que otras



clasificaciones, considera factores propios de la diseminación del tumor y además el factor pronóstico más importante del CPT, que es la edad del paciente al momento del diagnóstico (tabla 1). En la mayoría de los casos, el examen físico y la ecografía son suficientes para determinar la extensión del tumor primario (T). Es recomendable que el examen físico incluya una laringoscopia indirecta para documentar la movilidad de las cuerdas vocales en el pre-operatorio. En algunos casos, la nasofibroscofia y resonancia nuclear magnética son necesarias cuando la clínica sugiere infiltración hacia la tráquea y/o esófago o hay una parálisis de cuerda vocal. No se recomienda la tomografía axial computada (TAC), ya que para que sea útil necesita medio de contraste con yodo el cual interferirá con un eventual tratamiento de yodo radioactivo. Tradicionalmente, la evaluación de los linfonodos cervicales (N) se ha realizado solo con el examen físico, sin embargo, datos recientes nuestros y de otros autores muestran que hasta un 20% de los pacientes tienen adenopatías no palpables que son detectadas con una ecografía cervical dirigida [8, 9]. Por esto, para la detección de adenopatías subclínicas recomendamos que la evaluación de los linfonodos incluya una ecografía cervical completa que sea realizada por un radiólogo familiarizado con las vías de diseminación linfáticas del CPT. La evaluación de las metástasis a distancia (M) por CPT en general depende del compromiso loco-regional. Así, en un paciente con un tumor localizado y sin metástasis linfáticas la radiografía de tórax es suficiente dado la baja probabilidad de enfermedad a distancia. En cambio en un paciente con enfermedad local y regionalmente avanzado considerará una TAC de tórax sin contraste. Debe recordarse que el yodo radioactivo no solo tiene un propósito terapéutico sino también porque permite el rastreo

sistémico lo que hace posible visualizar la diseminación tumoral hacia otros sitios, contribuyendo así a la evaluación de la enfermedad a distancia.

Tratamiento

Cirugía

Para decidir la cirugía que se va a realizar se debe evaluar la extensión del tumor

primario (manejo local) y la presencia de metástasis en los linfonodos cervicales (manejo regional). La necesidad de una tiroidectomía total en todos los pacientes ha sido ampliamente debatida. En nuestro hospital, al igual que en la mayoría de los centros importantes del mundo, preferimos la tiroidectomía total. Las ventajas de esta aproximación

Definición

T1	Diámetro de tumor 2 cm o menos
T2	Diámetro tumor primario > 2cm hasta 4cm
T3	Diámetro tumor primario > 4cm limitado a la tiroides con extensión extratiroidea mínima
T4a	Tumor de cualquier tamaño que traspasa la cápsula, invade tejido blando subcutáneo, laringe, tráquea, esófago, o nervio laríngeo recurrente
T4b	Tumor invade fascia prevertebral o rodea arteria carótida o vasos mediastínicos
TX	Tamaño tumor primario desconocido
N0	Sin evidencia de metástasis linfáticas
N1a	Metástasis al nivel VI (pre- o para-traqueal, prelaríngeo, o linfonodos delcianos)
N1b	Metástasis unilateral, bilateral, cervical contralateral o linfonodos mediastínicos superiores.
NX	Linfonodos no evaluados en la cirugía
M0	Sin evidencia de metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia
MX	Metástasis a distancia no evaluados

	Paciente < 45 años	Paciente < 45 años o más
Estadio I	Cualquier T o N, M0	T1, N0, M0
Estadio II	Cualquier T o N, M1	T2, N0, M0
Estadio III		T3, N0, M0 T1, N1a, M0 T2, N1a, M0 T3, N1a, M0
Estadio IVa		T4a, N0, M0 T4a, N1a, M0 T1, N1b, M0 T2, N1b, M0 T3, N1b, M0 T4a, N1b, M0
Estadio IVb		T4b, cualquier N, M0
Estadio IVc		Cualquier T o N, M1

Tabla 1: Clasificación TNM del Cáncer Diferenciado de Tiroides

incluyen; 1) disminución de la recurrencia local, 2) posibilita el tratamiento con yodo radioactivo para el manejo de la enfermedad microscópica y 3) permite realizar un seguimiento con tiroglobulina. La desventaja es que la lobectomía mas itsmectomía, tendría menor morbilidad. Sin embargo, en centros con alto volumen de cirugía tiroidea como el nuestro (> 300 tiroidectomías por año) la morbilidad es muy baja, permitiendo realizar la tiroidectomía total en forma muy segura. Dado que la gran mayoría de los CPT son de menos de 4 cm y no invaden las estructuras circunvecinas, la tiroidectomía total es suficiente en aproximadamente el 80 - 85 % de los casos. El manejo de tumores localmente avanzados, puede requerir la resección de músculos pretiroideos o resecciones parciales de traquea o esófago, incluyendo el nervio laríngeo recurrente. Las complicaciones específicas de la tiroidectomía total son la lesión del nervio laríngeo recurrente (disfonía) y la hipocalcemia. La gran mayoría de estas complicaciones son leves y se recuperan dentro de los primeros 3 meses de la operación, sin embargo, en 1 % de los casos puede haber una complicación potencialmente grave con hipoparatiroidismo definitivo de difícil manejo o lesión irreversible del nervio laríngeo recurrente. Otras complicaciones poco frecuentes son el hematoma cervical precoz (12 hrs) que ocurre en el 1-2% de los casos y la infección de la herida operatoria que ocurre en menos del 1%. A nivel regional, el CPT puede dar metástasis linfáticas con una frecuencia que varía entre un 50-80% de los casos. Sin embargo, la disección cervical solo se realiza en presencia de metástasis clínicamente evidentes, ya sea por examen físico o una ecografía cervical dirigida [8]. Con este criterio, el porcentaje de pacientes que requieren una disección cervical al diagnóstico de un CPT es cercano al

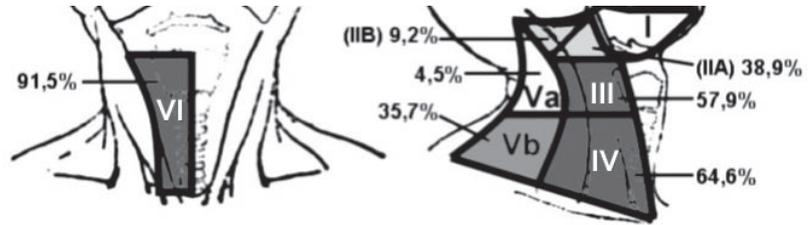


Figura 2: Se muestran las áreas con mayor frecuencia de metástasis cervicales por cáncer papilar de tiroides en pacientes que presentan una o más adenopatías clínicamente evidentes.

20-25%. En el resto de los pacientes la metástasis linfática microscópica es tratada con el radio-yodo. La recidiva linfática del CPT luego de una tiroidectomía total y radio-yodo es aproximadamente un 10 - 15%. En aquellos pacientes que presentan metástasis linfáticas clínicamente evidentes, ya sea al primer diagnóstico o por recidiva, debe realizarse una disección cervical formal que incluye la resección, tanto de la enfermedad macroscópica, como el tejido linfático en riesgo (>a 20%) de presentar metástasis (fig. 2). Esto significa que la disección debe incluir los niveles II, III y IV (cadena yugular profunda), el nivel Vb (región supraclavicular) y nivel VI (región paratraqueal) [10]. A pesar de que el control regional de los linfonodos metastáticos no influye mayormente en la sobrevida de pacientes con CPT, realizar disecciones más limitadas tiene un riesgo importante de recurrencia cervical. La re-exploración cervical por recurrencia ganglionar es más mórbida en particular en la región paratraqueal (nivel VI), en donde hay mayor riesgo de lesión del nervio laríngeo recurrente y de daño isquémico de las glándulas paratiroides [11]. Además, la cirugía por recurrencia implica un alto costo económico, psicológico y físico de parte de los pacientes

Yodo Radioactivo

El uso del radioyodo post quirúrgico en el manejo del CPT cumple diversas funciones:

Ablación: permite la erradicación de los remanentes de tejido tiroideo normal asegurando la posibilidad de contar con la tiroglobulina (proteína específica) como marcador plasmático para el seguimiento tumoral.

Tratamiento: Irradiación localizada de enfermedad tumoral persistente conocida o desconocida al momento del tratamiento. La avidéz por el yodo de las células tiroideas y de la mayor parte de las células tumorales permite que el yodo radioactivo sea captado por éstas. Dada la gran prevalencia de enfermedad linfática microscópica, el uso del yodo radioactivo y el rastreo sistémico, permite descubrir enfermedad oculta y tratarla a la vez. La dosis de yodo-131 se administra aproximadamente a las 4 semanas de la tiroidectomía con niveles de TSH > 30 u/dl para maximizar la captación de yodo. A los siete días de la dosis se realiza el rastreo sistémico total del cuerpo para localizar el remanente y visualizar posibles metástasis.

Seguimiento: Es posible usar el yodo radioactivo en dosis bajas para la realización de estudios de seguimiento en paciente de riesgo moderado o alto.

Supresión con Levotiroxina

Dado que la TSH potencialmente puede estimular el crecimiento de células tiroideas malignas que no fueron eliminadas por el yodo-131, la suplementación con levotiroxina no solo reemplaza la función



tiroidea, sino también debe suprimir la secreción de TSH a nivel hipofisiario. Para esto se da una dosis que logra reducir la TSH a valores <0,1, sin que la T4 sobrepase el límite alto, lo que deja al paciente en un estado de hipertiroidismo subclínico.

Seguimiento

La acuciosidad, métodos a emplear y tiempo de seguimiento deberá establecerse de acuerdo al estadio clínico al diagnóstico (TNM) y el consiguiente riesgo de recurrencia de la enfermedad. Para el seguimiento se utiliza la medición de la tiroglobulina plasmática, que es una proteína producida exclusivamente por células tiroideas benignas y malignas. En pacientes tratados con una tiroidectomía total y radioyodo debe ser indetectable. Por esto, un aumento de la tiroglobulina permitirá la detección precoz de enfermedad, incluso subclínica. La sensibilidad de este marcador aumenta cuando se efectúa su medición estimulada por TSH endógena o exógena (TSH recombinante). El rastreo sistémico con dosis bajas (5 mCi) de radioyodo se utiliza para seguimiento ya que puede localizar el sitio de la recurrencia. Se debe tener presente que la captación de yodo por el tejido tumoral depende de la masa tumoral, de la dosis administrada y de la avidéz por el yodo, ya que tumores pobremente diferenciados pueden perder la capacidad de captar el yodo.

Dado que con mayor frecuencia las recurrencias del CPT ocurren en el cuello, la ecografía cervical constituye un complemento valioso para el seguimiento, permitiendo una localización mucho más exacta de linfonodos metastáticos que se pueden puncionar para certificar el diagnóstico.

Pronóstico

En términos generales el CPT globalmente

tiene un excelente pronóstico global que es cercano al 90 % a los 20 años de seguimiento. Si se dividen los pacientes por grupos de riesgo considerando la edad, presencia de extensión extratiroidea y metástasis a distancia se identifican dos grupos. Uno de bajo riesgo que son los pacientes menores de 45 años, sin extensión extra-tiroidea y sin metástasis a distancia, cuyo pronóstico de sobrevida es cercano al 99%. El segundo grupo está constituido por pacientes mayores de 45 años con extensión extratiroidea y metástasis a distancia que tienen un pronóstico 30-40% a 20 años. En general se ha aceptado que las metástasis linfáticas no influyen en la sobrevida específica del CPT, lo cual es cierto en la mayoría de los casos. Sin embargo, se ha demostrado que pacientes mayores de 50 años, la presencia de metástasis linfáticas mayores de 3 cm con extensión extracapsular serían un factor independiente determinante de peor sobrevida específica [12].

Bibliografía

1. Sherman, S.I., Thyroid carcinoma. *Lancet*, 2003. 361(9356): p. 501-11.
2. Jemal, A., et al., Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin*, 2004. 54(1): p.8-29.
3. Fardella, C., Jimenez M, González H, León A, Goñi I, et al. Características de presentación del microcarcinoma papilar del tiroides: Experiencia retrospectiva de los últimos 12 años. *Rev. Méd. Chile*, 2005. 133: p. 1305-1310.
4. Mosso L, Jimenez M, González H, Solar A, Torres J, Fardella C. Microcarcinoma tiroideo de evolución agresiva. *Rev. Méd. Chile*. 133: 232-326, 2005.
5. González H., Godoy C., Martínez A., Mosso L. Tiroidectomía de emergencia en cáncer papilar de tiroides obstructivo en niña de 9 años. Libro resúmenes Reunión Anual Sociedad Chilena de Endocrinología, 2005.
6. Gharib H., J.R. Goellner, and D.A. Johnson. Fine-needle aspiration cytology of the thyroid. A 12-year experience with 11,000 biopsies. *Clin Lab Méd*, 1993. 13(3): p. 699-709.
7. Campusano C. M., et al., [Consensus report on the diagnosis and management of non palpable thyroid nodules]. *Rev Méd Chile*, 2004. 132(10): p. 1249-55.
8. Gonzalez H., Mosso L, Cruz F, O'Brien A, Goñi I. et al. Papillary thyroid carcinoma: impact of pre-operative staging of the neck. Annual Meeting of the Endocrine Society, 2006.
9. Ito, Y. et al., Preoperative ultrasonographic examination for lymph node metastasis: usefulness when designing lymph node dissection for papillary microcarcinoma of the thyroid. *World J Surg*, 2004. 28(5): p. 498-501.
10. González H., Goñi I, León A, Camus M, Claire R et al. Papillary thyroid carcinoma: pattern of neck metastasis according to the AHNS neck dissection classification update. Annual meeting of the American Head and Neck Society., 2004.
11. González H., Goñi I, León A, Camus M, Claire R, et al. Paratracheal recurrence of papillary thyroid carcinoma: increased morbidity is associated to extracapsular spread. Annual meeting of the American Head and Neck Society., 2004.
12. Sugitani I., et al., A novel classification system for patients with PTC: addition of the new variables of large (3 cm or greater) nodal metastases and reclassification during the follow-up period. *Surgery*, 2004. 135(2): p.139-48.

Retinopatía Diabética

Dr. Rodrigo Alvarez N. (*)

* Profesor Adjunto. UDA. Oftalmología. Correspondencia: ralvarez@med.puc.cl

Introducción

La Retinopatía Diabética (RD) es la principal manifestación del compromiso ocular en los pacientes diabéticos. Desde el punto de vista oftalmológico, es un problema de salud pública de gran magnitud, dado que es una de las principales causas de ceguera en adultos en el mundo occidental. Durante muchos años los pacientes diabéticos estuvieron condenados irremediablemente a la ceguera. En 1967 Duke Elder describió a la Retinopatía Diabética como una enfermedad “no prevenible” y “relativamente intratable”. Recién en la década de los setenta se inician los que serían los precursores de los tratamientos actuales: la foto-coagulación con láser de Argón y la vitrectomía por pars plana. Entre los años setenta y los noventa, se llevan a cabo los cuatro estudios más importantes en lo referente a la evolución y tratamiento de la Retinopatía Diabética: el Diabetic Retinopathy Study (DRS), el Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), el Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study (DRVS) y el Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). Estos estudios son los que han

sentado las bases para el manejo moderno de la Retinopatía Diabética, el cual ha permitido mejorar en forma sustancial el pronóstico de esta enfermedad.

Epidemiología

La Retinopatía Diabética es la primera causa de ceguera en Estados Unidos en adultos entre los 20 y los 64 años, diagnosticándose 5.800 casos nuevos de ceguera legal cada año. El 3.6% de los diabéticos tipo I y el 1.6% de los diabéticos tipo II son legalmente ciegos. En los primeros, en más del 80% de los casos, la pérdida de visión es causada por la Retinopatía Diabética. El 25% de la población diabética padece algún grado de retinopatía y el 5% la padece en un grado avanzado^{1,2}. En Chile existen aproximadamente 1.058.000 pacientes diabéticos, según la información del Dr. Pablo Olmos del Departamento de Nutrición y Diabetes de nuestra universidad.³ Si a esta población extrapolamos los porcentajes previamente mencionados, nos encontramos con que en Chile existen 264.500 pacientes con Retinopatía Diabética y 52.900 pacientes

con Retinopatía Diabética avanzada.

Fisiopatología

Las alteraciones de la Retinopatía Diabética se producen por el desarrollo de una Microangiopatía Diabética. La causa exacta de la Microangiopatía Diabética es desconocida, sin embargo, lo que se acepta como el mecanismo más probable es lo siguiente:

La hiperglicemia produce alteraciones del metabolismo intracelular que llevan, como resultado, a un aumento del Sorbitol. Esto produce el engrosamiento de la membrana basal endotelial y la pérdida de los Pericitos, los cuales son células que envuelven a los capilares retinales, proporcionándoles soporte y actuando como parte de la Barrera Hematoretinal. La pérdida de pericitos produciría, a su vez, dos secuencias de eventos paralelas:

- a) Alteración de la barrera hematoretinal, filtración al espacio extravascular, edema retinal, exudados lipídicos o céreos formados por lipoproteínas.
- b) Formación de microaneurismas por debilidad estructural de la pared de

los capilares retinales, activación de la coagulación en los micro-aneurismas, trombosis intracapilar, obstrucción y cierre capilar. Lo anterior será responsable de la producción de isquemia retinal, con el consecuente desarrollo de manchas algodonosas, (que corresponden a infartos de la capa de fibras nerviosas) neovascularización, hemorragias y, en último término, complicaciones tales como desprendimiento de retina traccional, glaucoma y, en definitiva, ceguera. El crecimiento de neovasos, tanto a nivel retinal como en el iris, se produciría debido a la liberación por parte de la retina isquémica de un factor soluble estimulador del crecimiento vascular (Factor de Crecimiento Vascular Endotelial, VEGF) y a su efecto sinérgico junto a un factor de crecimiento vascular presente en la retina (Factor de Crecimiento de Fibroblastos Básico, bFGF).

Clasificación

De acuerdo al ETDRS⁴ la Retinopatía Diabética se puede clasificar en una etapa temprana o Retinopatía Diabética No Proliferativa (RDNP) y una más avanzada o Retinopatía Diabética Proliferativa (RDP). La RDNP se subdivide a su vez en leve, moderada, severa y muy severa. La RDP se subdivide en temprana, de alto riesgo y avanzada. El Edema Macular es un evento que puede suceder en cualquier momento de la progresión de la Retinopatía Diabética.

Retinopatía Diabética No Proliferativa (RDNP)

Los cambios que se producen en la RDNP están limitados a la retina. Los elementos característicos que se pueden apreciar en el examen oftalmoscópico comprenden microaneurismas, hemorragias intraretinales en forma de manchas, edema retinal, exudados céreos o

lipídicos, dilataciones venosas que pueden adoptar la forma de rosarios venosos, anomalidades intraretinales microvasculares, manchas algodonosas, anomalidades arteriolares y áreas de cierre capilar. De estas alteraciones, las hemorragias intraretinales, los exudados céreos, las manchas algodonosas y las dilataciones venosas, pueden ser vistas por el médico internista o médicos no oftalmólogos, usando un oftalmoscopio directo y con dilatación pupilar.

No detallaremos las características oftalmoscópicas específicas de cada una de las subdivisiones de la RDNP. Sin embargo, baste decir que a mayor número de hemorragias intraretinales, aparición de dilataciones venosas o de anomalidades intraretinales microvasculares, la RDNP aumenta en su severidad y empeora en su pronóstico. Según el ETDRS, los pacientes con RDNP severa tienen un 15% de posibilidades de progresar a RDP de alto riesgo en un año y los que padecen RDNP muy severa tienen un 45% de posibilidades de progresar a RDP de alto riesgo en un año.⁵

Retinopatía Diabética Proliferativa (RDP)

La isquemia progresiva que se produce en la Retinopatía Diabética, debido al cierre capilar, tiene como consecuencia la formación de vasos retinales de neoformación o Neovasos, los cuales, junto a un tejido fibroso que los acompaña, proliferan más allá de la retina. Es lo que se denomina proliferación extraretinal. La aparición de estos neovasos es lo que define a la Retinopatía Diabética Proliferativa. Los neovasos se observan con mayor frecuencia en el nervio óptico o cercanos a las arcadas vasculares, pero se pueden encontrar en cualquier parte del fondo de ojo. Con cierto entrenamiento, es posible ver los neovasos usando un oftalmoscopio directo y dilatación pupilar (fig. 1).

La progresión de la Neovascularización aumenta el riesgo de Hemorragias Preretales o Vítreas. En etapas más avanzadas, esta proliferación fibrovascular, que se ha anclado en el humor vítreo, puede traccionar la retina produciendo un Desprendimiento de Retina Traccional, o romperla en los puntos de adherencia a ésta (desgarro retinal), ocasionando un Desprendimiento de Retina Regmatógeno. También pueden producirse Desprendimientos de Retina Combinados en que coexisten ambos mecanismos. La presencia de un Desprendimiento de Retina crónico en un paciente con RDP es un factor de riesgo para la Neovascularización Iridiana y para el Glaucoma Neovascular secundario, cuyo pronóstico es muy sombrío.

La RDP evoluciona en tres etapas de menor a mayor severidad: temprana, de alto riesgo y avanzada. Esto está dado por la ubicación y extensión de los neovasos, la presencia o ausencia de hemorragia vítrea y la presencia o ausencia de desprendimiento de retina con compromiso foveal.

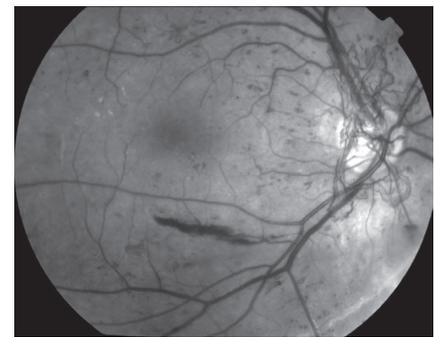


Figura 1: Fotografía de ojo derecho que muestra gran cantidad de vasos de neoformación o neovasos que emanan de la región de la papila. Obsérvese también la presencia de abundantes hemorragias retinales y de una hemorragia pre-retinal ubicada inferior a la mácula y que adopta la forma de una "canoa". Esta última, en el contexto de la retinopatía diabética, implica la presencia de neovasos, aunque ellos no sean claramente visibles.

Edema Macular

El edema retinal que compromete la mácula es una consecuencia importante de la alteración de la permeabilidad vascular que ocurre en la Retinopatía Diabética y se conoce como Edema Macular. El Edema Macular es la causa más común de pérdida de visión en los pacientes diabéticos. Para su diagnóstico es esencial el uso de lentes especiales que permiten la evaluación estereoscópica de la retina y con los cuales se puede observar la presencia de engrosamiento retinal (edema), así como la cercanía de éste a la fovea (ubicación). La presencia y ubicación de exudados céreos (depósitos blanco amarillentos) es un elemento importante para el diagnóstico, ya que traduce filtración capilar.

Aun cuando el diagnóstico del Edema Macular es clínico, la Angiografía Fluoresceínica es un examen complementario muy importante. Nos permite apreciar la filtración capilar que se produce en la Retinopatía Diabética. Según esta filtración se clasifica el edema macular en Focal o Difuso. El Edema Macular Focal es aquel que se produce por la filtración de uno, o de algunos escasos microaneurismas o lesiones capilares, fácilmente identificables (fig. 2). El Edema Macular Difuso, es aquel que se produce por una capilaropatía más extensa, a menudo distribuida en forma dispersa en el área macular, dando una imagen de filtración difusa, que no permite individualizar el o los orígenes de la filtración. El Edema Macular Difuso se asocia a menudo con la producción de quistes retinales a nivel de la Mácula (Edema Macular Quístico). La Tomografía de Coherencia Óptica nos permite apreciar cortes virtuales de la mácula y medir el grosor de la retina. Podemos, por ejemplo, observar las zonas de engrosamiento retinal (edema), quistes retinales (edema quístico), y comparar

cuantitativamente su evolución. Este examen también es invaluable en la utilidad que presta para el manejo de estos pacientes, y es complementario de la Angiografía Fluoresceínica (fig. 3).

Tanto en la RDNP como en la RDP se puede producir pérdida de visión por la presencia de Edema Macular. Por otro lado, el cierre de capilares retinales en esta misma área, puede producir isquemia macular, lo que se conoce como Maculopatía Isquémica, la que también produce pérdida de visión. En algunos casos, pueden presentarse simultáneamente el Edema Macular y la Maculopatía Isquémica.

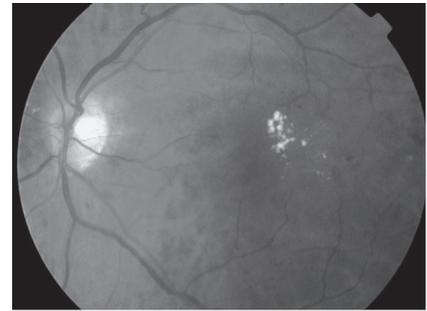


Figura 2: fotografía de ojo izquierdo que muestra un edema macular producido por filtración y exudación generada desde el sector supero-temporal de la mácula, por lesiones focales ubicadas en ese sector.

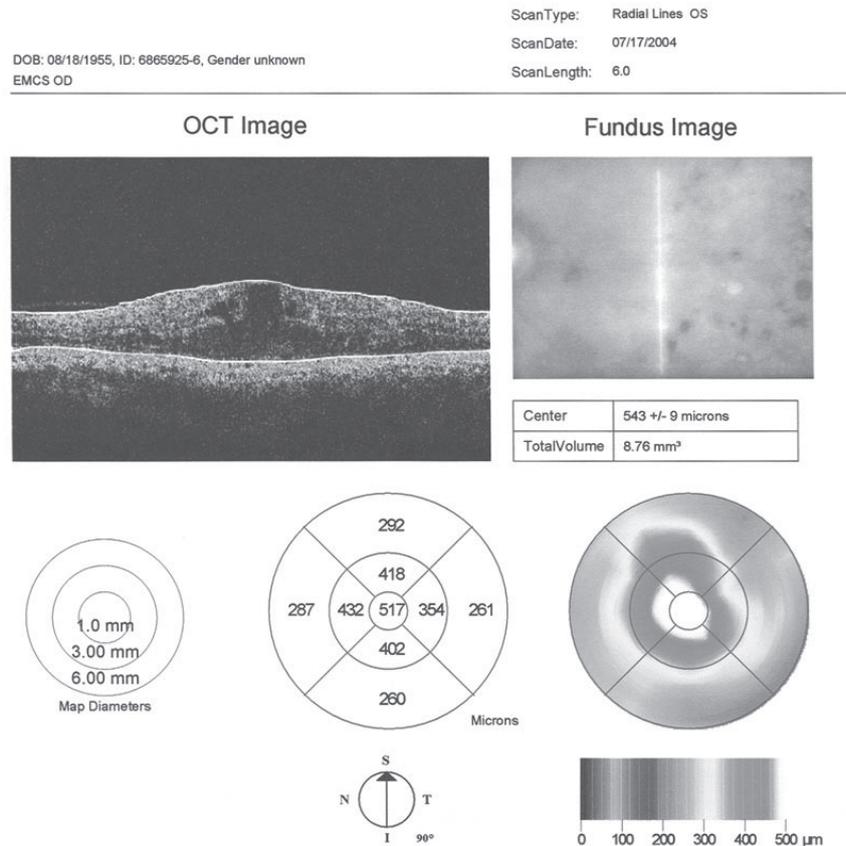


Figura 3: tomografía de coherencia óptica (OCT) de ojo izquierdo que muestra un corte vertical que pasa por la mácula. En el extremo superior derecho se observa una fotografía del ojo y el lugar por donde pasa el corte. A la izquierda se aprecia la imagen del corte retinal, en una escala colorimétrica de reflectividad. Los espacios oscuros en el espesor de la retina corresponden a quistes. En la región inferior del examen, se puede ver un mapa con los grosores retinales de las distintas áreas maculares, expresados en micrones.



Factores de Riesgo para la Retinopatía Diabética

El Tiempo de Duración de la Diabetes es el principal factor de riesgo, estando la aparición de la Retinopatía Diabética estrechamente relacionada a éste. Después de 15 años de Diabetes, el 97.5% de los pacientes con Diabetes tipo I y el 77.8% de los pacientes con Diabetes tipo II, padecen algún grado de Retinopatía Diabética.

El Control Metabólico es de crucial importancia para prevenir la aparición o disminuir la progresión de la Retinopatía Diabética. Según el DCCT, el control intensivo de la glicemia reduce el riesgo de desarrollar Retinopatía Diabética en un 76%, y retarda su progresión en un 54%.⁶

La Hiperlipidemia está asociada con la presencia y severidad de exudados céreos en la RDNP, y con el Edema Macular Diabético. La corrección de las dislipidemias disminuye el riesgo de pérdida de agudeza visual.

La Hipertensión Arterial está asociada a mayor riesgo de progresión del Edema Macular y de la Retinopatía Diabética en general, cuando no está controlada en forma crónica.

La Nefropatía tiene un efecto adverso en la Retinopatía Diabética. Los Diabéticos tipo I con micro albuminuria tienen tres veces más probabilidades de tener RDP.

El Embarazo acelera la progresión de la Retinopatía Diabética. Las mujeres diabéticas embarazadas requieren controles de fondo de ojo más frecuentes.

Tratamiento

Retinopatía Diabética

Educación del Paciente

Es difícil hacer el suficiente hincapié en que el tratamiento comienza por lograr que el paciente tome conciencia de su

enfermedad, de sus riesgos potenciales, y que acuda a controles periódicos con su diabetólogo y con su oftalmólogo. Durante esta etapa se debe optimizar el control metabólico de los pacientes, corregir la hiperlipidemia, lograr un adecuado control de la hipertensión arterial, tratar la nefropatía y hacer controles oftalmológicos más frecuentes en las mujeres embarazadas, en los casos que corresponda.

Fotocoagulación con Láser

La Panfotocoagulación consiste en hacer aplicaciones de láser térmico sobre la superficie retinal. Estas quemaduras destruyen la retina en el lugar en que son aplicadas, creando una cicatriz. La racionalidad de este tratamiento se basa en que, al destruir la retina isquémica, ésta sería incapaz de producir el Factor de Crecimiento Vascular Endotelial, el que sería el responsable de la formación de los neovasos. La disminución de la producción de este factor soluble lograría la regresión de la neovascularización existente y la prevención de su desarrollo en el futuro. Este tratamiento no es inocuo y se ha visto que los pacientes sometidos a Panfotocoagulación pueden experimentar, pérdida de una o dos líneas de visión, disminución de su visión nocturna, disminución de la visión de colores y disminución del campo visual. Sin embargo, al comparar los riesgos versus beneficios, esta se inclina claramente hacia la realización del tratamiento.

La presencia de neovasos ya sea en la superficie retinal, o a nivel iridiano hace necesario la aplicación de este tratamiento. El DRS demostró que la Panfotocoagulación disminuye en un 50% el riesgo de pérdida visual severa, especialmente en los pacientes con RDP de alto riesgo.⁷ Debe tenerse en cuenta que la ocurrencia de una Hemorragia Vítrea, percibida por el paciente como una

pérdida brusca de visión o la aparición repentina de “manchas flotantes” traduce la existencia de neo-vasos que harán necesario el tratamiento.

Los estudios clínicos han demostrado la utilidad de la Panfotocoagulación retinal no sólo en etapas en que ya hay desarrollo de neo-vasos, sino también en condiciones previas, en que se han alcanzado niveles de severidad. El detalle acerca de las indicaciones de este tratamiento en dichas condiciones, escapa a los objetivos de este capítulo.

Edema Macular

El ETDRS separó el Edema Macular, ya sea focal o difuso, en Edema Macular Clínicamente Significativo (EMCS) y Edema Macular No Clínicamente Significativo (EMNCS). Esta definición se basa exclusivamente en aspectos oftalmoscópicos que dicen relación con la cercanía del edema al centro de la fovea y no considera la agudeza visual del paciente, es decir, un paciente puede tener visión normal y aun así tener un Edema Macular Clínicamente Significativo. El ETDRS demostró que el tratamiento del EMCS focal con Fotocoagulación Focal disminuye en un 50% el riesgo de pérdida visual moderada en los pacientes tratados versus los controles, y mejora la agudeza visual en el 16% de los pacientes.⁸ La Foto-coagulación Focal es diferente a la Panfotocoagulación. Su objetivo es terminar con la filtración que proviene de los capilares retinales mediante el cierre de los microaneurismas u otras lesiones que contribuyen a ella, permitiendo la reabsorción del edema y de los exudados lipídicos (fig. 4).

El EMCS difuso, hasta hace poco no tenía un tratamiento efectivo. Actualmente, con el advenimiento de la Triamcinolona intravítrea, como tratamiento de este tipo de edema, se han logrado mejorías espectaculares en la disminución del edema

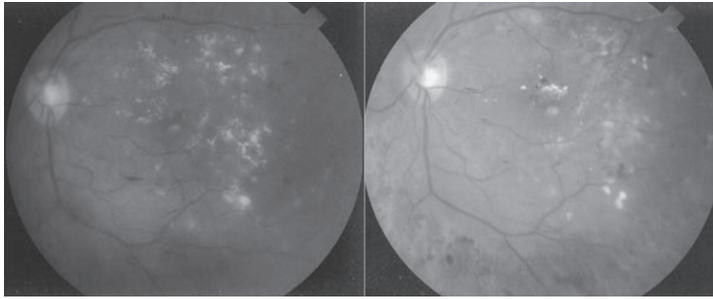


Figura 4: Fotografías de ojo izquierdo que muestran el aspecto clínico de un paciente antes y después de ser sometido a una fotocoagulación focal, por edema macular clínicamente significativo. Obsérvese la disminución de los exudados lipídicos, a la derecha, meses después del tratamiento.

y algo menores en la mejoría de la agudeza visual. Sin embargo, el efecto de este tratamiento es de una duración limitada (4-6) meses, y tiene como principal efecto secundario la hipertensión ocular, así como también, riesgo de complicaciones severas aunque poco frecuentes. Una segunda alternativa de tratamiento, es la vitrectomía con extirpación de la hialoides posterior del humor vítreo y, en algunos casos, incluso de la membrana limitante interna de la retina. Esta alternativa es válida cuando puede evidenciarse un componente traccional sobre la retina, que está influyendo sobre el edema, y es más controvertida cuando éste no existe.

Por último, el uso de drogas bloqueadoras del VEGF, administradas como inyecciones intravítreas, y que disminuyen la permeabilidad vascular retinal, están comenzando a ser estudiadas para el manejo del edema macular diabético, y pueden constituirse en una herramienta terapéutica importante en el futuro.

Es importante recalcar que, de acuerdo a los estudios mencionados, el tratamiento del EMCS focal está orientado en la gran mayoría de los casos a disminuir el riesgo de pérdida de visión (conservar la agudeza visual previa al tratamiento) y, sólo en una minoría, a mejorarla. De esto se desprende que es muy importante diagnosticar y tratar precozmente a los pacientes con Edema Macular para, de este modo,

conservar la mejor agudeza visual que sea posible.

Tratamiento Quirúrgico de la Retinopatía Diabética

El tratamiento quirúrgico de la Retinopatía Diabética ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años, permitiendo tratar y recuperar con visión útil a pacientes cuyos ojos eran considerados casos perdidos antes de que las nuevas técnicas estuvieran disponibles. No debemos perder de vista que, a pesar de los avances, ésta sigue siendo una cirugía altamente compleja, con importante morbilidad potencial, la cual, puede llegar a ocasionar la pérdida total de la visión, o del globo ocular.

Los objetivos generales de la cirugía vítrea para los pacientes con Retinopatía Diabética son:

- a) Corregir las complicaciones causantes de la pérdida de visión
- b) Alterar el curso de la progresión de la Retinopatía Diabética mediante la extirpación de la superficie vítrea posterior en la cual crece el tejido fibrovascular.

Las principales situaciones patológicas que hacen planteable el tratamiento quirúrgico de la Retinopatía Diabética son:

- a) La presencia de Hemorragia en el Humor Vítreo o por delante de la retina, que no se reabsorben e impiden el

tratamiento con láser.

- b) El desarrollo de Desprendimiento Retinal.
- c) La progresión del crecimiento de neovasos retinales a pesar del tratamiento con láser.
- d) El desarrollo de algunas complicaciones maculares secundarias a la tracción del tejido fibrovascular
- e) Algunas otras complicaciones severas en la evolución de la enfermedad.

Criterios Sugeridos por la Academia Americana de Oftalmología para el Seguimiento y Derivación de los pacientes Diabéticos

Los pacientes con Diabetes tipo I raramente tienen retinopatía durante los primeros cinco años después del diagnóstico y, por lo tanto, su evaluación oftalmológica no es necesaria hasta entonces. Por el contrario, los pacientes con Diabetes tipo II habitualmente tienen retinopatía establecida al momento del diagnóstico y, por ende, deben tener un examen oftalmológico cuando éste se realiza. Las pacientes mujeres tienen un riesgo particularmente importante de progresión de su retinopatía durante el embarazo. Se recomienda un examen oftalmológico durante el primer trimestre y después a discreción del oftalmólogo.

De acuerdo a la severidad de la retinopatía los criterios de control oftalmológico son los siguientes⁹:

Anormalidad Retinal	Seguimiento Sugerido
Normal	Anual
RDNP leve	Cada 9 meses
RDNP moderada	Cada 6 meses
RDNP severa	Cada 4 meses
EMCS	Cada 2 a 4 meses
RDP	Cada 2 a 3 meses



Es importante tener en mente que, para la clasificación de la Retinopatía, es esencial una evaluación por el especialista y, por ello, la frecuencia de los controles deberá ser indicado por éste. El médico no-oftalmólogo responsable del cuidado de un paciente diabético debe enfatizarle la necesidad de su control anual oftalmológico, y será luego el oftalmólogo quien le indique la oportunidad de su siguiente control. La percepción de disminución visual, ya sea brusca o paulatina, experimentada por un paciente diabético en control, debe también alertar al médico tratante de la necesidad de una evaluación oftalmológica a la brevedad.

La adecuada interacción entre el médico responsable del manejo metabólico del paciente diabético y el oftalmólogo, así como una adecuada labor de control preventiva, son capaces de asegurar, en la mayoría de los casos, la mantención de la visión a lo largo de toda la enfermedad.

Bibliografía

1. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II Prevalence and Risk of Diabetic Retinopathy When Age at Diagnosis Is Less Than 30 Years. Arch Ophthalmol. 1984 Apr;102(4):520-6.
2. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. III Prevalence and Risk of Diabetic Retinopathy When Age at Diagnosis Is 30 or More Years. Arch Ophthalmol. 1984 Apr;102(4):527-32.
3. Organización Panamericana de la Salud (OPS), "La diabetes en las Américas", Boletín Epidemiológico, Vol. 22, No. 2, pp. 1-3, año 2001
4. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology. 1991 May;98:823-33
5. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology. 1991 May;98:766-85
6. Progression of Retinopathy with Intensive versus Conventional Treatment in the Diabetes Control and Complications Trial. Ophthalmology 1995;102:647-661
7. Photocoagulation Treatment of Proliferative Diabetic Retinopathy. Clinical Application of Diabetic Retinopathy Study (DRS) Findings, DRS Report Number 8. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology 88:583-600, 1981
8. Photocoagulation for Diabetic Macular Edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report Number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Arch Ophthalmol 1985; 103:1796-1806
9. AAO, Basic and Clinical Sciences Course, Retina 2000-2001

Lecturas Sugeridas

1. Verdaguer TJ, Retinopatía Diabética. Clasificación, Normas para Pesquisa y

Tratamiento

2. Freeman WR, Practical Atlas of Retinal Disease and Therapy, Second Edition
3. Alvarez NR, Diploma de Actualización en Medicina 1999, Modulo de Diabetes, Diagnostico y Tratamiento de la Retinopatía Diabética.

Dolor abdominal recurrente en la pancreatitis crónica, un dilema diagnóstico y terapéutico.

Dr. Luis Rojas (*), Dr. Andrés Aizman (**)

* Instructor Asociado. Departamento de Medicina Interna
** Instructor Asociado. Departamento de Medicina Interna
Correspondencia: lsrojas@med.puc.cl, asaizman@uc.cl

Caso clínico

Se trata de un hombre de 38 años de edad con antecedentes de Diabetes Mellitus tipo 1, Pancreatitis crónica diagnosticada hace 2 años de etiología probablemente alcohólica y Reflujo gastroesofágico. Estando en tratamiento con enzimas pancreáticas 20000 unidades al día con buena respuesta inicial, comienza a presentar dolor epigástrico intenso de carácter urente y a veces cólico, constante, no irradiado, asociado a náuseas y vómitos. No existe un desencadenante en la dieta y niega ingesta de alcohol. No presenta fiebre, alteraciones urinarias ni del tránsito intestinal

Al examen físico sólo destaca la presencia de dolor abdominal epigástrico a la palpación profunda, sin evidencias de irritación peritoneal ni masas abdominales.

Los estudios de laboratorio iniciales se encuentran en tabla n.1

Se realiza una ecotomografía abdominal que evidencia vesícula sin cálculos y vía biliar fina. La Tomografía computada (TAC) de abdomen muestra calcificaciones pancreáticas. Sin adenopatías. No hay cambios en relación a examen realizado un año atrás.(figura 1)

Se inicia tratamiento sintomático con

antiinflamatorios no esteroideos, antiespasmódicos e inhibidores de la bomba de protones (IBP), evolucionando favorablemente por lo que continúa su terapia en forma ambulatoria.

A los pocos días presenta nuevo episodio de dolor abdominal de semejantes características por lo que debe rehospitalizarse. En la historia sólo se agrega pirosis ocasional.

No hay cambios al examen físico.

Nuevos exámenes se encuentran en la tabla n.2

Tabla 1

Hematocrito	47%
Glóbulos blancos	8100. Fórmula diferencial normal
Plaquetas	Normales
Creatinina	0-8 mg./dl.
BUN	18 mg./dl.
Examen orina	Normal
Fosfatasa alcalina	510 U/L
GGT	30 U/L.
SGOT	16 U/L.
SGPT	20 U/L
Bilirrubina	0.57 mg./dl.
Albumina	4.2 gr./dl.
Protrombina	100%
Lipasa-amilasa	7.7 U/L – 75 U/L
Calcio	9.1 mg./dl.
Fósforo	2.6 mg./dl.

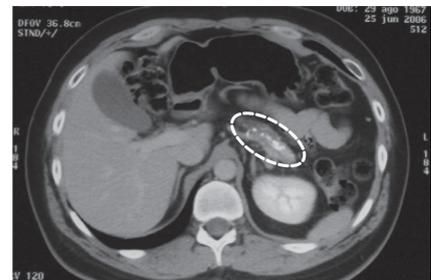


Figura 1

Tabla 2

Hematocrito	46%
Glóbulos blancos	8130. Fórmula diferencial normal
Plaquetas	Normales
Creatinina	0,9 mg./dl.
BUN	20 mg./dl.
Examen orina	Normal
Fosfatasa alcalina.	412 U/L
GGT	28 U/L
SGOT	21 U/L
SGPT	20 U/L
Bilirrubina	0.79 mg./dl.
Albumina	4,7 mg./dl.
Protombina	100%
Lipasa-amilasa	9.5 U/L – 77 U/L
Calcio	9.1 mg./dl.

Por la presencia de pirosis se realiza endoscopia digestiva alta (EDA) que revela esofagitis tipo A.

Nuevamente el manejo es sintomático logrando una buena respuesta, reiniciando régimen oral sin problemas. A los pocos días nuevamente reaparece el dolor, pero esta vez es refractario al tratamiento.

Discusión diagnóstica y conducta a seguir

La pancreatitis crónica comprende un espectro de alteraciones morfológicas y funcionales tales como fibrosis, inflamación intermitente, obstrucción de estructuras adyacentes, falla de función endocrina y exocrina (1), lo que se traduce en un cuadro clínico de abordaje diagnóstico y terapéutico complejo.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes son secundarias al dolor abdominal y a la insuficiencia pancreática. El dolor abdominal es frecuentemente epigástrico irradiado a flancos, ocurre en ataques de 30 minutos de duración después de comer. Sin embargo el patrón del dolor puede ser muy variable, (2-3). La etiología del dolor puede obedecer a algunas de las distintas complicaciones, este escenario hace que el abordaje diagnóstico sea muy complejo.

Dentro de las complicaciones, las más frecuentes son el pseudoquistes, obstrucción mecánica del duodeno y del conducto biliar, y la litiasis ductal pancreática (4).

El pseudoquiste se presenta en el 10% de los casos. Muchos son asintomáticos. Sin embargo, pueden dar síntomas dependiendo de su ubicación y tamaño. El diagnóstico se realiza con ultrasonido o tomografía computada.

La obstrucción duodenal y del ducto biliar ocurre en un 5 a 10 % de los casos. Es secundaria a la inflamación y fibrosis de la cabeza del páncreas, o en algunos casos a la presencia de cálculos

pancreáticos intraductales. Estos últimos se encuentran aproximadamente en el 22% a 60% de los casos. Producen dolor al aumentar la presión intraductal. El diagnóstico se realiza con CPER (colangiopancreatografía endoscópica retrograda), aunque la Colangiografía es de gran utilidad.

La pancreatitis crónica es una condición de riesgo para el desarrollo de cáncer de páncreas, el cual si puede causar o exacerbar el dolor abdominal. La forma de diagnosticarlo es a través de biopsia intraoperatoria o por imágenes en estadios más avanzados.

Debido a las múltiples posibles causas del dolor abdominal se requiere un enfrentamiento diagnóstico secuencial. Un cambio en las características del dolor, tanto en el tipo como en la intensidad, sugiere primero descartar otra causa (ulcera péptica, litiasis biliar) o presencia de complicaciones.

Volviendo al caso clínico, nuestro paciente se encuentra en abstinencia alcohólica, la EDA muestra sólo esofagitis leve y las pruebas hepáticas no muestran un patrón colestásico. Sin embargo, el TAC de abdomen evidencia calcificaciones pancreáticas centrales que podrían corresponder a litiasis ductal. La conducta debiese ser la realización de una Colangiografía o CPER.

Evolución

Se realiza Colangiografía que evidencia múltiples cálculos en el conducto de Wirsung, con imágenes sugerentes de estenosis ductal (Figura 2). Es sometido a una CPER donde se confirman dichos hallazgos. Se logran extraer sólo algunos cálculos debido a las alteraciones anatómicas del ductus. No fue posible instalar un Stent permanente.

Pese a una buena respuesta inicial, el paciente debe rehospitarse pocos días

después del procedimiento por reaparición de los síntomas.

Cabe destacar que el alza de las fosfatasa alcalinas, que se evidenció en los exámenes iniciales (tabla 1 y 2), obedece a una reabsorción ósea secundaria a un Hiperparatiroidismo primario leve y no tiene relación con el cuadro pancreático.

Discusión terapéutica

Los objetivos de la terapia de la pancreatitis crónica se centran en la insuficiencia pancreática y el manejo del dolor.

La abstinencia alcohólica, como lo fue en nuestro paciente, es un pilar fundamental en la terapia. Su uso continuado lleva a mayor dolor e incluso a mayor mortalidad. El suplemento de enzimas pancreáticas puede reducir el dolor al reducir la secreción de colecistoquinina (5). Se recomienda usar dosis elevadas con las comidas asociado a supresión de la secreción ácida (IBP) para así reducir la inactivación de las enzimas por el ácido gástrico.

El uso de analgesia debe ser considerado si el dolor persiste, asociando opiáceos en dosis crecientes según respuesta.

Existen otras terapias más específicas para pacientes con dolor refractario. Estas incluyen: bloqueo de plexo celíaco, Stent endoscópicos, esfinterotomía pancreática, litotripsia extracorpórea y cirugía. Ninguno de ellos es universalmente exitoso.

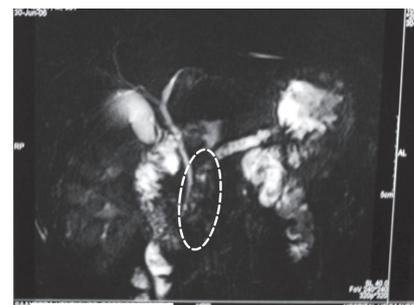


Figura 2

Bloqueo celíaco

Existen escasas experiencias reportadas. Leung et al (6) logró remisión del dolor en 12 de 23 pacientes sólo por 2 meses. Bloqueos repetidos no son efectivos. Además el procedimiento no está exento de complicaciones (7). Faltan estudios adicionales para validar sus resultados.

Litotripsia extracorpórea

Es útil cuando existe litiasis única en el ducto pancreático y sin estrechez asociada. Se ha observado una mejoría total o parcial del dolor en un 62 a 86% de los pacientes. El éxito es mayor al asociarlo a terapia endoscópica (8). Sin embargo, su rol es incierto al no existir estudios randomizados.

Extracción endoscópica de los cálculos y/o uso de stent

Más efectiva cuando son cálculos pequeños, pocos y ubicados en la cabeza del páncreas. Su porcentaje de éxito es del 64%. Por ello ha sido necesario complementarlo con esfinterotomía o litotripsia lo que mejora los resultados (85% a 20 meses) (9).

Cirugía

Indicada para los pacientes refractarios a la terapia médica. Los procedimientos quirúrgicos en uso no han tenido un seguimiento riguroso y no cuentan con estudios que los comparen con el tratamiento médico. Las opciones quirúrgicas son la descompresión ductal, resección pancreática y la denervación. La descompresión es utilizada cuando existe un ductus pancreático dilatado. El dolor desaparece a corto plazo en un 80% de los casos, pero pueden existir recaídas, llegando a necesitar una segunda intervención. El 60 % persiste con dolor a los 2 años (8). El drenaje de pseudocistes es también posible por vía quirúrgica. La resección pancreática es de elección

cuando no existe un ductus dilatado. Pueden lograr remisión de las molestias en hasta un 85%, pero acentúa la insuficiencia exocrina y endocrina. Es el procedimiento que ha demostrado mejores resultados. La morbimortalidad quirúrgica es de 0.4%.

La denervación quirúrgica por vía abdominal ha logrado remisión del dolor en hasta un 80% a corto plazo, pero los datos son escasos por lo que aún no ha sido aceptado.

Nuestro paciente presentaba un conducto pancreático dilatado por lo que fue sometido a una descompresión ductal mediante la anastomosis entre el conducto de Wirsung y el yeyuno. Presentó una buena evolución postoperatoria inmediata.

Lo subjetivo del dolor y el pobre conocimiento fisiopatológico son obstáculos que dificultan el estudio y terapia del dolor de Pancreatitis Crónica. Son pocos los estudios controlados que aproximan un enfrentamiento estándar y casi ninguno compara las terapias médicas con las quirúrgicas. La American Gastroenterological Association propone un algoritmo de enfrentamiento: a) excluir otras causas de dolor abdominal, incluyendo las complicaciones propias de la pancreatitis crónica, b) prueba con enzimas pancreáticas en altas dosis más IBP, c) uso de analgesia, incluyendo opiáceos. (11)

La terapia invasiva no es respaldada por estudios controlados, pero la experiencia previa sustenta su uso. Se reserva para quienes son refractarios a los tratamientos médicos ya descritos. La elección del tipo de cirugía esta supeditada a la morfología del ductus pancreático.

Bibliografía

- 1.- Steer ML. Chronic Pancreatitis. *N engl J Med* 1995 Jun; 332(22):1482-90.
- 2.- Ammann RW. The natural history of pain in alcoholic pancreatitis.

Gastroenterology 1999;116:1132.

- 3.- Layer P. The different courses of early and late onset idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1994;107(5):1481-7.
- 4.- Ammann RW. Course and outcome of chronic pancreatitis. Longitudinal study of a mixed medical-surgical series of 245 patients. *Gastroenterology* 1984 May;86(5):820-8
- 5.- Brown A. Does pancreatic enzyme supplementation reduce pain in patients with chronic pancreatitis: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 1997 Nov; 96(2):409-16
- 6.- Leung JW. Coeliac plexus block for pain in pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Br J Surg* 1983 Dec;70(12):730-2
- 7.- Gress F. Endoscopic ultrasound-guided celiac plexus block for managing abdominal pain associated with chronic pancreatitis: a prospective single center experience. *Am J Gastroenterol* 2001 Feb;96(2):409-16
- 8.- Guda NM; Extracorporeal shock wave lithotripsy in the management of chronic calcific pancreatitis: a meta-analysis. *JOP.* 2005 Jan 13;6(1):6-12
- 9.- Kozarek RA. Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: a alternative to surgery. *Dig Surg* 1996;13:90-100.
- 10.- Bradley EL, Long-term results of pancreaticojejunostomy for chronic pancreatitis. *Am J surg* 1987;153:207-213.
- 11.- Warshaw AL. AGA technical review: treatment of pain in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1998 Sep;115(3):765-76



La muerte de nuestro primer paciente

Dra. Sofía P. Salas (*)

* Profesor Adjunto.
Departamento de Obstetricia y Ginecología
Escuela de Medicina Pontificia Universidad Católica
Correspondencia: ssalas@med.puc.cl

Como estudiantes de medicina, la muerte de nuestro primer paciente es motivo de dolor y también un momento de cuestionarnos profundamente nuestra vocación y nuestra capacidad para poder ayudar al otro. Es inevitable que aún cuando la muerte de ese paciente fuese esperada, ésta nos remece y nos llena de interrogantes. ¿Estaremos preparados para ayudar a nuestro paciente a enfrentar su muerte, sabremos acompañar a la familia, podremos seguir con el programa del día como estaba planeado?

La historia de Carmen

En ese entonces, hace algo más de 25 años, me desempeñaba como alumna de 4 Año de Medicina y tenía asignada una sala del 5to Piso de medicina mujeres. La labor del alumno era paralela a la del equipo tratante: uno escribía la historia clínica, examinaba al paciente y discutía el diagnóstico y/o pronóstico con los médicos tratantes, pero nada de esto en realidad era útil para el paciente, sino que ellos nos servían a nosotros como sujetos de aprendizaje. Las rotaciones por los distintos servicios eran prolongadas, lo que sumado al hecho que los pacientes

permanecían muchos días e incluso semanas hospitalizados, contribuía a crear lazos afectivos entre estudiantes y pacientes. Entrando a la izquierda de la sala, se encontraba Carmen, mujer de alrededor de 26 años que hacía pocas semanas había dado a luz a su primer hijo. Enfrente suyo estaba Mónica que, al igual que Carmen, estaba hospitalizada por una endocarditis bacteriana secundaria a enfermedad reumática. Mónica era alegre y conversadora y observaba con ciertos aires de superioridad nuestros primeros intentos por acercarnos a los pacientes. Seguramente llevaba varias semanas hospitalizada y le había tocado enfrentar a numerosas rotaciones de estudiantes.

Recuerdo muy bien que antes de entrar a esa sala, me detenía algunos minutos en el umbral de la puerta, tomando fuerzas e intentando dominar sin éxito mi nerviosismo. Mónica se daba cuenta y me aleccionaba. “Tienes que entrar con la cabeza en alto”, me decía. O “camina rápido y directo a la cama, que no se note que vacilas”, y así sucesivamente me fue enseñando cómo debía, de acuerdo a la perspectiva del paciente, aproximarme como estudiante.

Carmen, en cambio, siempre permanecía en silencio. La conocí cuando ya estaba con las secuelas de un accidente vascular, posiblemente embólico, que la había dejado con afasia. Su hijo al parecer estaba hospitalizado por prematuridad, puesto que nunca lo vi en la sala. Me acercaba a ella, la podía examinar, revisar su ficha y la hoja de enfermería, pero no sabía qué pensaba ni qué sentía. Sus grandes ojos tristes me miraban, como tratando de decir algo, pero nunca llegué a saber qué. En mi ignorancia, desconocía que el concepto de “centro del habla” no se refiere sólo al lenguaje hablado, sino que a la representación del lenguaje, tanto oral como escrito, por lo que me empeñaba infructuosamente en comunicarme con ella, pidiéndole que escribiera en un papel. Carmen tomaba el lápiz e intentaba dibujar o escribir algo, pero sin resultado alguno.

Así pasaron varias semanas, tratando de comunicarnos mediante papeles, mientras discutíamos con los internos y becados a cargo de la sala los diagnósticos diferenciales, alternativas terapéuticas, pronóstico a mediano y largo plazo. Nos concentrábamos tanto en estos

aprendizajes, que solíamos olvidarnos de Carmen. Un día lunes, al llegar a la sala, encontré su cama desarmada, el colchón sin sábanas levantado y el velador abierto y sin nada en su interior. Por fin- pensé- la dieron de alta y podrá estar tranquila con su hijo. Me alegré por ella, aunque lamenté no haberme podido despedir.

“No la dieron de alta como tú crees, sino que le vino otro derrame y falleció el sábado”- me dijo Mónica. En su voz había una mezcla de emociones que transitaban entre la pena frente a la muerte de su compañera de pieza, un cierto alivio por no haber sido ella la fallecida y también un dejo de temor, puesto que al tener ambas igual patología, ella podía ser la próxima. Recuerdo que no supe qué contestar y preferí salir de la sala. Sentí tristeza, rabia e impotencia y también mucha soledad. El resto de los integrantes del piso siguieron afanados en su rutina del día a día, y nadie pareció reparar en lo que una estudiante de medicina podía sentir. Me preguntaba de qué habían servido las horas dedicadas a interrogarnos sobre diagnósticos diferenciales o complicaciones posibles, si no habíamos sido capaces de evitar su muerte.

Comentario

Como docentes de medicina, nos olvidamos muchas veces que nuestros estudiantes también requieren de nuestra preocupación y comprensión cuando enfrentan la muerte de sus pacientes. Sin embargo, solemos dejarlos solos, suponiendo que tienen la fortaleza suficiente para salir adelante ¿Cómo y cuándo les enseñamos a enfrentar la muerte de sus pacientes? ¿Cuánto tiempo le dedicamos a este aprendizaje en los currículos de medicina? ¿Estamos dispuestos a acompañarlos en este proceso?

Diversos trabajos han mostrado que los médicos experimentan fuertes experiencias en torno a la muerte de un paciente, en todas las etapas de su carrera profesional (1). La mayoría describen que estas experiencias han ocurrido en solitario y que han tenido un profundo impacto tanto en el cuidado de sus pacientes como en sus propias vidas, sobretodo cuando ocurren en forma inesperada. Estos “momentos de aprendizaje”, al ser compartidos con otros, pueden convertirse en una herramienta útil para que las generaciones más jóvenes aprendan a enfrentar la muerte de sus pacientes (2). Cabe hacer notar que un alto porcentaje de los estudiantes enfrentados a la muerte de su paciente considera que hubo inadecuado apoyo de sus supervisores y que estos temas no se discutieron, perdiéndose así una oportunidad única de aprendizaje sobre la muerte (3).

Bibliografía

1. Jackson VA, Sullivan AM, Gadmer NM, Seltzer D, Mithcell AM, et cols “It was haunting...”: Physicians descriptions of emotionally powerful patient deaths. *Academic Medicine* 2005, 80:648-656.
2. Branch W, Pels RJ, Lawrence RS, Arky R. Becoming a doctor. *Critical incidence reports from third-year medical students*. *N. Engl. J. Med.* 1993, 329:1130-1132.
3. Rhodes-Kropf J, Carmody SS, Seltzer D, Redinbaugh E, Gadmer N, Block SD, et cols “This is just too awful; I just can´t believe I experienced that...”: Medical student´s reactions to their “most memorable” patient death. *Academic Medicine* 2005, 80:634-640.



III Jornada de Investigación Pontificia Universidad Católica de Chile Dirección de Investigación

En el presente número se publica la tercera y última parte de los resúmenes presentados en la tercera Jornada de Investigación de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

El Editor

Inhibition of NF- κ B enhances the capacity of immature dendritic cells to induce antigen-specific tolerance in an animal model of Multiple Sclerosis.

Mirentxu Iruretagoyena B. (*), Sofía Sepúlveda C. (*), Juan Pablo Lezana D. (*), Jorge Berrios R. (*), Miguel Gutiérrez T. (**), Sergio Jacobelli G. (**), Alexis Kalergis P (*, **).

* Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas.

** Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Descripción

Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) is an inflammatory demyelinating disease that is primarily mediated by CD4⁺ T cells and shares most of the clinical and histopathological aspects of multiple sclerosis, and serves as an animal model for the disease. Due that dendritic cells (DCs) play an important role in the maintenance of peripheral immune tolerance we are interested in evaluating their therapeutic potential in this model. It is thought that during the steady state, DCs delete or anergize self reactive T cells. Here we have evaluated the capacity of drugs that inhibit NF- κ B function to enhance the tolerogenic properties of immature DCs in the EAE model.

We show that andrographolide, a bicyclic diterpenoid lactone, and rosiglitazone, a PPAR- γ agonist, were able to block DC maturation. In vivo, we observed that injections of immature DCs loaded with myelin antigens and treated with each of these NF- κ B inhibitors showed an enhanced capacity to reestablish tolerance in EAE by reducing activation of myelin-specific T cells. These data suggest that pharmacological approaches that promote a tolerogenic phenotype in immature DCs could be useful for the design of new therapies to prevent or treat detrimental autoimmune responses.

Conclusiones

Blockade of NF- κ B activation is able to modulate dendritic cell maturation and

antigen presentation to T cells. Dendritic cells with impaired NF- κ B function show enhanced tolerogenic capacity and reduce EAE severity in mice by expanding antigen specific regulatory T cells.

Lista de publicaciones

MI Iruretagoyena, M Wiesendanger and AM Kalergis. The Dendritic cell-T cell synapse as a determinant of autoimmune pathogenesis. Current Pharmaceutical Design, 2005.

SM Bueno, JA Tobar, MI Iruretagoyena and AM Kalergis. Molecular interactions between dendritic cells and Salmonella: Escape from adaptive immunity and implications on pathogenesis. Critical

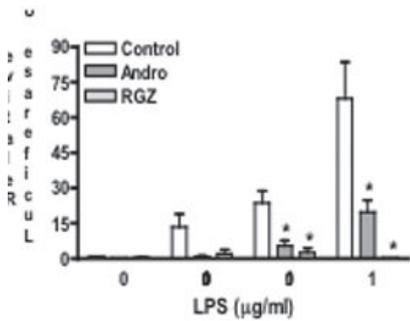


Figura 1: Andrographolide and rosiglitazone inhibit NF-κB activation. Mouse MLE-12 cells were cotransfected with an NF-κB-luciferase reporter construct and Renilla luciferase reporter as an internal control.

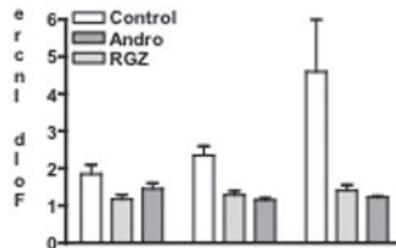


Figura 2: Up-regulation of DC maturation markers in response to LPS is inhibited by either rosiglitazone or andrographolide treatment.

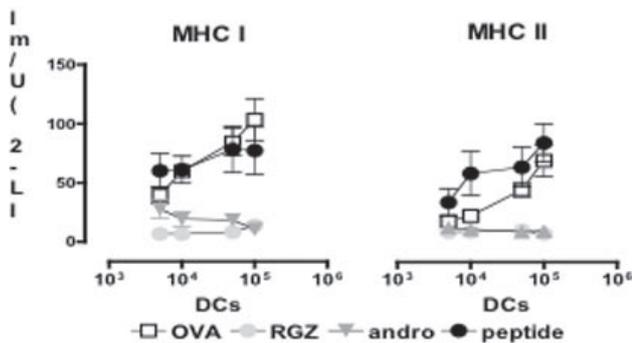


Figura 3: T cell activation by antigen-pulsed DCs is suppressed by andrographolide and rosiglitazone treatment.

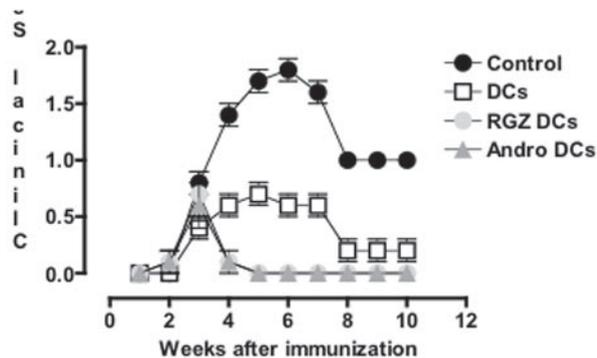
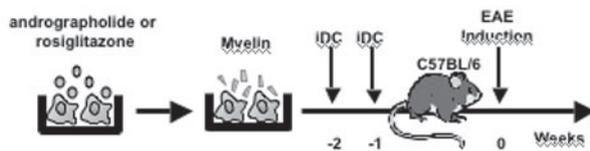


Figura 4: Andrographolide- or rosiglitazone-treated iDCs reduce the severity of EAE in the mouse.

Review Immunology, 2005

PA González, LJ Carreño, D Coombs, JE Mora, E Palmieri, B Goldstein, SG Nathenson and AM Kalergis. TCR binding kinetics required for T cell activation depend on the density of cognate ligand on the APC. *Proc Natl Acad Sci* 2005 Mar 29; 102(13):4824-9

Iruetagoiena M, Tobar J, Gonzalez P, Sepúlveda S, Figueroa C and Kalergis M. Andrographolide interferes with T cell activation and reduces experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse. *J Pharm Exp Ther.* 2005 Jan; 312(1):366-72

Tobar J, Gonzalez P, and Kalergis A. Salmonella escape from antigen presentation can be overcome by targeting bacteria to Fcγ Receptors on dendritic cells. *J Immunol.* 2004 Sep 15; 173(6):4058-4065

Kalergis AM, Fierro A, Figueroa C, González PA, Tobar JA. Specific T cell antigen recognition and clinical applications. *Rev Méd Chile.* 2004; 132:371-380

Colaboradores nacionales

Marcela Hermoso, Programa de Inmunología, ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

Ayudantes Alumnos de Medicina: M. Fernanda Cartes

Colaboradores internacionales

Dr. Andres Floto, University of Cambridge. Cambridge Institute for Medical Science and Department of Medicine.



FINANCIAMIENTO

This work was supported by:

FONDECYT #1030557

FONDECYT #1050979

The Millennium Nucleus for Immunology and Immunotherapy. MI is a MECESUP fellow.

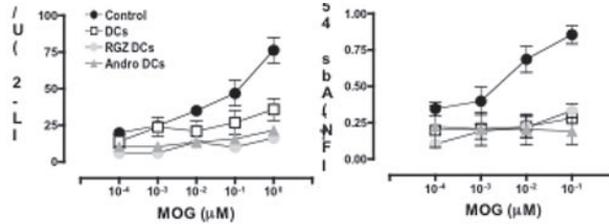


Figura 5: Reduced anti-myelin T cell responses in iDC-treated mice.

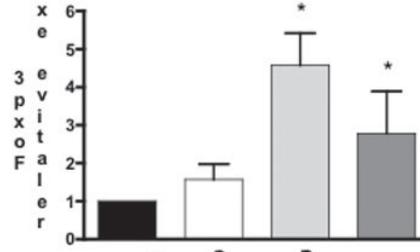


Figura 6: Increased levels of regulatory T cells in andrographolide or rosiglitazone iDC treated mice.

Disfunción hormonal en pacientes con artritis reumatoide temprana: asociación a parámetros de actividad y duración de la enfermedad.

Miguel Gutiérrez, Francisco Silva, Claudia Campusano (*), Alex Vargas, Marcela Cisternas, Sergio Jacobelli.

Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología.
 * Departamento de Endocrinología.
 Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Introducción

Se ha encontrado una disfunción del eje HHS expresada por bajos cuocientes cortisol/IL-6 y DHEA-S/IL-6 en Artritis Reumatoide (AR), discutiéndose si tiene un papel patogénico o es secundaria a la inflamación crónica. No está claro si esta disfunción se asocia a la actividad o duración de la AR

Objetivo

Estudiar la asociación entre el cuociente hormona/citoquina (cortisol y DHEA-S) / (IL6) con parámetros de actividad, duración de la enfermedad y otras determinaciones hormonales en pacientes con AR.

Método

Se estudió 48 mujeres con AR activa, sin

tratamiento esteroidal, edad promedio 49 años (20-72), 16 meses de duración (2-72), 35/48 FR (+). Los parámetros de actividad evaluados fueron: número de articulaciones inflamadas, índice HAQ, EVA para dolor, VHS y PCR. Se midieron niveles plasmáticos de cortisol, DHEA-S, testosterona, FSH e IL-6. Los valores fueron expresados como cuociente hormona/citoquina.

Resultados

Los cuocientes cortisol/IL-6 y DHEAS/IL-6 se correlacionaron con EVA para dolor (Fig 1 y 2) y con niveles de testosterona ($r=0.5$, $p=0.049$ y $r=0.6$, $p=0.008$, respectivamente). El cuociente DHEAS/IL-6 mostró una correlación inversa con índice HAQ (Fig 3). El nivel de IL 6 se correlacionó inversamente con testosterona ($CR= -0.598$, $p=0.007$) y con VAS y FSH positivamente.

Conclusiones

La disfunción del eje HHS frente a inflamación, expresada con menores concentraciones de cortisol y de DHEA-S en relación a las de IL6, se asocia a mayor dolor articular y a menor capacidad funcional. No se observó asociación a otros parámetros de actividad o a la duración de la enfermedad.

Menores concentraciones de testosterona se asocian a mayor dolor articular, a mayor inflamación expresada por altos niveles de IL6 y a disfunción del eje HHS.

Esta evidencia apoya la asociación de una disfunción del Eje HHS tanto a nivel glucorticoidal como androgénico con la actividad de la Artritis Reumatoide

Lista de Publicaciones

Gutiérrez, M.A., et al., Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in patients with active rheumatoid arthritis: a controlled study using hypoglycemia stress test and prolactin stimulation. J Rheumatol, 1999. 26: p. 277-281

Silva, F., et al. , Estudio de la respuesta de Dehidroepiandrosterona Sulfato (DHEA-S) con test de hipoglicemia en Artritis Reumatoidea (AR) activa: Comparación

entre mujeres pre y post menopáusicas (Abstract). Rev Chilena Reumatología, 2000. 16: p. 159

Colaboradores

Ayudantes Alumnos de Medicina: Leonidas Llanos, Maite Rosas, Karina Elgueta

Financiamiento

Proyecto FONDECYT No 1030617.

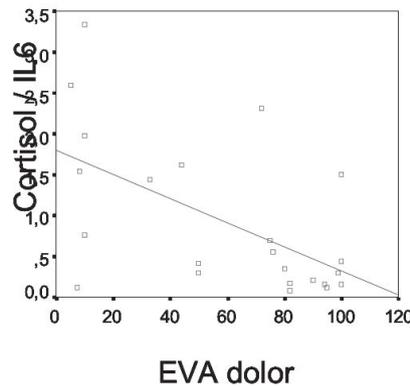


Figura 1: Correlación EVA para dolor y cuociente Cortisol / IL6 ($r=0.5$, $p= 0.015$)

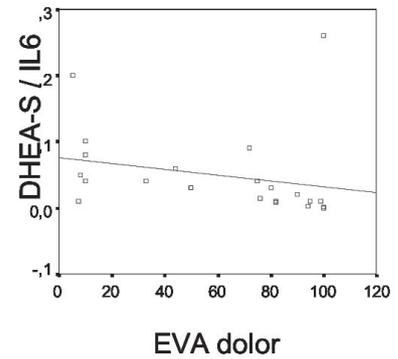


Figura 2: Correlación EVA para dolor y cuociente DHEA-S / IL6 ($r=0.6$, $p= 0.004$)

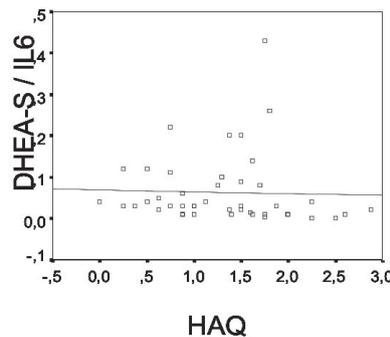


Figura 3: Correlación índice HAQ y cuociente DHEA-S / IL6 ($r=0.3$, $p= 0.039$)

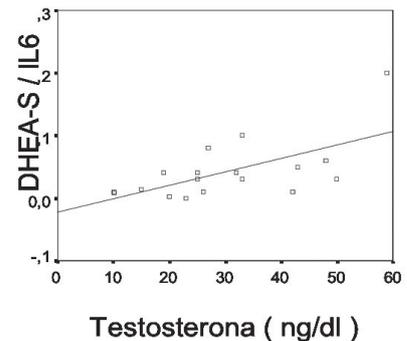


Figura 4: Correlación nivel de testosterona y cuociente DHEA-S / IL6 ($r=0.6$, $p= 0.008$)

Alteración de la función del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y su relación con genotipo hla drb1 en mujeres con artritis reumatoide activa y familiares de primer grado

Miguel Gutiérrez, Francisco Silva, Claudia Campusano (*), Alex Vargas, Marcela Cisternas, Sergio Jacobelli.

Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología.

* Departamento de Endocrinología.

Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Introducción

La patología de la Artritis Reumatoide (AR) incluye factores genéticos y hormonales. La principal asociación genética es con alelos HLA-DRB1 que poseen el "epítipo compartido" (EC). Además se ha propuesto una deficiencia de hormonas suprarrenales antiinflamatorias (cortisol, DHEA-S), reflejando una respuesta inapropiada del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenal (HHS) frente a la inflamación.

Objetivo: Estudiar la relación entre susceptibilidad genética y la presencia de una disfunción del eje HHS en pacientes con AR, familiares de primer grado y controles.

Método

Estudiamos 26 mujeres con AR activa, sin tratamiento esteroidal, 9 familiares de primer grado y 23 controles sanos pareados por edad y sexo. Se determinaron concentraciones de ACTH, Cortisol, DHEA-S e IL-6 basales y post-estimulación con CRH. Se tipificaron haplotipos HLA-DRB1. Los resultados son expresados como cociente hormona/IL6.

Resultados

Se detectó la presencia de EC (HLA-DRB1*01 o DRB1*04) en 11/21 pacientes (52%), 5/8 controles (62%) y 3/6 familiares (50%).

La respuesta hormonal frente a CRH expresada como ACTH/IL6, cortisol/IL6 y DHEA-S/IL6 (Fig 1, 2 y 3):

- Fue menor en pacientes versus controles.
- Fue similar en familiares versus controles.

La respuesta hormona/IL6 fue independiente de la presencia o no del EC tanto en pacientes como en familiares.

La respuesta de ACTH fue mayor en pacientes portadores del EC versus los no portadores (Fig. 4 y 5), sin embargo la respuesta del cortisol no difirió entre estos 2 grupos (Fig. 6).

Conclusiones

Resultados apoyan la existencia de una disfunción del eje HHS glucocorticoide y androgénico en pacientes con AR, en relación al estímulo inflamatorio.

Los familiares de primer grado de los pacientes con AR no parecen presentar disfunción del eje HHS.

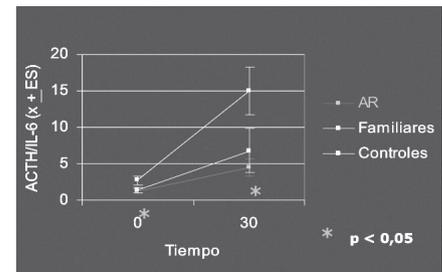


Figura 1

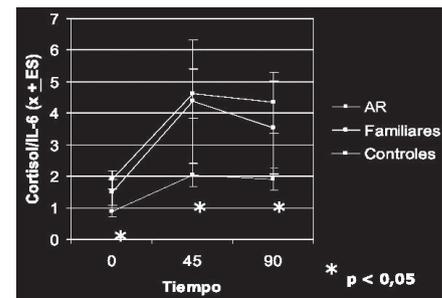


Figura 2

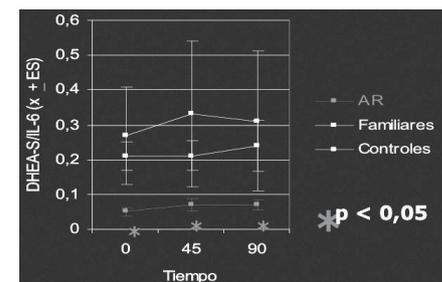


Figura 3

Lista de Publicaciones

Gutiérrez, M.A., et al., Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in patients with active rheumatoid arthritis: a controlled study using hypoglycemia stress test and prolactin stimulation. *J Rheumatol*, 1999. 26: p. 277-281.

Silva, F., et al. , Estudio de la respuesta de Dehidroepiandrosterona Sulfato (DHEA-S) con test de hipoglicemia en Artritis Reumatoídea (AR) activa: Comparación entre mujeres pre y post menopáusicas (Abstract). *Rev Chilena Reumatología*, 2000. 16: p. 159.

Colaboradores

Ayudantes Alumnos de Medicina:
Leonidas Llanos, Maite Rosas, Karina Elgueta

Financiamiento

Proyecto FONDECYT No 1030617

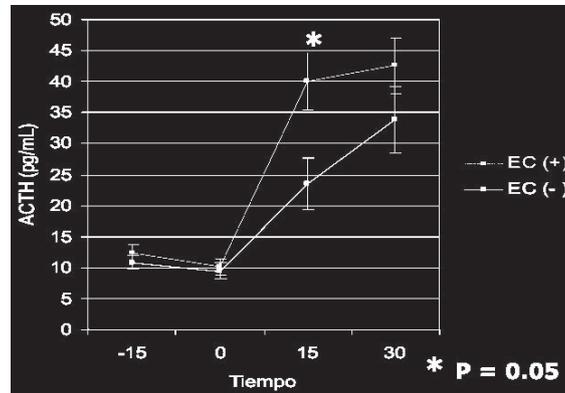


Figura 4

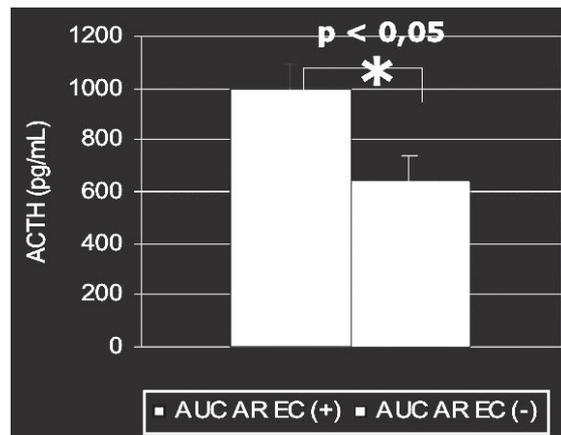


Figura 5

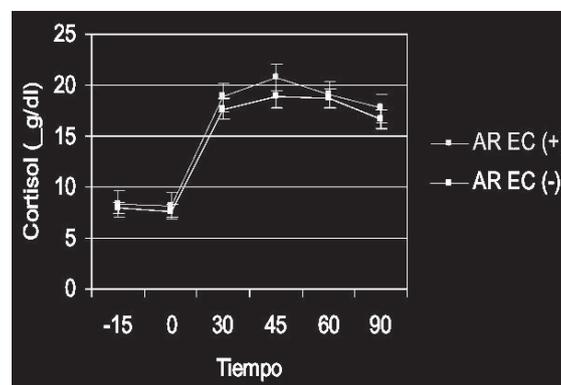


Figura 6

La vía de señalización Rho/Rho kinasa en el remodelado cardiovascular de la hipertensión arterial. Relación con Angiotensina II

Jorge Jalil (*), María Paz Ocaranza (*), Sergio Lavandero (***), Gastón Chamorro (*), Iván Godoy (*), Ricardo Zalaquett (*), Manuel J Irrázaval (*), Renato Mertens (*), Albrecht Kramer (*), Francisco López (**), Mario Chiong (***).

* Departamento de Enfs Cardiovasculares

** Departamento de Cirugía

*** PUC y Escuela de Química y Farmacia

Uch

La hipertensión arterial (HTA) se caracteriza por alteración del tono vascular, aumento de la contractilidad vascular, proliferación y migración de células musculares lisas vasculares (CMLV) y diversos grados de inflamación de la pared arterial. Este proceso se denomina remodelado vascular. La proliferación, migración de CMLV desde la media hacia la íntima y la inflamación de la pared arterial participan en una variedad de trastornos vasculares y contribuyen por ejemplo a la progresión de la aterosclerosis, restenosis, rechazo al injerto e insuficiencia renal. También, la HTA se acompaña de remodelado cardíaco, consistente en hipertrofia de cardiomiocitos, hiperplasia de los fibroblastos y alteraciones de la matriz extracelular.

Dentro de las principales complicaciones de la HTA, aquellas derivadas del desarrollo de aterosclerosis son las que menos han disminuído con el tratamiento antihipertensivo actual, porque aún se desconocen todos los mecanismos de remodelado cardiovascular (RCV).

Uno de los mecanismos más nuevos de vasoconstricción y de RCV en la HTA es la participación del sistema transduccional Rho, que induce mayor vasoconstricción. Rho y su kinasa blanco (Rho kinasa)

juegan un rol en la regulación de la presión arterial y en la contracción de la musculatura lisa vascular, en la fosforilación de la cadena liviana de la miosina, en la sensibilización de proteínas contráctiles al calcio y formación de fibras de estrés, en la organización del citoesqueleto de actina, en los procesos de adhesión y movilidad celular, citokinesis y expresión génica (Figura 1).

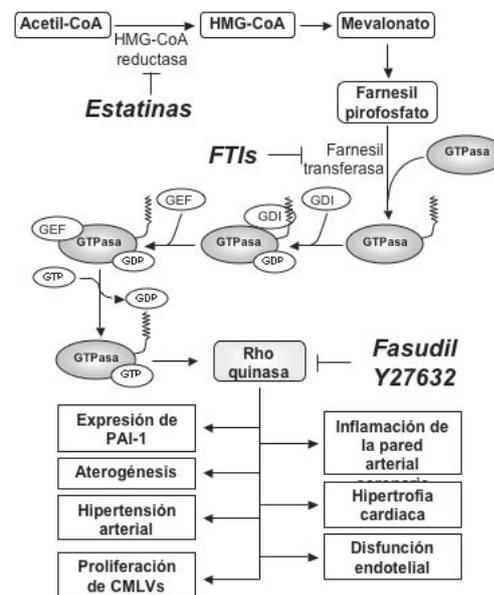


Figura 1: VIA RHO / RHO KINASA

Hipótesis

en la HTA por diferentes mecanismos patogénicos existe activación de la vía transduccional Rho, dependiente o independiente de angiotensina II, lo que induce el desarrollo de procesos de remodelado vascular y cardíaco patológicos que se expresan en distintos modelos experimentales de HTA y también en pacientes hipertensos.

Resultados más significativos a la fecha

En la HTA experimental dependiente de volumen (DOCA, en la rata) se produce un aumento inicial (~ 400%) en la actividad de NADPH oxidasa y un aumento tardío (~ 300%) de Rho quinasa en la pared aórtica (Figura 2), mecanismos que podrían participar en el remodelado vascular patológico de la HTA. Hemos observado simultáneamente un aumento en la fosforilación relativa de la proteína MYPT-1 a nivel de la treonina 696 en aorta y un aumento simultáneo de la expresión génica profibrótica, antifibrinolítica y proinflamatoria cardiovascular

En la HTA experimental dependiente de renina (Goldblatt en la rata), hay un aumento precoz y transitorio de la expresión génica antifibrinolítica en Ao y miocardio. La expresión génica de MCP-1 aumenta precoz y transitoriamente en la Ao y tardíamente en el corazón. Este tipo de remodelado molecular podría dar cuenta del tipo de complicaciones cardiovasculares en la HTA dependiente de renina (Tabla 1)

En ratas Brown Norway (BB), genéticamente con mayor actividad de ECA - y mayores niveles de Ang II - presentan mayor actividad de NADPH oxidasa y mayor producción de O₂- en aorta que ratas Lewis (LL) (Figura 2). Esto sugiere que en humanos, el polimorfismo que presenta mayor actividad de la ECA se podría asociar a mayor estrés oxidativo vascular y por lo tanto, mayor desarrollo de aterosclerosis e hipertensión arterial (esto es completamente reversible al bloquear el receptor AT1).

Tareas a completar

Evaluar el efecto del bloqueo selectivo de Rho quinasa sobre el RCV observado (utilizando el fármaco fasudil, Figura 1). Evaluar la posible activación de Rho/Rho quinasa en humanos con o sin HTA

y con o sin aterosclerosis clínicamente significativa

Lista de publicaciones

Jalil JE, Pérez A, Ocaranza MP et al. Increased Aortic NADPH Oxidase Activity in Rats with Genetically High Angiotensin Converting Enzyme Levels. Aceptado para publicación, Hypertension 2005

Galvez AS, Fiedler JL, Ocaranza MP, Jalil JE, Lavandero S, Diaz-Araya G. Perindopril Regulates beta-Agonist-Induced Cardiac Apoptosis. J Cardiovasc Pharmacol. 2005 Sep;46(3):255-261.

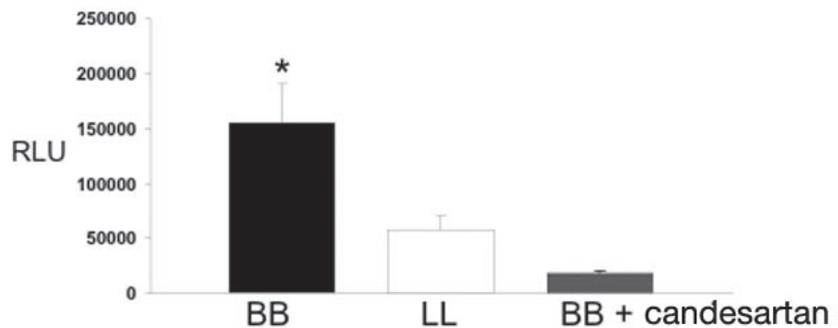
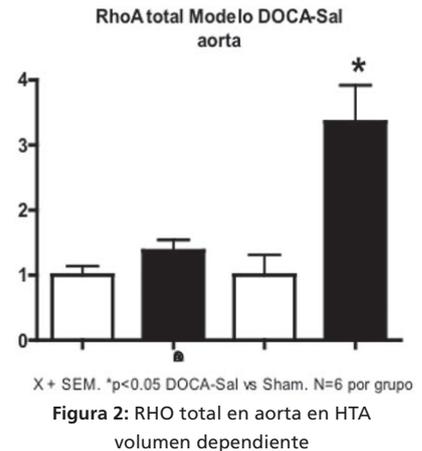


Figura 3: NADPH Oxidasa, en ratas con ECA genéticamente elevada

EXPRESIÓN GÉNICA (MRNA) CV EN HTA RENOVASCULAR (RT - PCR)

	2 Semanas		6 Semanas	
	C	Gb	C	Gb
PAS mmHg	104(3)	170(5)*	128(4)	173(6)*
TGF_1 (Ao/VI)	1(0,07)	1,14(0,08)	1(0,09)	1,14(0,12)
	1(0,06)	1,26(0,13)	1(0,06)	1,2(0,11)
PAI-1 (Ao/VI)	1(0,06)	1,4(0,16)*	1(0,07)	1,1(0,08)
	1(0,09)	1,37(0,12)*	1(0,03)	1,13(0,07)
MCP-1(Ao/VI)	1(0,06)	1,51(0,09)*	1(0,07)	1,22(0,1)
	1(0,09)	1(0,11)	1(0,05)	1,39(0,1)*

Tabla 1

Jalil J, Lavandero S, Chiong M, Ocaranza MP. Rho/Rho Kinase Signal Transduction Pathway in Cardiovascular Disease and Cardiovascular Remodeling. *Rev Esp Cardiol*. 2005 Aug;58(8):951-961.

Jalil JE, Ocaranza MP, Oliveri C, Cordova S, Godoy I et al. Neutral endopeptidase and angiotensin I converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in humans. *J Hum Hypertens*. 2004 Feb;18(2):119-25.

Ocaranza MP, Diaz-Araya G, Carreno JE, Munoz D, Riveros JP, Jalil JE, Lavandero S. Polymorphism in gene coding for ACE determines different development of myocardial fibrosis in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Feb;286(2):H498-506.

Jalil JE, Palomera C, Ocaranza MP, Godoy I, et al. Levels of plasma angiotensin-(1-7) in patients with hypertension who have the angiotensin-I-converting enzyme deletion/deletion genotype. *Am J Cardiol*. 2003 Sep 15;92(6):749-51.

Colaboradores nacionales

Alumnos y Tesistas: Lorena Reyes, Isabel Gutiérrez, Alfonso Pérez, Paulina Rivera, Juan Tichauer, Felipe Apablaza, Juan Eduardo Carreño

Profesionales y Técnicos: Gabriela Méndez, Maritza Román, Verónica Pantoja, Soledad Véliz, José García.

Colaboradores internacionales

Jean B Michel (Inserm, París),

Javier Diez (U de Navarra, España)

Karl T Weber (USA)

Financiamiento

De toda la Línea desde 1990: FONDECYT 90722: (1990 - 1993), 1930592 (1993 - 1996), 1961065 (1997 - 2000), 1000576 (2000 - 2003), Proyecto ECOS-Conicyt C99S01 (Chile - Francia, 1999 - 2001), Convenio CONICYT - INSERM Unidad 367, París 1995 y 1996.

Actual: FONDECYT 1030181 (2003 - 2007)

Enzima convertidora de angiotensina I homóloga (ECA-2) en la disfunción ventricular izquierda experimental

María Paz Ocaranza J (*), Jorge Jalil M (*), Iván Godoy J (*), Pablo Castro G (*), Guillermo Díaz A (**).

* Laboratorio de Cardiología Molecular, Departamento de Enfermedades Cardiovasculares

** Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Chile

Por largo tiempo se atribuyó un papel central a la enzima convertidora de angiotensina I (ECA) en el sistema renina-angiotensina (SRA, vía clásica) por su generación tanto de angiotensina (Ang) II como en la degradación de bradicininas (BK). Sin embargo, el sistema es más complejo, y se ha encontrado que a la vía clásica se suma ahora una nueva vía, paralela, cuyo principal componente regulador es la enzima convertidora de angiotensina I homóloga (ECA-2, Figura 1). En el sistema cardiovascular, las dos vías enzimáticas del SRA (ECA y ECA-2) parecen determinar un balance

interno entre péptidos vasoconstrictores (Ang II) y vasodilatadores (Ang-(1-7)), lo cual normalmente favorecería la homeostasis cardiovascular. Sin embargo, cuando ocurre un desbalance secundario a un proceso patológico, cambios en las expresiones y/o actividades de ECA y ECA-2 podrían desencadenar el desarrollo de disfunción ventricular.

La mayoría de la información respecto a la participación de la ECA-2 en la función cardíaca ha sido realizada en modelos genéticos o ratones knockout. Sin embargo, faltan estudios que evalúen el rol de ECA-2 en procesos fisiopatológicos

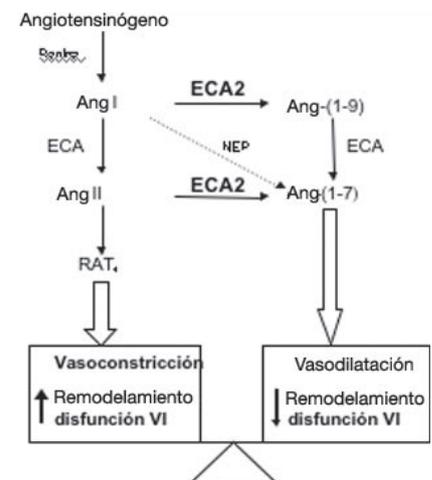


Figura 1

de remodelamiento cardíaco y disfunción ventricular izquierda asociada al desarrollo de insuficiencia cardiaca post infarto al miocardio (IAM), en los cuales la vía clásica del SRA está activa.

Se plantea como hipótesis que: la actividad y expresión de la ECA-2 disminuye en la disfunción ventricular izquierda experimental producida por IAM, lo que se correlaciona con el remodelamiento adverso del miocardio. Estos cambios morfofuncionales del corazón son consecuencia de alteraciones en el balance entre ECA y ECA-2 a nivel circulante y cardíaco. Métodos: se usaron ratas macho Sprague Dawley de 200 ± 10 g peso las cuales se sometieron a ligadura de la arteria coronaria izquierda ($n=29$). Como controles se usaron ratas sham (S, $n=31$). 48 hrs post cirugía, un grupo de ratas (S, IAM) recibió enalapril, inhibidor de la ECA (ENA, 10 mg/kg, gavage). A las 8 semanas post-operatorias se determinó, la función ventricular por ecocardiografía transtorácica bidimensional, las actividades enzimáticas de ECA y de ECA-2 por fluorimetría tanto circulante como en ventrículo izquierdo (VI) y la expresión génica de la ECA-2 por RT-PCR.

En las ratas IAM se observó un \uparrow significativo de la masa relativa y del contenido de proteínas del VI (11% y 200 % de aumento respecto al grupo sham, $p < 0,05$, respectivamente). La masa corporal \downarrow un 5% en el grupo IAM. Sin embargo, no se observaron diferencias en la presión arterial sistólica entre los grupos experimentales. El remodelamiento cardíaco se asoció con un \uparrow en el VI del diámetro de fin de sístole ($5,2 \pm 0,1$ vs $6,6 \pm 0,3$ mm, Sham vs IAM, $p < 0,01$) del diámetro de fin de diástole ($7,4 \pm 0,2$ vs $8,5 \pm 0,2$, respectivamente, $p < 0,01$) y de la actividad de ECA en el VI ($1,3 \pm 0,2$ vs $4,6 \pm 1,0$ U/mg prot, Sham vs IAM, figura 3A). No se observaron diferencias en la actividad de ECA plasmática (figura 2A).

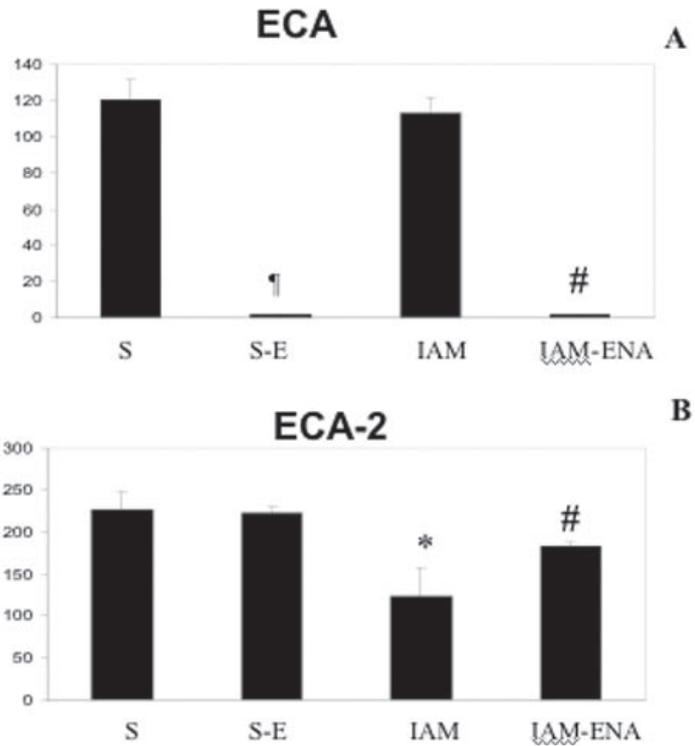


Figura 2: Actividad plasmática

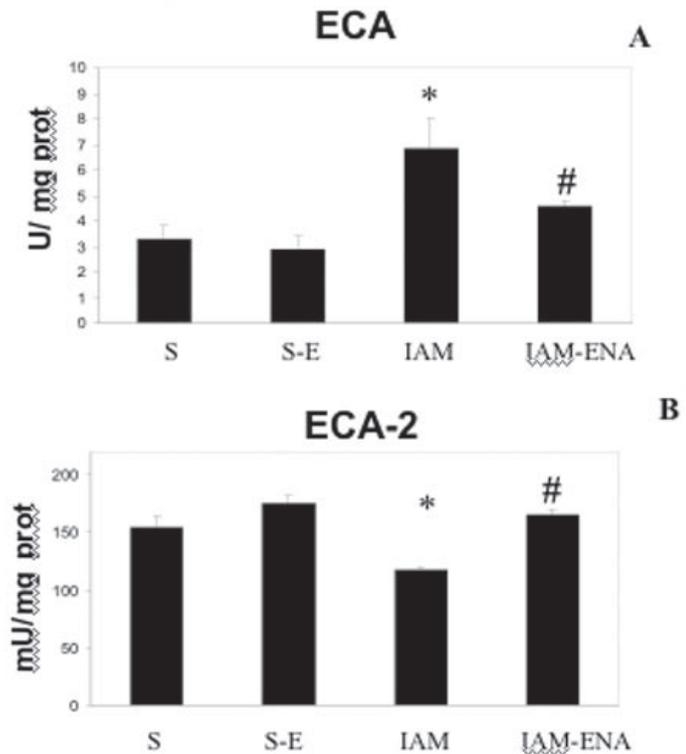


Figura 3: Actividad en VI



Hubo una significativa \downarrow en la fracción de acortamiento (30 ± 3 vs $22 \pm 2\%$, Sham vs IAM), grosor de la pared anterior del VI ($1,5 \pm 0,1$ vs $1,1 \pm 0,1$ mm, Sham vs IAM), actividad en plasma y en VI de la ECA-2 (228 ± 21 vs 120 ± 29 mU/mL y 154 ± 10 vs 119 ± 3 mU/mg prot, Sham vs IAM, respectivamente, figuras 2B y 3B). También se observó \downarrow significativa de los niveles cardíacos de mRNA para ECA-2 ($1,0 \pm 0,1$ vs $0,6 \pm 0,1$, sham vs IAM). El enalapril revirtió la hipertrofia ventricular post IAM (345 ± 11 vs 286 ± 10 , IAM vs IAM-ENA, respectivamente) y la disfunción miocárdica como también los cambios en las actividades de ECA en VI (figura 3A) y ECA-2 en plasma y VI (figuras 2B y 3B). En conclusión en el remodelamiento miocárdico tardío post IAM, se observó una selectiva \downarrow en la expresión y actividad de ECA-2 asociada con disfunción miocárdica, que revierte con ENA. Esta segunda vía del SRA, la ECA-2 puede regular la vía clásica donde la ECA cataliza la formación de Ang II.

Lista de publicaciones

Ocaranza MP, Palomera C, Román M, Chiong M, Lavandero S, J. Jalil. Effect of hypertension on angiotensin-(1-7) levels in rats with different angiotensin-I converting enzyme polymorphism. *Life Sc.* 2005 (aceptado para publicación)

Gálvez A, Fiedler J, Ocaranza M.P, Jalil J, Lavandero S, Díaz-Araya G. "Perindopril regulates beta-agonist-induced cardiac apoptosis". *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2005;46:255-261

Ocaranza MP, Díaz-Araya G, Carreño JE, Muñoz D, Riveros JP, Jalil J, Lavandero S. Polymorphism in the gene coding for angiotensin converting enzyme determines different development of myocardial fibrosis in the rat. *Am. J. Physiol. Heart.*

Circ. Physiol. 2004; 286: H498-506.

Jalil JE, Ocaranza MP, Oliveri C, Córdova S, Godoy I, Chamorro G, Braun S, Fardella C. Neutral endopeptidase and angiotensin I converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in humans. *J. Hum. Hypertens.* 2004;18:119-25

J. Jalil, Palomera C, Ocaranza MP, Godoy I, Román M, Chiong M, Lavandero S. Levels of plasma angiotensin (1-7) in hypertensive patients with the angiotensin-I converting enzyme deletion/deletion genotype. *Am. J. Cardiol.* 2003; 92:749-751.

Ocaranza MP, Diaz-Araya G, Chiong M, Muñoz D, Riveros JP, Ebensperger R, Sabat S, Irarrazaval P, Jalil JE, Lavandero S. Isoproterenol and Angiotensin I-Converting Enzyme in Lung, Left Ventricle, and Plasma During Myocardial Hypertrophy and Fibrosis. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2002; 40:246-254.

Ocaranza MP, Ana M. Piddo, Perla Faúndez, Sergio Lavandero, Jorge E. Jalil. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism influences chronic hypertensive response in the rat Goldblatt model. *J. Hypertension* 2002; 20:413-420

Oliveri C, Ocaranza MP, Campos X, Lavandero S, Jalil J.. Angiotensin I-Converting Enzyme modulates neutral Endopeptidase activity in the rat. *Hypertension* 2001; 38: 650-654.

Colaboradores

Sergio Lavandero G. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile

Financiamiento

Proyecto Investigador Joven, Sociedad Chilena de Cardiología y Cirugía Cardiovascular.

Sociedad Cardiólogos AMICAR Ltda.

Proyecto Fondecyt 1040832

Mecanismos moleculares de regulación de los transportadores de nucleósidos

Luis Sobrevia, Paola Casanello.

Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL)
 Centro de Investigaciones Médicas (CIM)
 Departamento de Obstetrica y Ginecología, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina
 Pontificia Universidad Católica de Chile

En endotelio fetal humano el transporte de nucleósidos es mediado por al menos dos tipos de transportadores de membrana: hENT1 y hENT2 (human Equilibrative Nucleoside Transporters). Estos son codificados por los genes SLC29A1 y SLC29A2, respectivamente, y tienen la función de remover nucleósidos extracelulares en forma independiente de Na⁺. hENT1 y hENT2 tienden a lograr un equilibrio en las concentraciones de nucleósidos intra y extracelulares.

Cualquier condición patológica que altere la expresión y/o actividad de estos transportadores puede llevar a alteraciones en el flujo sanguíneo desde la madre al feto debido a cambios en la concentración extracelular de nucleósidos.

Objetivo

El objetivo de este proyecto es determinar mecanismos moleculares de regulación de la expresión del gen SLC29A1 y SLC29A2 en endotelio de vena umbilical humana (HUVEC).

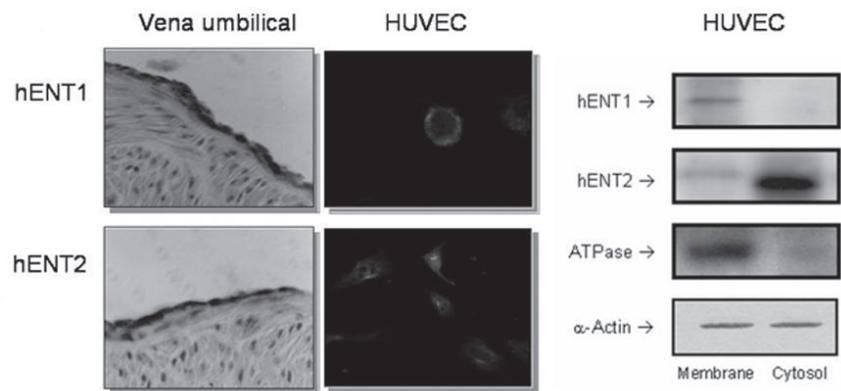


Figura A: Detección de hENTs

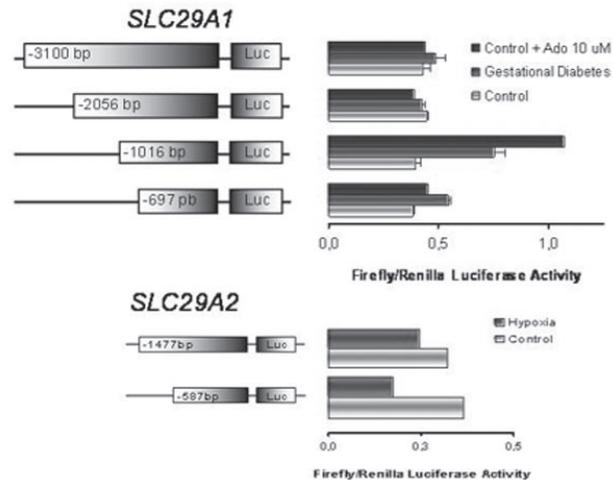


Figura B: Actividad transcripcional de SLC29A1 y SLC29A2



Metodología

En cultivos primarios de HUVEC se determinó la expresión de hENT1 y hENT2 y la actividad de transporte de adenosina. Se determinó los niveles de mRNA, proteína y actividad transcripcional del promotor de SLC29A1 y SLC29A2.

Los resultados demuestran que HUVEC expresan hENT1, de distribución preferente en la membrana plasmática, y hENT2 de distribución preferentemente intracelular (Figura 1A). El número de copias de mRNA para hENT1 disminuye en respuesta a óxido nítrico (NO) endógeno y exógeno, activación de p42/44mapk y proteína quinasa C. Sin embargo, la expresión de hENT2 mRNA no se ve alterada significativamente por NO. La activación de receptores de adenosina A2a disminuye la actividad transcripcional del promotor de SLC29A1 posiblemente debido a la activación de sitios represores en la posición -2056 a -1016 pb (Figura 1B). Sin embargo, este mecanismo no es mediado por NO. La actividad transcripcional del promotor de SLC29A2 está disminuida en respuesta a hipoxia, posiblemente debido a sitios represores en el fragmento hasta -1500 pb.

Conclusiones

Este estudio sugiere regulación pre y post-transcripcional de los transportadores hENT1 y hENT2 en endotelio fetal humano.

Lista de publicaciones

San Martín et al. (2005). Equilibrative nucleoside transporter 1 is down-regulated by activation of A2a adenosine receptors in human umbilical vein endothelium. *Ped Res* (In Press).

Farías et al. (2005). Subcellular distribution of human equilibrative nucleoside

transporter 1 in human umbilical vein endothelium from gestational diabetes. *Placenta* (In Press).

Aguayo et al (2005). Equilibrative nucleoside transporter 2 is expressed in human umbilical vein endothelium, but is not involved in the inhibition of adenosine transport induced by hyperglycaemia. *Placenta* 26, 641-653

Farías et al. (2004). Nitric oxide modulates expression of equilibrative nucleoside transporter 1 in umbilical vein endothelium. *J. Physiol. Biochem.* 61: P39,124.

Vásquez et al. (2004). Role of adenosine transport in gestational diabetes-induced L-arginine transport and nitric oxide synthesis in human umbilical vein endothelium. *J Physiol* 560, 111-122.

Mann et al. (2003). Regulation of amino acid and glucose transporters in endothelial and smooth muscle cells. *Physiol Rev* 83, 183-252.

Sobrevia & Mann (1997). Dysfunction of the endothelial nitric oxide signalling pathway in diabetes and hyperglycaemia. *Exp Physiol* 82, 423-452.

Sobrevia et al. (1994). Adenosine transport in cultured human umbilical vein endothelial cells is reduced in diabetes. *Am J Physiol* 267, C39-C47

Colaboradores nacionales

Marcelo Farías, Marcelo González, Carlos Escudero, Rodrigo Vásquez, Victoria Gallardo, Francisco Minaya, Felipe Sanhueza, Alberto Torres, Julián Varas, Gonzalo Muñoz, Luis Cea, Carlos Puebla, Catalina Prieto, Rody San Martín, Andrea Vecchiola.

Agradecimientos

Personal del Hospital Clínico Pontificia Universidad Católica de Chile, y Hospital Luis Tisné Brousse

Colaboradores Internacionales

Marçal Pastor-Anglada (Universitat de Barcelona, España)

Xavier Casado (Universitat de Barcelona, España)

Jeremy D Pearson (King's College London, University of London, Inglaterra)

Financiamiento

FONDECYT 1030781 / 1030607 / 7030004 / 7050030

CONICYT (Chile)

Wellcome Trust (Inglaterra)

AECI (España)

Fulbright Commission (USA)

Universitat de Barcelona (España)

King's College London (Inglaterra)

Pontificia Universidad Católica

Diabetes gestacional y la ruta ALANO en endotelio fetal humano

Luis Sobrevia, Paola Casanello.

Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL)
Centro de Investigaciones Médicas (CIM)
Departamento de Obstetrica y Ginecología
Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

Diabetes gestacional es un síndrome que se asocia con disfunción endotelial fetal, habiéndose caracterizado aumento del transporte de L-arginina y la síntesis de óxido nítrico (NO) en endotelio de vena umbilical humana (HUVEC). Diabetes gestacional también se asocia con disminución del transporte y metabolismo de adenosina, un nucleósido endógeno que induce vasodilatación en la mayoría de los lechos vasculares mediante la activación de receptores purinérgicos A_{2a}.

Objetivo

Determinar si el efecto de diabetes gestacional sobre el transporte de adenosina y el transporte de L-arginina y la síntesis de NO están relacionados en endotelio de vena umbilical humana (HUVEC).

Metodología

En cultivos primarios de HUVEC de embarazos normales o embarazos con diabetes gestacional se determina la expresión y actividad de transportadores de adenosina (hENT1 y hENT2) y L-

arginina (hCAT-1 y hCAT-2B), y de la sintasa de NO endotelial (eNOS). Se determina número de copias de mRNA, abundancia de proteína, y se mide la actividad transcripcional del promotor de SLC29A1 (hENT1).

Resultados

Diabetes gestacional se asocia con: (i) disminución (~50%) de la capacidad de transporte (V_{max}/K_m) de adenosina vía hENT1, (ii) menor número de sitios de ligamen para adenosina (de 1.4 a 0.9 $\times 10^6$ transportadores por célula), (iii) aumento de la concentración extracelular de adenosina (de 0.04 a 2 μM), (iv) menor (~45%) actividad de adenosina kinasa, (v) menor número de copias de mRNA para hENT1, (vi) menor abundancia de proteína hENT1 en la membrana plasmática, (vii) aumento de V_{max}/K_m de L-arginina vía hCAT-1, (viii) aumento de la actividad y expresión de eNOS. Estos efectos de diabetes gestacional son bloqueados por antagonistas de receptores purinérgicos A_{2a}, o por inhibidores de eNOS, proteína kinasa C y ERK1/2. Diabetes gestacional también se asocia

con menor actividad transcripcional del promotor de SLC29A1.

Conclusiones

Diabetes gestacional aumenta el transporte de L-arginina y síntesis de NO producto de la activación de receptores A_{2a} debido a una disminución del transporte y metabolismo de adenosina en endotelio fetal humano. Esta ruta ha sido denominada ALANO (Adenosine / L-Arginine / Nitric Oxide).

Lista de publicaciones

San Martín R, Sobrevia L. (2006). Gestational diabetes and the Adenosine/L-Arginine/Nitric Oxide (ALANO) pathway in human umbilical vein endothelium. Placenta (In Press).

Aguayo et al. (2005). Equilibrative nucleoside transporter 2 is expressed in human umbilical vein endothelium, but is not involved in the inhibition of adenosine transport induced by hyperglycaemia. Placenta 26, 641-653.

Vásquez et al. (2004). Role of adenosine

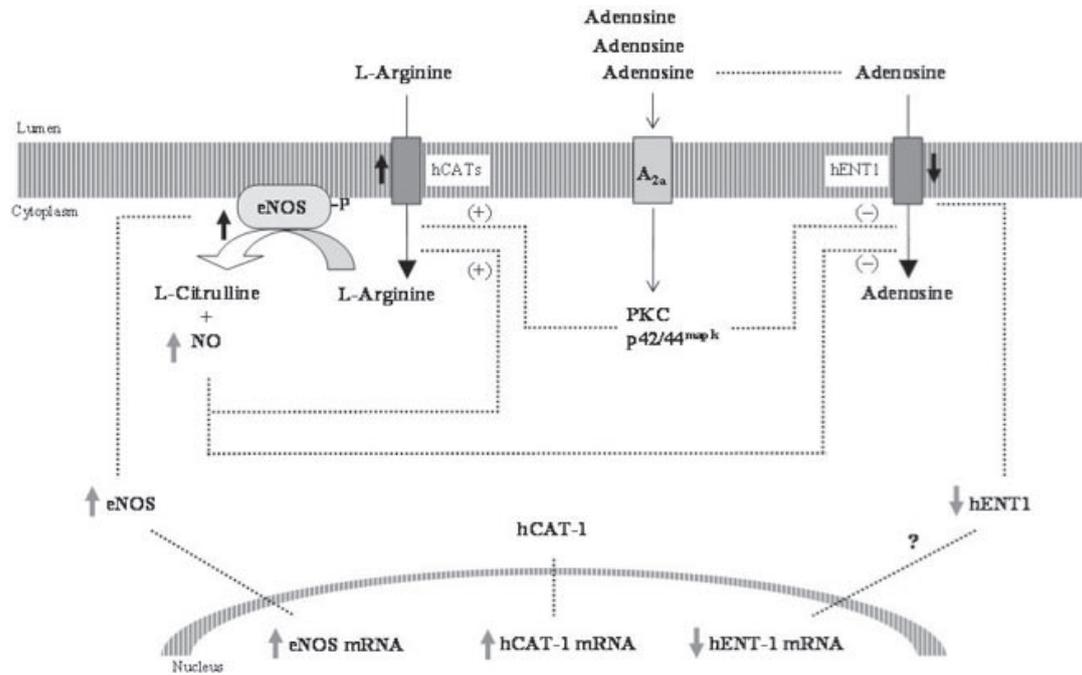


Figura : Ruta ALANO en endotelio de vena umbilical humana. Alano es definida por una secuencia de procesos que involucra mecanismos de señalización a nivel de membrana, citosol y nuclear: Adenosine / L-Arginine / Nitric Oxide'

transport in gestational diabetes-induced L-arginine transport and nitric oxide synthesis in human umbilical vein endothelium. *J Physiol* 560, 111-122.

Wyatt et al. (2002). Early activation of the p42/p44MAPK pathway mediates adenosine-induced nitric oxide production in human endothelial cells: a novel calcium-insensitive mechanism. *FASEB J* 16, 1584-1594.

Sobrevia L, Mann GE (1997). Dysfunction of the endothelial nitric oxide signalling pathway in diabetes and hyperglycaemia. *Exp Physiol* 82, 423-452.

Sobrevia et al. (1995). Diabetes-induced activation of system γ^+ and nitric oxide synthase in human endothelial cells: association with membrane hyperpolarization. *J Physiol* 489, 183-192.

Sobrevia et al. (1994). Adenosine transport in cultured human umbilical vein

endothelial cells is reduced in diabetes. *Am J Physiol* 267, C39-C47

Colaboradores

Marcelo Farías, Marcelo González, Carlos Escudero, Rodrigo Vásquez, Victoria Gallardo, Francisco Minaya, Felipe Sanhueza, Alberto Torres, Julián Varas, Gonzalo Muñoz, Luis Cea, Carlos Puebla, Catalina Prieto, Rody San Martín, Andrea Vecchiola.

Agradecimientos

Personal del Hospital Clínico Pontificia Universidad Católica de Chile y Hospital Luis Tisné Brousse

Colaboradores Internacionales

Marçal Pastor-Anglada (Universitat de Barcelona, España)

Jeremy D Pearson (King's College London, University of London, Inglaterra)

Giovanni E Mann (King's College London, University of London, Inglaterra)

Carol MacLeod (University of California at San Diego, USA)

Financiamiento

FONDECYT 1030781 / 1030607 / 7030004 / 7050030

CONICYT (Chile)

Wellcome Trust (Inglaterra)

AECI (España)

Fulbright Commission (USA)

Universitat de Barcelona (España)

King's College London (Inglaterra)

Pontificia Universidad Católica de Chile

Obtención, Cultivo y Diferenciación in vitro de Células Madres Mesenquimáticas a Línea Condroidea.

Dr. Rodrigo Mardones P. (*, **), Dr. Rafael Martínez F.(**, ***)

Laboratorio de Ingeniería en Tejidos aplicada a Ortopedia y Traumatología (L.I.T.O.T).

* Departamento de Ortopedia y Traumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

** Programa Doctorado en Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

*** Laboratorio de Ingeniería en Tejidos aplicada a Ortopedia y Traumatología (L.I.T.O.T).

Introducción

La artrosis es la causa más frecuente de incapacidad en mayores de 18 años en los países desarrollados. Se asocia a la degeneración del cartílago hialino de las articulaciones afectadas, produciendo dolor y pérdida de actividad en el individuo. Desafortunadamente este cartílago tiene una limitada capacidad de regeneración. Dado esto investigadores clínicos y básicos han probado diversos procedimientos tendientes a lograr su regeneración: microfractura, trasplante de condrocitos o tejidos que contengan precursores de condrocitos y recientemente de células madres mesenquimáticas (mesenchymal stem cells, MSCs). Las MSCs se han convertido en una fuente atractiva de reparación de cartílago articular por su accesibilidad desde diversas fuentes y ser inducibles a diferenciación condral.

Objetivo

Obtener, cultivar y diferenciar in vitro MSCs de médula ósea a línea condroidea.

Materiales y métodos

Mediante punción de cresta ilíaca de conejos New Zealand se obtuvieron muestras de médula ósea (Fig. 1).

Por centrifugación diferencial se obtuvo una fracción enriquecida de células mononucleares que luego se cultivaron en medio condicionado. Al alcanzar confluencia de 70% (Fig. 2) se procedió a la formación de un pellet celular para cultivar tridimensional en medio condicionado (TGF- β 1) tendiente a obtener diferenciación a línea condroidea. Se evaluó: cantidad de muestra obtenida, eficiencia, tiempo de confluencia de los cultivos primarios y calidad de la diferenciación (score histológico-histoquímico).

Resultados

Se obtuvo un promedio de 14.5 ml por punción, una eficiencia de los cultivos de 80%, tiempo promedio de confluencia (70%) de 18 días. El cultivo diferenciador tuvo una eficiencia de 80% y una calidad de diferenciación óptima (Fig. 3).

Conclusiones

El cultivo de MSC de médula ósea es una técnica reproducible y mediante estímulos adecuados es posible la obtención in vitro de células condroideas. Este modelo permite estudiar el proceso de diferenciación condral y podría tener aplicación clínica directa en la reparación de lesiones osteocondrales.

Lista de publicaciones

Development of a Biological Prosthetic Composite for Cartilage Repair. Mardones R, Fitzsimmons J, et al. Tissue Engineering. 2005. 9/10; 1368-1378.

Short Term Exposure to TGF- β 1 Induces Chondrogenic Differentiation of Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells in a Comparable Manner to Long-term TGF- β 1 Treatment. Mardones R, Fitzsimmons J, et al. 5th Symposium of ICRS. 2004.

Biomechanical properties of a biologic prosthetic composite for cartilage repair. Mardones, R, Reinholz, G, et al. 52nd Annual Meeting of the Orthopaedic



Figura 1: Toma de muestra de médula ósea (conejo New Zealand, 2 meses de edad)

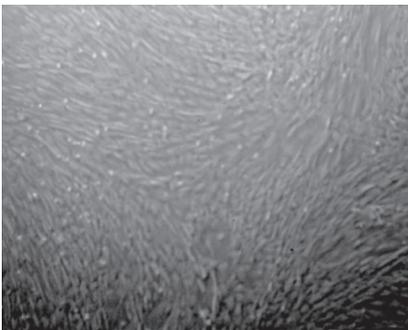


Figura 2: Confluencia de 80% de células MSC después de 15 días de cultivo expansivo. Aumento 40X.

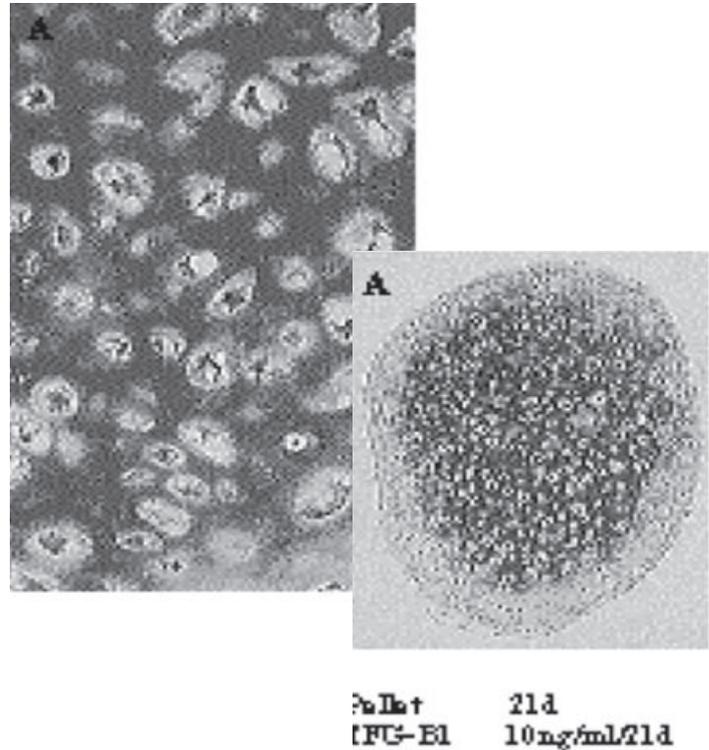


Figura 3: Tinción de Safranin - O mostrando diferenciación condrogénica de MSCs de médula ósea en cultivos de 21 días.

Research Society. 2003.

Obtención y Cultivo de Células Mesenquimatosas Pluripotenciales mediante Aspiración de Médula Ósea. Una Técnica Reproducible. Mardones R, Carrión M, et al. Rev Ch Ort y Trau. 2003. 44; 2: 90-96.

Reparación de lesiones osteocondrales inducidas en cabeza femoral de perro mediante el uso de cultivo de condrocitos. Mardones R, Figueroa D, et al. Rev Ch Ort Trau. 2002. 4; 33: 153-164.

Cartílago Normal y Patológico. Mardones R, Figueroa D. Rev Ch Ort Trau. 2001. 42; 2: 91-99.

Alternativas Tratamiento de Lesiones de Cartílago Articular. Figueroa D, Mardones R. Rev Ch Ort Trau. 2001. 42; 1: 46-52

Colaboradores nacionales

Dr. Jorge Filippi N. (*), Dr. Pablo Mery P (*), Bqca. Claudia Araya O. (^), Dr. Marco Carrión M. (*), Dr. Jorge Garrido N(^).

*: Departamento de Ortopedia y Traumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

^: Laboratorio de Histología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Colaboradores internacionales

Gregory Reinholz, MD. Cartilage & Connective Tissue Research, Department of Orthopedics, Mayo Clinic

Financiamiento

Centro de Investigaciones Médicas (CIM), Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

División de Cirugía, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Genes de reparación y supresores en cánceres urológicos.

Dr. Alfredo Velasco

Departamento de Urología.
División de Cirugía.

Genes de reparación

Los cánceres Urológicos son altamente prevalentes y los mecanismos involucrados en su oncogénesis no son conocidos. La transmisión completa y sin errores de la información genética es la base de la supervivencia y perpetuación de la célula, los organismos y las especies. Las células tienen incorporados un gran número de mecanismos que aseguran la transmisión fiel del material genético de una generación celular a la siguiente evitando la aparición de genotipos que puedan ser perjudiciales para el organismo. La mejor vía de reparación descrita actualmente es a través de los genes de reparación del sistema del mismatch repair genes.

El primer objetivo de nuestro trabajo fue caracterizar el rol de los genes de reparación (MMR) y la frecuencia de Inestabilidad microsátélite (MSI) en los tumores urológicos más prevalentes.

En Cáncer Prostático: Encontramos que existen mutaciones puntuales del hMSH2 en cultivos celulares de cánceres prostáticos, esta mutación se encontró presente en las líneas celulares más indiferenciadas (LnCap) demostrando el importante rol que también tienen estos genes en las primeras etapas de la

tumorogénesis, y que los MMR pierden su rol en los estadios más avanzados o en tumores indiferenciados.

Posteriormente demostramos que el gen hMSH2, se expresa en diferentes formas en el tejido prostático (benigno vs maligno) siendo más frecuente la mutación de los genes de reparación en los cánceres ($p < 0.05$). Así también encontramos un 35% de MSI en este cáncer. Por último demostramos que no existe relación entre los parámetros moleculares (MSI y Expresión de hMSH2), con los patrones histológicos clásicos de diferenciación celular. Para correlacionar estas variables moleculares con criterios clínicos objetivos realizamos un seguimiento de 150 pacientes con cáncer prostático sometidos a cirugía radical.

Observamos que la evolución clínica fue diferente según el grado de mutación de los genes de reparación, siendo esta más adversa cuando existía mutación de MMR o cuando existía una alta prevalencia de MSI. Los pacientes con mutación de los genes de reparación o MSI tienen mayor frecuencia de recidiva tumoral y muerte cáncer específica. ($p < 0.05$)

En Cáncer Testicular: Estudiamos una serie de 162 pacientes demostrando que

existen diferentes grados de expresión de hMLH1 y hMSH2 entre las células normales y tumorales. Concluimos que los estadios avanzados tienen una menor expresión de los genes de reparación. La recurrencia tumoral presentó una relación directa con el grado de expresión de los genes. La baja expresión de los MMR se correlaciona con una mayor mortalidad cáncer específica ($p < 0.05$). La recurrencia tumoral se correlacionó con la mutación de hMLH1 y la muerte cáncer específica se correlacionó con la mutación de hMSH2 ($p < 0.05$)

Metilación en cáncer testicular

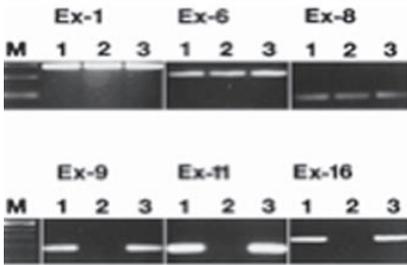
La metilación es un mecanismo conocido de inactivación de genes, que afecta tanto a genes de reparación como genes supresores. La metilación es la incorporación de un grupo metilo en el carbono 5 de la citosina (5-metil-citosina) cuando forma parte del dinucleótido CpG. Estos dinucleótidos CpG están generalmente en las regiones promotoras o de inicio de la transcripción, por lo que la metilación de secuencias CpG es un mecanismo de regulación de la expresión génica.

El segundo objetivo fue lograr caracterizar el papel de la metilación como mecanismo

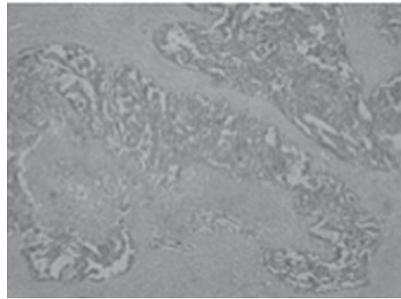


	BRCA	DAPK	hMLH1	MGMT	P16	FHIT	TIMP3	APC	P14	E-cad	Sar-beta	ER	Socs-1	p73	p15	Cc1p
TOTAL	33/63	20/63	3/63	33/63	27/63	38/63	1/63	3/63	8/63	2/63	2/63	0/63	0/63	2/63	5/64	0/63
% Metación	84%	31%	4.70%	52%	42%	89.80%	1.50%	4.76%	9.50%	3.1%	3.1%	0.00%	0%	3.1%	7.9%	%

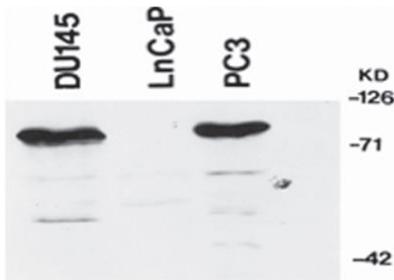
Análisis de metilación en cáncer testicular



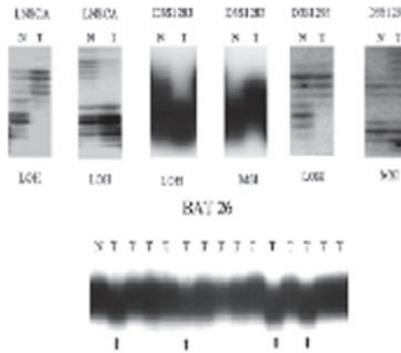
Análisis PCR exones de hMSH2 en L nCap de cáncer prostático



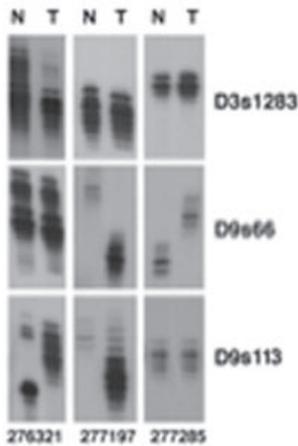
IHQ de hMSH2 en cáncer testicular



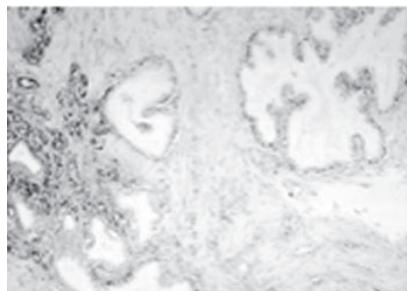
Western blot de hMSH2 en líneas celulares de cáncer prostático



Análisis de MSI y LOH en cáncer testicular



Análisis de MSI en casos de cáncer prostático



IHQ de hMSH2 en cáncer de próstata y glándulas normales

de inactivación de genes supresores y genes de reparación en la patogénesis del cáncer de testículo.

Hemos estudiado un panel de 16 genes en 63 casos demostrando que existe una frecuencia de metilación variable (0% a 88%). Observamos una alta frecuencia de metilación de algunos genes (BRCA y FHIT). Los genes de reparación presentan metilación variable MGMT (52%) Y hMLH1 (4.7%).

Nuestro tercer objetivo es lograr ampliar el panel de genes para buscar un patrón de predicción en muestras de sangre y semen.

Lista de publicaciones

THE MISMATCH REPAIR GENE hMSH2 IS MUTATED IN THE PROSTATE CANCER CELL LINE LNCaP.

Journal of Urology. 164: 1830-1833,2000. Leach FS; Velasco A; Hsieh JT; Sagalowsky AI, Mc Connell JD.

DIFERENTIAL EXPRESSION OF MISMATCH REPAIR GENE. hMSH2 IN MALIGNANT PROSTATE TISSUE IS ASSOCIATED WITH CANCER RECURRENCE. Cancer. 1:94(3):690-609,2002.

Velasco A; Hewitt S.M; Albert P.S; Hossein M; Rosemberg H, Martinez C; Sagalowsky A.I;Mc Connell J.D; Linehan M.W, Leach F.

CLINICOPATHOLOGIC IMPLICATIONS OF HMSH2 GENE EXPRESSION AND

MICROSATELLITE INSTABILITY IN PROSTATE CANCER. Cancer Biol Ther. 1(4):362-367, 2002 Velasco A; Alberts PS; Rosenberg H; Martinez C; Leach FS.

COMPARISION OF SNAP FREEZING VERSUS ETHANOL FIXATION FOR GENE EXPRESSION PROFILING OF TISSUE SPECIMENS. J.Mol.Diag. 6(4):371-377,2004.

Perimuter M; Best C; Guillespie J; Gonzalez S; Velasco A.

MISMATCH REPAIR GENE EXPRESSION AND GENETIC INSTABILITY IN TESTICULAR GERM CELL TUMOR. Cancer Biol Ther. 2004. 3(10):977-82. Velasco, Riquelme, Schultz, Wistuba et al

MICROSATELLITE INSTABILITY AND LOSS OF HETEROZIGOSITY HAVE DISTINCT PROGNOSTIC VALUE FOR TESTICULAR TUMOR RECURRENCE. Cancer Biol Ther. 3(11):1152-1158, 2004. Velasco, Riquelme, Schultz, Wistuba, Villarroel, Moon Leach.

A N A L I S I S INMUNOHISTOQUIMICO Y MOLECULAR DE LOS GENES DE REPARACION EN CANCER TESTICULAR. Actas Urol Esp. 2: 198-206, 2005. Velasco A, Riquelme E, Schulze M, Villarroel L, Leach F.

MISMATCH REPAIR GENES EN CANCER DE TESTICULO. Rev Chil Urol. 68(2):150-155, 2003. Velasco A; Pizarro J; Berlin A; Wistuba

ANALISIS MOLECULAR DE LOS GENES DE REPARACION EN CANCER TESTICULAR. Rev Chil Urol. 68(3):299-304, 2003. Velasco A,

Pizarro J, Berlin A, Wistuba, Villarroel, Leach A.

A N A L I S I S INMUNOHISTOQUIMICO DE LOS GENES DE REPARACION EN CANCER TESTICULAR. Rev Chil Urol. 68(3):289-298, 2003. Velasco A, Pizarro J, Berlin A, Wistuba, Villarroel, Leach A.

ALELOTIPIFICACION EN CANCER DE TESTICULO. Rev Chil Urol. 69(3):225, 2004. Velasco A, Riquelme E, Zúñiga A, Berlin A, Pizarro J.

Colaboradores nacionales

Técnologo: Erick Riquelme

Becados: Alvaro Zúñiga; José Antonio

Salvadó; Ignacio San Francisco.

Alumnos: Alejandro Berlin; Javier Pizarro; Alejandro Majerson.

Colaboradores internacionales

Dr. PhD. Frederick S. Leach. Scott Department of Urology. Baylor College of Medicine.

Dr. Marsthon Linehan. Urology Oncology Branch. NIH. NCI.

Financiamiento

FELLOWSHIP TRAINING GRANT T32-CA66187-01A1, NATIONAL CANCER INSTITUTE, NIH

DIPUC 3811-011.

FONDECYT 1020695.

DIPUC 2005-P05.

Prevención del daño crónico del injerto secundario a Isquemia-Reperfusión

Pablo Troncoso C (*), Mireya Ortiz M (**), Javier Domínguez C (*).

*Departamentos de Urología

**Nefrología 2

***Laboratorio de Cirugía Experimental

El daño crónico del injerto (DCI) en trasplante renal es la causa principal de pérdida de riñones en el largo plazo y se caracteriza por fibrosis intersticial y glomerular, atrofia tubular e hiperplasia obliterante de la intima arterial. No existen tratamientos efectivos para esta condición y el desarrollo de métodos que permitan prevenirlo constituye un área de investigación muy relevante.

Los episodios de rechazo agudo han sido reconocidos como uno de los factores más importantes en el desarrollo de DCI, estimulando la presencia de infiltrado inflamatorio en el injerto con secreción de citoquinas y factores de crecimiento que favorecen la fibrosis y el daño histológico. Sin embargo, la aparición de nuevas drogas inmunosupresoras, que han logrado disminuir significativamente la incidencia de rechazo agudo no han reducido la frecuencia de DCI. Por otra parte, numerosa evidencia señala que la isquemia inicial que afecta al injerto durante el procuramiento y la implantación constituye un elemento determinante de DCI. La isquemia es uno de los promotores principales de daño endotelial y un potente estímulo para la

migración de leucocitos hacia el tejido afectado.

En un primer proyecto demostramos que el uso de FTY 720 y oligonucleótidos antisentido de ICAM-1 (Oligos), dos inhibidores de la migración e infiltración leucocitaria, utilizados en forma aislada y en combinación, permitió proteger en forma efectiva al riñón del deterioro agudo secundario a isquemia (1,2).

El proyecto actual evaluó el impacto de esta estrategia en el deterioro del injerto en el largo plazo.

Para esto se utilizó un modelo de trasplante renal en ratas de la misma cepa, en el cual no se produce rechazo agudo, y que permite el estudio del efecto puro de la isquemia (Fig 1) (3). En este modelo el uso de FTY y Oligos se relacionó a un efecto protector de la función del riñón trasplantado a las 36 semanas de observación, evaluado por Clearance de Creatinina, Velocidad de Filtración Glomerular y el grado de pérdida de proteínas en orina de 24 horas (Figs 2 & 3). Los análisis histológicos de los riñones trasplantados mostraron una arquitectura mejor conservada y con menos fibrosis en

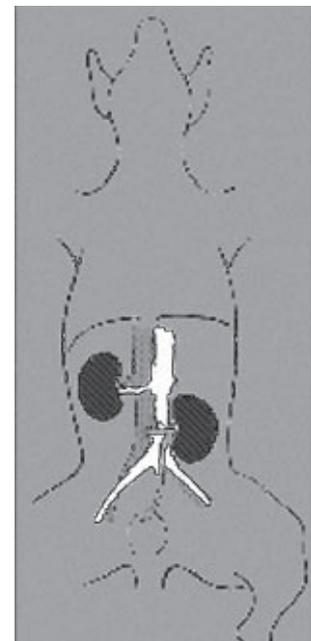


Figura 1: Modelo experimental

Trasplante renal en ratas Lewis
Nefrectomía derecha 1 semana posttrasplante

Oligonucleótidos CAM-1 (2mg/kg) perfusión -
FTY 720 (1mg/kg) pre-reperfusión

Control diario 1 semana, 12 & 36 semanas
posttrasplante

- Creatinina & Clearance de creatinina
- Clearance de Inulina
- Proteinuria 24 horas
- Estudio histológico (Banff 97)

los animales tratados expresados por el score de Banff 97 (a mayor score mayor daño histológico crónico) (Fig 4).

La presión arterial se elevó en el seguimiento, aunque no se observaron diferencias importantes en los animales con o sin tratamiento. Tampoco pudimos demostrar diferencia en el grado de infiltración de células inflamatorias en los diferentes grupos experimentales (4).

En conclusión, en este modelo los agentes utilizados permitieron atenuar en el riñón trasplantado el daño funcional e histológico secundario a la isquemia en el largo plazo

Lista de publicaciones

P. Troncoso, A.M. Ortiz, L. Martínez, and B.D. Kahan:

FTY 720 Prevents Ischemic Reperfusion Damage in rat kidneys. *Transplantation Proceedings*, 33, 857-859 (2001)

P. Troncoso, A.M. Ortiz and B.D. Kahan: Prevention of ischemia-reperfusion injury using FTY 720 in combination with ICAM-1 antisense oligonucleotides.

Transplantation, 74(4), 390 (2002)

A.M. Ortiz, P. Troncoso, and B.D. Kahan: Prevention of Renal Ischemic Reperfusion Injury Using FTY 720 and ICAM-1 Antisense Oligonucleotides.

Transplantation Proceedings, 35, 1571-1574 (2003)

P. Troncoso, A.M. Ortiz, J. Domínguez and B.D. Kahan: Use of FTY 720 and ICAM-1 Antisense Oligonucleotides for Attenuating Chronic Renal Damage secondary to Ischemia-Reperfusion

Injury: Transplantation Proceedings, in press (2005)

Colaboradores nacionales

Sergio Moreno F(*)

Antonio Alfaro Z(***)

Colaboradores internacionales

Barry D. Kahan

Division of Immunology and Organ Transplantation UT, Houston, Texas.

Financiamiento

FONDECYT 1990509

FONDECYT 1030385

Fondos de Investigación División de Cirugía Facultad de Medicina P. Universidad Católica de Chile

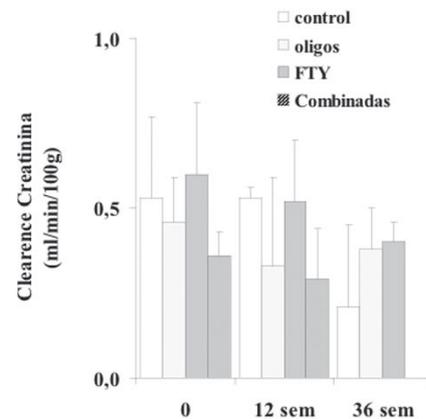


Figura 2

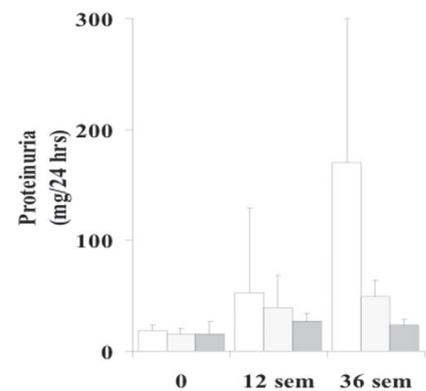


Figura 3

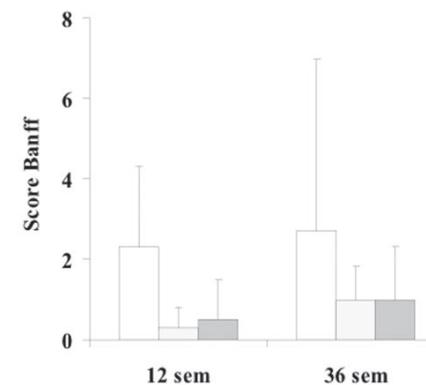


Figura 4



Enfermedad de Alzheimer: La glía y los mecanismos moduladores de la inflamación

Rommy von Bernhardt M., Gigliola Ramírez, Rodrigo Alarcón A., Rodrigo Herrera-Molina, Katherine Saud L., Carolina Fuenzalida.

Laboratorio de Neurociencia. Departamento de Neurología

La patogenia de la Enfermedad de Alzheimer (EA) se asocia al envejecimiento y a la existencia de condiciones inflamatorias. Evidencias recientes sugieren que el deterioro cognitivo no se debe sólo a neurodegeneración, sino también a procesos agudos potencialmente factibles de revertir. Nosotros proponemos que la disfunción glial sería el evento patogénico subyacente a la disfunción neuronal y a acumulación de Ab. La glía contribuiría al proceso inflamatorio responsable de la alteración neuronal favoreciendo la neurodegeneración a largo plazo. Observamos que la microglía expuesta a Ab induce apoptosis neuronal, la cual es inhibida en presencia de astrocitos; sugiriendo que el daño podría depender del Ab, o ser secundario a la activación microglial. La microglía activada, produce grandes cantidades de citoquinas, IL-1b y TNFa, que propagarían y perpetuarían la inflamación, pero que sería inhibido por factores producidos por astrocitos y neuronas (Fig. 1). Nuestros objetivos son: i) Evaluar el efecto de la inflamación sobre la reactividad glial y la función neuronal. ii) Identificar factores solubles citotóxicos o protectores producidos por la glía (Fig. 2).

iii) Evaluar cambios en la expresión y función de receptores Scavenger asociados a inflamación y envejecimiento (Fig. 3). iv) Evaluar la activación de vías de transducción de señales secundarias a la exposición a condiciones inflamatorias (Fig. 1) y Ab. v) Estudiar el efecto de la hipoxia y acidosis sobre la reactividad al Ab y su citotoxicidad. vi) Evaluar cambios en eficacia sináptica en condiciones pro-inflamatorias con el propósito de evidenciar alteraciones tempranas de la función neuronal. Proponemos que la conjugación de condicionantes subyacentes al envejecimiento: hipoxia/acidosis, estrés oxidativo y factores inflamatorios, generan una condición funcional propicia para que insultos adicionales desencadenen la disfunción y daño neuronal observados en la EA. Postulamos que la edad y la exposición a factores pro- o anti-inflamatorios modifica la activación glial a nivel de las vías de transducción, en la expresión de receptores de superficie, la respuesta efectora celular o su actividad inductora de disfunción neuronal. La identificación de mecanismos de mediación de daño glial en la respuesta inflamatoria, y su

regulación durante el envejecimiento nos permitirá asociarlos con los eventos patogénicos de la EA.

Lista de publicaciones

1. Saud, K., Herrera-Molina, R., von Bernhardt, R. (2005) Pro- and anti-inflammatory cytokines regulate the ERK pathway: implication of the timing for the activation of microglial cells. *Neurotoxicity Research*. In press.
2. Alarcón R, Fuenzalida C, Santibañez M, von Bernhardt R. (2005) Expression of Scavenger Receptors in glial cells: Comparing the adhesion of astrocytes and microglia from neonatal rats to surface-bound b-amyloid. *JBC*. 280: 30406-30415. (Fig. 3)
3. Herrera-Molina, R., von Bernhardt, R. (2005) Transforming growth factor- β 1 produced by hippocampal cells modulates glial reactivity in culture. *Neurobiol Disease* 19: 229-236. (Fig. 2)
4. Ramírez, G., Toro, R., Döbeli, H., von Bernhardt, R. (2005) Protection of rat primary hippocampal cultures from AB cytotoxicity by pro-inflammatory

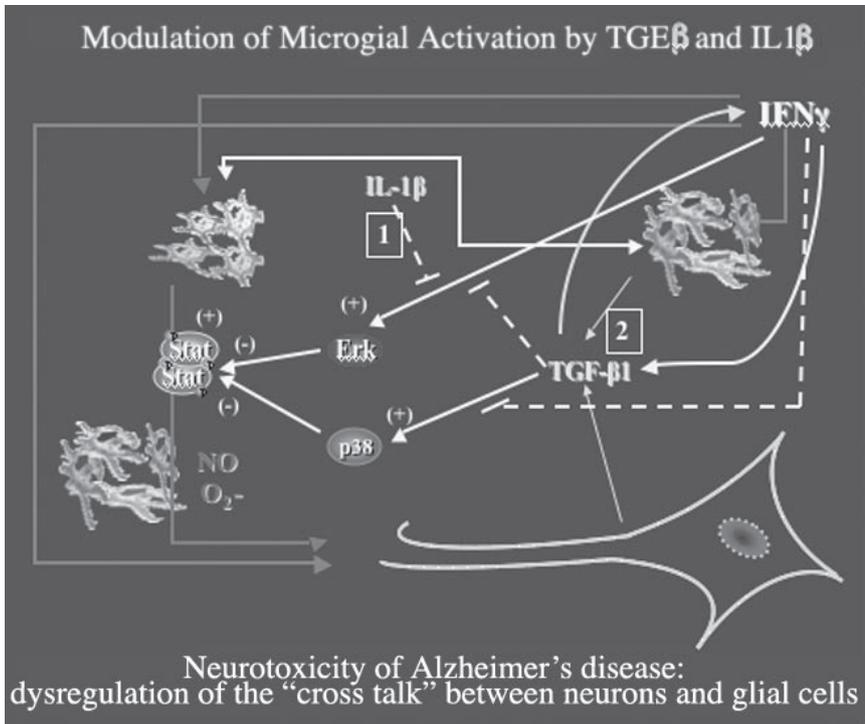


Figura 1

molecules is mediated by astrocytes. *Neurobiol Disease* 19: 243-254.

5. von Bernhardi, R., Alarcón, R., Mezzano, D., Fuentes, P. Inestrosa, NC. (2005) Blood cells cholinesterase activity in early stage Alzheimer's disease and other dementias. *Dementia and geriatric cognitive disorders* 19: 204-212.

6. von Bernhardi R., Eugenín, J. (2004) Microglia – astrocyte interaction in Alzheimer's disease: modulation of cell reactivity to Aβ. *Brain Res.* 1025: 186-193.

Colaboradores

Bárbara Godoy, Alejandra Morales F., Juan José Saez O., Cristóbal Sanhueza C., Reinaldo Uribe SM

Financiamiento

FONDECYT 1040838

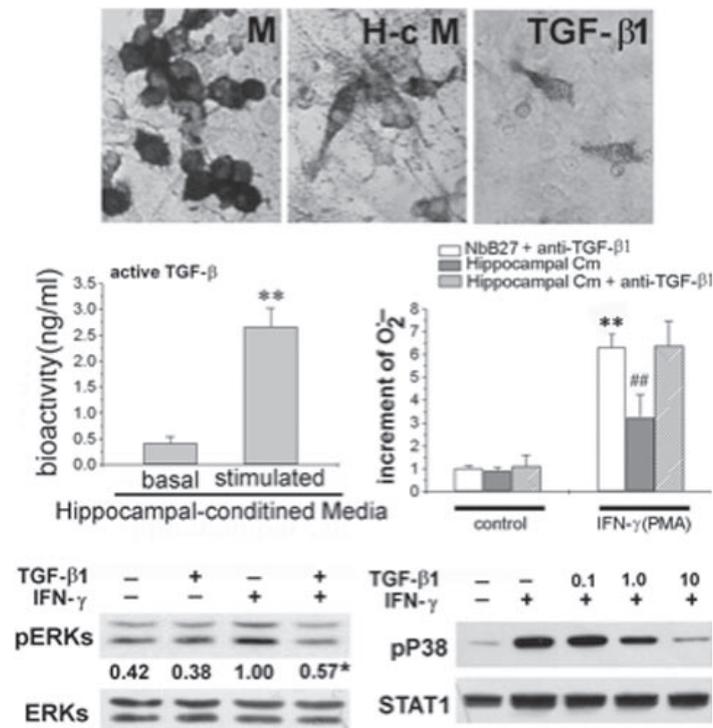


Figura 2

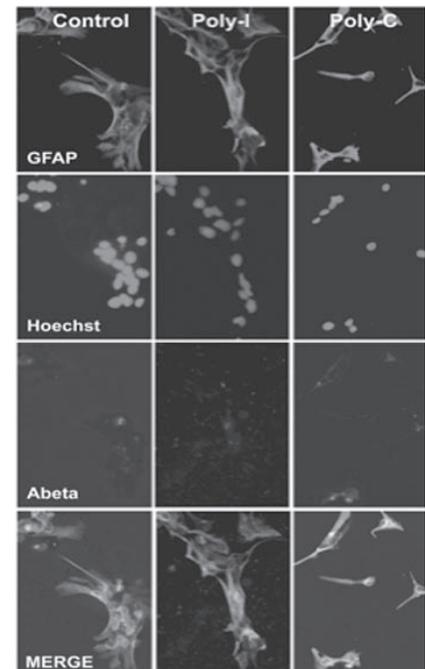


Figura 3

Estudios Electrofisiológicos en Neurociencias Cognitivas

Francisco Aboitiz D. (*), Ximena Carrasco Ch. (**), Diego Cosmelli. (*), Carlos Carmona (*), Loreta Bernucci (***), Enzo Brunetti (***), Pablo Gaspar R. (*), Marcela Henríquez (*), Daniela Huerta (*), Javier López C. (*), Vladimir López H. (*), Luz María Muñoz (***), Rodrigo Ortega J. (*), Paula Rothhammer (*), Francisco Zamorano M. (*)

* Laboratorio de Neurociencia, Departamento de Psiquiatría

** Hospital Calvo Mackenna, Universidad de Chile

*** Programa de Doctorado, Universidad de Chile

La Electroencefalografía Digital de alta densidad (EEG) (Figura 1), se ha convertido en una de las herramientas más utilizadas para el estudio de la cognición humana y sus alteraciones. El desarrollo de nuevos y más potentes métodos de análisis, así como la posibilidad de su integración con técnicas de neuroimagen funcional, la convierten en una de las alternativas con mayor relación costo / beneficio.

A partir del registro EEG de superficie, es posible realizar dos dominios de análisis. En el primer dominio, temporal, utilizamos la técnica de Potenciales Relacionados a Eventos Cognitivos (ERP) (Figura 2, panel inferior). Algunos de los procesos cognitivos más estudiados han sido la Atención Visuo-espacial, la Integración atencional multimodal, y el sistema de detección de conflictos. En este contexto, hemos estudiado la Atención y sus alteraciones en niños con Síndrome de Déficit Atencional e Hiperactividad, Síndrome de Williams, esquizofrenia, Depresión, Trastorno de Personalidad Límitrofe y otros desórdenes neuropsiquiátricos.

El análisis en el dominio de la frecuencia

(Figura 2, panel superior), nos permite entender la actividad oscilatoria neuronal no evocada por el estímulo (actividad inducida). Se postula que ésta se origina en centros corticales y subcorticales modulando la actividad preexistente. Asimismo, nos permite entender cómo contribuyen distintas frecuencias en un determinado proceso cognitivo, tanto en un perfil temporal como espacial (Figura 3 y 4).

Así, hemos estudiado procesos cognitivos como lenguaje, memoria a corto plazo, imaginación mental, percepción y “binding” sensorial y su relación con ciertas enfermedades neuropsiquiátricas, como la esquizofrenia.

Otro aspecto fundamental, es el estudio de la correlación genes-conducta. En particular, estamos estudiando alelos de los sistemas dopaminérgico, noradrenérgico y serotoninérgico que pueden influir en la determinación de variantes del temperamento y algunos trastornos neuropsiquiátricos, como déficit atencional, “novelty seeking” y adicciones entre otros.

Lista de publicaciones

Aboitiz F, López V, López-Calderón J, Carrasco X. Beyond Endophenotypes: an interdisciplinary approach to attentional deficit-hyperactivity disorder. Book Chapter. Trends in Cognitive Psychology Research. (ed. F. Columbus) Nova scientific publishers, NY. 2005.

Vladimir López; Javier López; Rodrigo Ortega; Johana Kreither; Ximena Carrasco; Paula Rothhammer; Francisco Rothhammer; Ricardo Rosas; Francisco Aboitiz. Attention Deficit Disorder



Figura 1

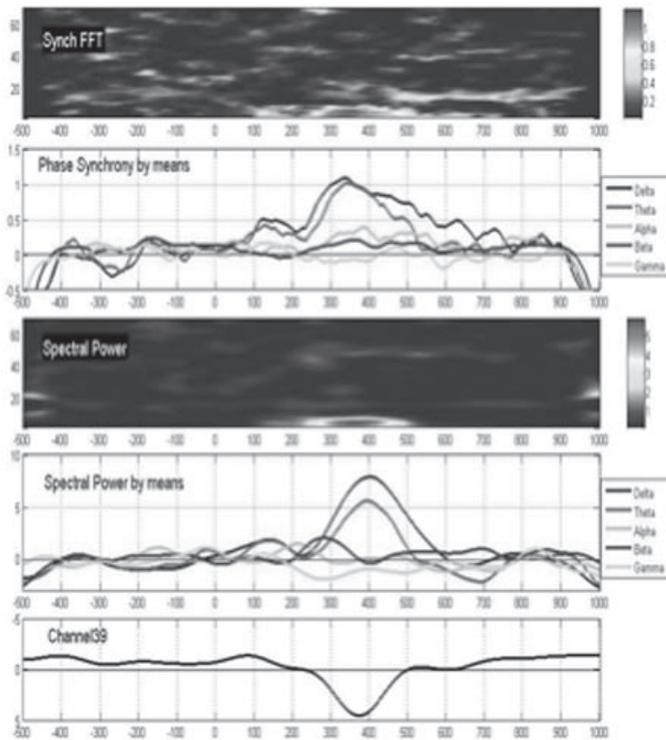


Figura 2

reflects multiplicity and not a single deficit in the distribution of attentional resources. *Clinical Neurophysiology* (2005)

Carrasco X., López V., Aboitiz F. Frontal and executive dysfunction is a central aspect of ADHD. *Behavioral & Brain Sciences*. (2005). In Press.

Conrado Bosman, Vladimir López, Francisco Aboitiz: Sharpening Occam's Razor: Is There Necessity Of A Hand-Signing Stage Prior To Vocal Communication? *Behavioral and Brain Sciences* (2005) 28 (2): 128-129.

López, J., López, V., Rojas, D., Carrasco, X., Rothhammer, P., García, R., Rothhammer, F. & Aboitiz, F. Effect of Psychostimulants on Distinct Attentional Parameters in Attentional Deficit/Hyperactivity Disorder. *Biological Research*, (2004) 37(3):461-8.

López, V., López, J., Ortega, R., Aboitiz, F. Attentional deficit syndrome: is there a real lack of attention? *Biol. Res.*, 2003; 36 (3-4): 101-8.

Colaboradores nacionales

Dr. Francisco Rothhammer, Dr. Patricio Miller, Dr. Sergio Valdivieso, Dr. Rafael Torres, Dr. Jorge Barros, Dr. Sergio Ruiz, Dr. Manuel Campos.

Colaboradores internacionales

Albert Galaburda PhD, University of Harvard.

Steven Hillyard PhD, University of California.

Eran Zaidel PhD, University of California.

Dahlia Zaidel PhD, University of California.

Conrado Bosman PhD, FC Donders,

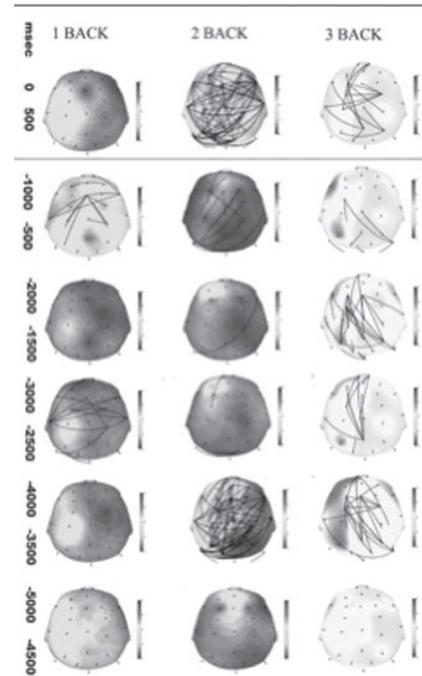


Figura 3

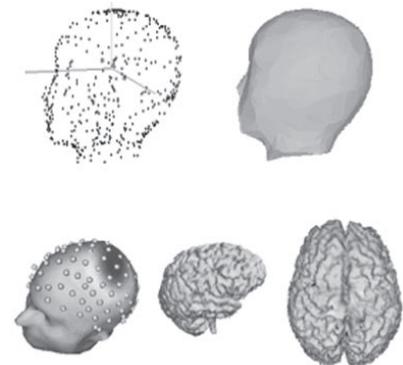


Figura 4

Nijmenjen, Holanda.

José M. Hurtado PhD.

Financiamiento

Núcleo Milenio de Neurociencias Integradas (CENI)

Fondecyt (Conicyt)



Reducción de la Mortalidad por infarto del miocardio en Hospitales Chilenos

Ramón Corbalán H.(*), Carolina Nazzal N.(**), Juan C. Prieto D.(***), Eduardo Chávez S.(****), Fernando Lanás Z.(*****), Rubén Lamich B.(^), Jorge Bartolucci J.(^^), Rosa Montaña E.(^^^), Francisco Cumsille G.(^^^^)

* Departamento de Enfermedades Cardiovasculares, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

** Escuela de Salud pública, Universidad de Chile

*** Farmacología, Facultad de medicina Universidad de Chile

**** Hospital de Urgencia, Asistencia Pública

***** Hospital Regional de Temuco

^ Hospital Barros Luco

^^ Clínica Santa María

^^^ Hospital J. J. Aguirre

^^^^ Universidad de Chile

Antecedentes

Se analizaron las características de los pacientes admitidos por Infarto Agudo del Miocardio en 37 hospitales chilenos (Registro GEMI) durante los períodos 1993-1995 y 1997-1998.

Objetivo

Analizar los cambios en la mortalidad hospitalaria entre estos dos períodos, con particular énfasis en el impacto del tratamiento.

Material y método

Entre 1993-1995 se recopiló la información de 2957 pacientes y entre 1997-1998 se incluyeron 1981 pacientes con IAM. El análisis de los cambios en la mortalidad durante estos dos períodos, fue ajustado por variables demográficas, factores de riesgo coronario, localización del IAM, clase Killip al ingreso y las diferentes estrategias terapéuticas utilizadas. El efecto de las diferentes estrategias de tratamiento en la mortalidad hospitalaria fue ajustado por las variables de riesgo de mortalidad determinadas previamente.

Resultados

La mortalidad hospitalaria disminuyó de un 13.3% a un 10.8% entre los dos períodos (Odds ratio (OR) 0.78, intervalo de confianza (95%) (IC) (0.65-0.93). Una reducción significativa de la mortalidad se observó entre pacientes bajo los 60 años de edad, en hombres, en diabéticos y en pacientes con IAM clasificado como clase Killip sobre II. El uso de betabloqueadores (OR 0.65, IC 0.42-0.99) y de nitratos endovenosos (OR 0.78, IC 0.61-0.99) y el bajo uso de los bloqueadores de canales de calcio (OR 0.72, IC 0.60-0.87) se asociaron significativamente con baja mortalidad. La administración de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina se relacionó con un 29.3% de reducción de la mortalidad (OR 0.69, IC 0.47-1.02).

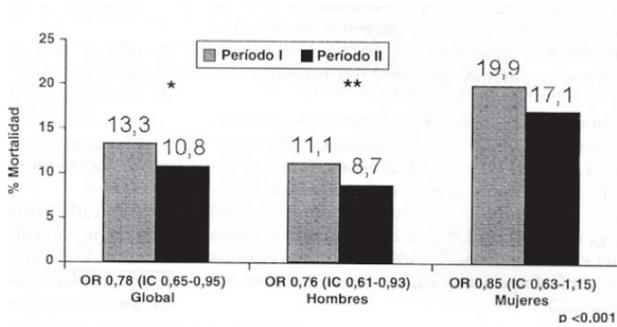
Conclusiones

Ha habido una reducción significativa en la tasa de mortalidad por IAM en hospitales chilenos durante los 2 períodos de registro analizados, especialmente entre pacientes de alto riesgo y relacionado con cambios en el tratamiento, guiados por medicina basada en evidencia.

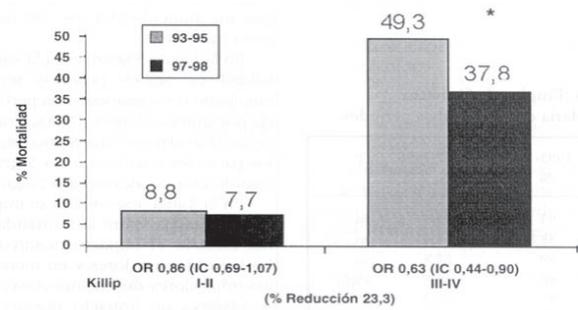
Lista de publicaciones

- 1.- Guarda E, Yoranovic J, Chamorro H, Prieto JC, Corbalán R. Pautas para el manejo intrahospitalario del infarto agudo del miocardio. Rev Chil Cardiol 2001; 20:1:52-66
- 2.-Grupo GEMI: ¿Es posible para la cardiología chilena realizar estudios multicéntricos? Grupo de estudio multicéntrico del infarto (GEMI). Farmacoepidemiología del infarto agudo del miocardio en centros hospitalarios chilenos. Rev Chil Cardiol 1993; 12:153-60.
- 3.- Farmacoepidemiología del infarto agudo del miocardio en 33 hospitales chilenos. Grupo de estudio multicéntrico del infarto (GEMI). Rev Chil Cardiol 1995; 14:11-9.
- 4.- Prieto JC, Corbalán R, Chávez E, Lanás F, Cumsille F, Nazzal C. Infarto agudo del miocardio en hospitales chilenos. Resultados finales del estudio GEMI. Rev Méd Chile 1999; 127:763-74
- 5.- Corbalán R. Reducción de mortalidad en los pacientes con infarto del miocardio en Chile. Rev Chil Cardiol 2000; 19:3:141 (Abstract).

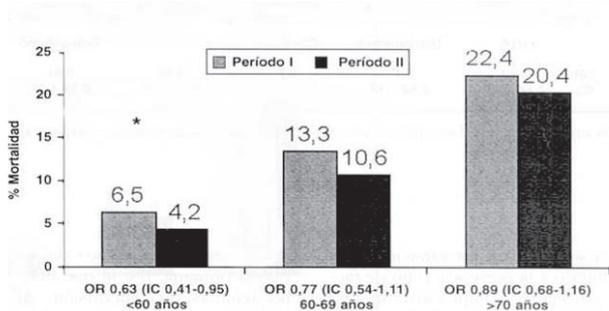
6.- Prieto JC, Corbalán R, Nazzari C, Chavéz E, Lanás F, Bartolucci J, Cumsille F. Cambios en los patrones de prescripción de medicamentos en el infarto agudo del miocardio. Comparación de dos períodos. Rev Méd Chile 2001; 129:481-8



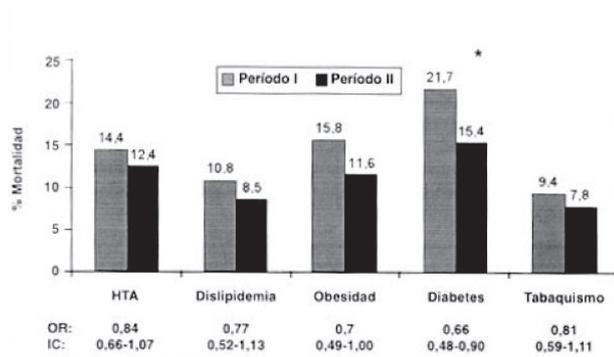
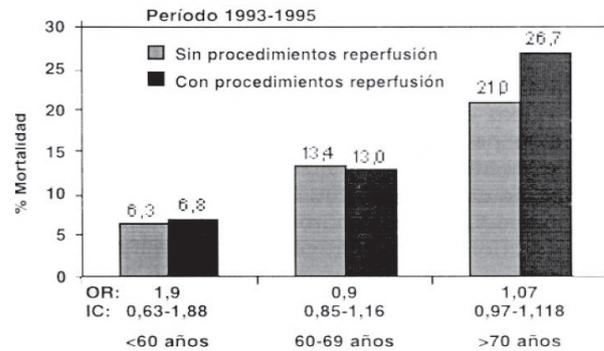
Cambios en la mortalidad global y entre hombres y mujeres durante los dos períodos de registro



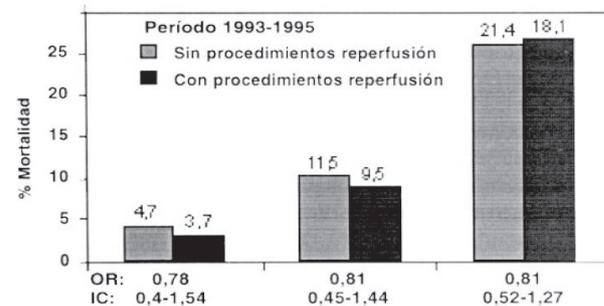
Cambios en la mortalidad en ambos períodos de acuerdo a la presencia o ausencia de factores de riesgo coronario



Cambios en la mortalidad por infarto según distribución por rangos de edad



Cambios en la mortalidad en ambos períodos de acuerdo a la presencia o ausencia de factores de riesgo coronario



Cambios en la mortalidad según implementación de terapias de reperusión, estratificada por rangos de edad

Proteína C Reactiva y Trombomodulina Soluble: Predictores Bioquímicos de Mantenimiento de Ritmo Sinusal a 1 Año en Pacientes con Fibrilación Auricular No Valvular

Mónica Acevedo M. (*), Ramón Corbalán H. (*), Sandra Braun J. (*), Jaime Pereira G. (**)

* Departamento de Enfermedades Cardiovasculares, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

**Departamento de Hematología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

Introducción

La FA es la arritmia más prevalente en la práctica clínica y se asocia a un alto riesgo de morbimortalidad. En la FA se ha descrito un estado de hipercoagulabilidad. Recientemente, hemos reportado la existencia de un estado proinflamatorio, que se relaciona a la menor probabilidad de mantener el ritmo sinusal a largo plazo en pacientes con FA. Estudios recientes han identificado otros marcadores que podrían ayudarnos a entender la patogenia de la trombogenicidad en la FA. Entre estos están los marcadores de daño del endotelio y los marcadores de activación plaquetaria, ambos que se han demostrado están elevados en patología aterosclerótica.

Objetivos

Determinar si los niveles de PCR, como marcadores de inflamación sistémica, trombomodulina soluble, como marcador de disfunción/daño endotelial, y P-selectina, como índice de activación plaquetaria, se asocian a la mantención de ritmo sinusal en pacientes con FA no valvular.

Método: Estudio prospectivo en pacientes con FA que consultan en Urgencia. Se

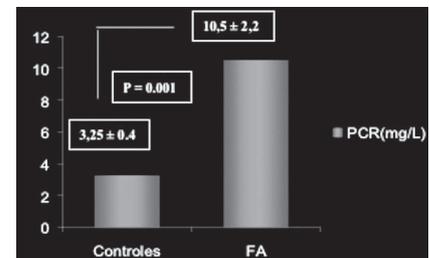
incluyeron pacientes con FA paroxística y FA persistente. El grupo de control fue de 20 sujetos en ritmo sinusal (pareados por edad y sexo).

Se excluyeron

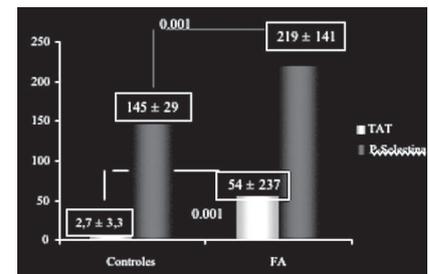
SCA, Pericarditis o Miocarditis Aguda, Embolia Pulmonar, Cirugía <60 días, Uso de Anticoagulantes, Infecciones o Enfermedades Inflammatorias, Insuficiencia Renal o Hepática. Se midió Proteína C reactiva (PCR) (Método inmunturbidimétrico), Trombomodulina soluble (sTM), complejo trombina-antitrombina (TAT) y P-selectina (Psel). En todos se realizó Eco transtorácico y transesofágico en las primeras 24 hrs de ingreso. Se realizó seguimiento a los 30 días y 1 año post FA. Se consignó ritmo al ECG (sinusal o FA), ocurrencia de embolías, tratamiento antiarrítmico, y se volvió a tomar PCR, TAT, sTM y P-selectina.

Análisis Estadístico

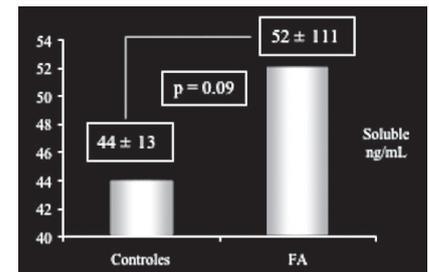
Resultados expresados como promedio \pm desviación estándar. Comparaciones: test de "t" para variables independientes con distribución normal y test de Wicoxon si la distribución no era normal. Test de



Niveles de PCR basales



Niveles basales de complejos Trombina-Antitrombina y P-Selectina



Niveles basales de Trombomodulina Soluble

Fisher para variables categóricas. Análisis de regresión logística.

Conclusiones

Confirma que los pacientes con FA no valvular presentan una evolución significativa de los niveles de PCR, sTM, TAT, P-selectina y demuestra que la persistencia del estado inflamatorio (PCR) y del daño endotelial (sTM) a largo plazo se asocia a la persistencia de la arritmia en estos pacientes.

Lista de publicaciones

1.- Acevedo M, Corbalán R, Braun S, Pereira J, Navarrete C, González I RN. C Reactive Protein and Atrial Fibrillation: “Evidence for the Presence of Inflammation in the Perpetuation of the Arrhythmia. Accepted for publication in the Int. J Cardio. 2005 Jun 25.

2.- Pérez L, Corbalán R, Larraín G, Lira MT, Acevedo M, Castro P, Pereira J, Springmüller D, Sepúlveda G, Yañez M. “Asociación entre las mutaciones C677T del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa y G20210A gen de la Protombina con la presencia de eventos tromboembólicos clínicos en pacientes con fibrilación auricular”. Revista Chilena de Cardiología, 2001;20:105.

3.- Pérez L, Corbalán R, Acevedo M, Pereira J, Braun S, Tapia J, Kramer A, Lira MT, Huete I, Sepúlveda G, Springmüller D. “Hipercoagulabilidad en Fibrilación auricular y su relación con los factores de riesgo para embolía sistémica”. Revista Médica de Chile 2002; 130:1087-1094.

4.- Acevedo M*, Corbalán R, Pérez L, Braun S, Pereira J, EU Lira MT, Estadístico Navarrete C. Proteína C reactiva y Fibrilación Auricular: Evidencia de un Proceso Inflamatorio en la Iniciación y

Perpetuación de la Arritmia”. Rev. Chil. Card. 2003;22:233-240.

5.- Acevedo M, Corbalán R, Braun S, Pérez L, EU González I, Estadístico Navarrete C, Pereira J. “Proteína C Reactiva y Trombomodulina Soluble: “Predictores Bioquímicos de Mantenimiento de Ritmo Sinusal a 1 año en pacientes con Fibrilación Auricular” Rev. Chil Card. 2003;22:4;233.

Colaboradores

EU Ilse Gonzalez
Estadístico Carlos Navarrete

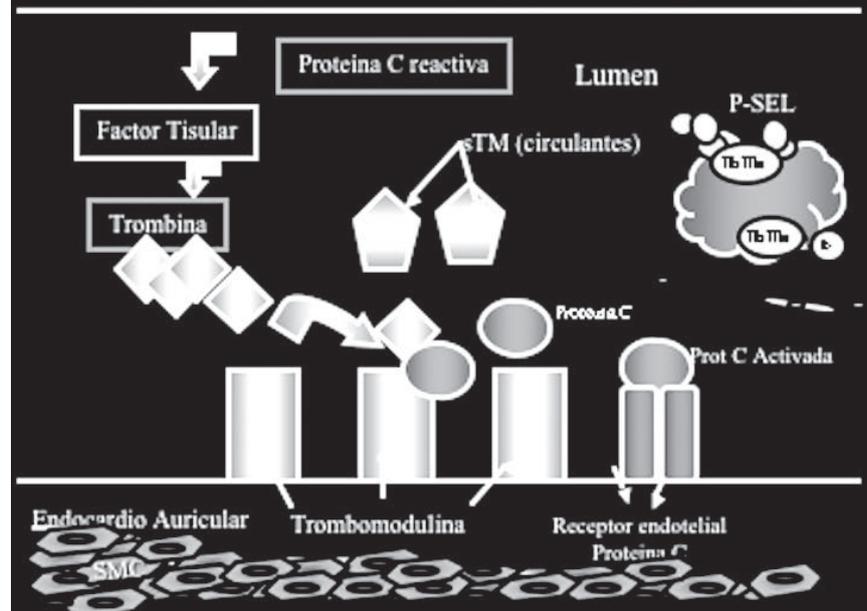
Financiamiento

1000741 Fondecyt

Variable	p
Proteína C Reactiva	0.02
Trombomodulina Soluble	0.04
Edad	0.18
Disfunción VI	0.94
AI < 45 mm	0.45
VI D < 56 mm	0.14
Fracción Acortamiento OI	0.54

Predictores de ritmo Sinusal a 1 año
Análisis Multivariado

Parámetro	Odds Ratio	95% CI
PCR	4.8	1.3 - 22
sTM	1.1	1.01 - 1.12
Edad	1.04	0.98 - 1.1
Disfunción VI	0.931	0.1 - 9.9
AI < 45	0.58	0.1 - 2.5
VD < 56	0.17	0.01 - 1.7
FA OI	0.99	0.9 - 1.02



Riesgo Relativo ajustado de No mantención de ritmo Sinusal a 1 año



Apoptosis y Plaquetas: Fisiología y Fisiopatología

Jaime Pereira G.(*), Diego Mezzano A. (*), Eduardo Aranda L. (*), Iván Palomo G. (**), Lindi-Marie Coetzee (***), Mauricio Ocqueteau T. (*), Mónica Soto S.(*), Olga Panes B. (*), Claudia Sáez S.(*), Gino Alfaro A.(****), Valeria Matus R. (*), Loreto Massardo V.(^)

* Departamento de Hematología - Oncología, Pontificia Universidad Católica de Chile
 ** Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca
 *** University of Orange Free State, South Africa
 **** Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile
 ^ Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología

Fisiología

Esta línea se inició para investigar los mecanismos que determinan la remoción fisiológica de las plaquetas de la circulación. Se postuló que la pérdida de asimetría de fosfolípidos (FL) de membrana se asociaría al envejecimiento de las plaquetas en la circulación, constituyendo la señal reconocida por macrófagos del SRE.

En un modelo de supresión de trombopoyesis en perros, se demostró que las plaquetas durante el envejecimiento en la circulación pierden la asimetría de FL de membrana (1) (Fig. 1).

Debido a que este fenómeno es propio de la apoptosis, planteamos que las plaquetas, serían capaces de sufrir cambios propios de la apoptosis. Usando el mismo modelo de supresión de trombopoyesis, demostramos activación de vías apoptóticas en plaquetas envejecidas en la circulación. El marcador de apoptosis utilizado fue la pérdida del potencial de transmembrana mitocondrial ($\Delta \Psi$), mediante citometría de flujo con colorantes lipofílicos (JC-1) (2) (Fig. 2).

Fisiopatología

La apoptosis y/o activación de las plaquetas se acompaña de pérdida de asimetría de FL y generación de micropartículas

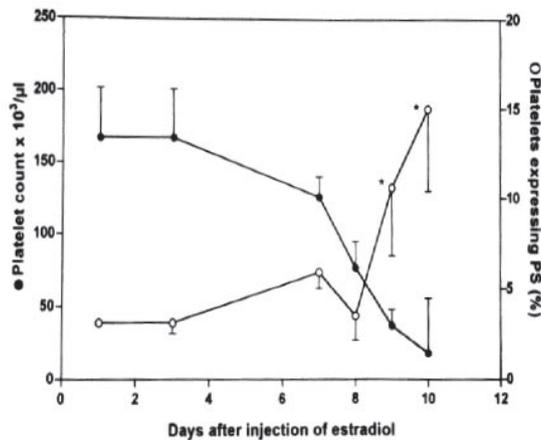


Figura 1: Expresión de PS en plaquetas que envejecen progresivamente en la circulación

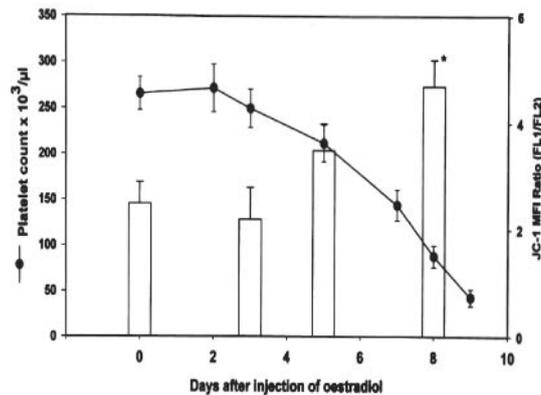


Figura 2: Colapso de $\Delta \Psi$ en plaquetas que envejecen en la circulación

(MP), fenómenos asociados a la actividad procoagulante de las plaquetas. Por esta razón se decidió investigar el papel de estas alteraciones en la patogenia de estados de hipercoagulabilidad adquiridos, tomando como primer modelo el Lupus Eritematoso Sistémico (LES).

En pacientes portadores de LES demostramos la existencia de cambios apoptóticos en las plaquetas, específicamente, pérdida de $\Delta\Psi$ y pérdida de asimetría de FL (3) (Fig. 3 y 4).

Posteriormente, se encontró que en pacientes con LES independiente de la actividad de la enfermedad y de la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, el número de MP derivadas de plaquetas estaban significativamente aumentadas. Además, este aumento de MP se correlacionó positivamente con la generación de trombina plasmática, medida como el potencial endógeno de trombina (ETP) y con marcadores de activación de la coagulación (4) (Fig 5 y 6).

Lista de publicaciones

1. Pereira J, Palomo I, Ocqueteau M, Soto M, Aranda E, Mezzano D. Platelet aging in vivo is associated with loss of membrane phospholipid asymmetry. *Thromb Haemost.* 1999; 82:1318-1321.

2. Pereira J, Soto M, Astudillo S, Palomo I, Ocqueteau M, Coetzee L-M, Aranda E, Mezzano D. Platelet aging in vivo is associated with activation of apoptotic pathways: studies in a model of suppressed thrombopoiesis in dogs. *Thromb Haemostas* 2002; 87: 905-909.

3. Pereira J, Quiroga T, Massardo L, Perez C, Alfaro G, Ocqueteau M, Panes O, Mezzano D. Loss of Platelet Membrane Phospholipid Asymmetry in Systemic Lupus Erythematosus: Association with Disease Activity and Hypercoagulable State. *Blood* 2004; 104: 709a

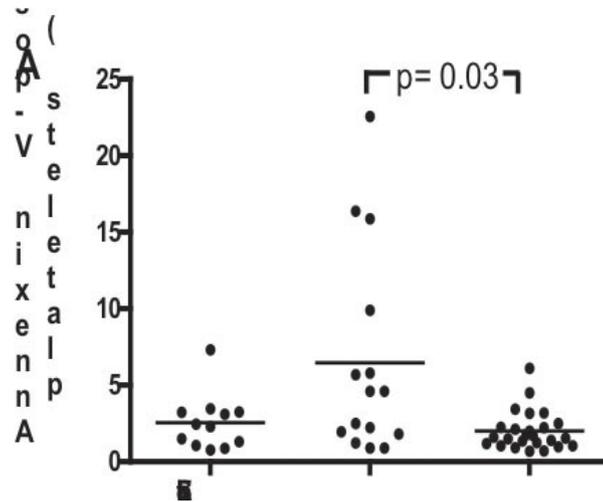


Figura 3: Pérdida de asimetría de FL en plaquetas de pacientes portadores de LES

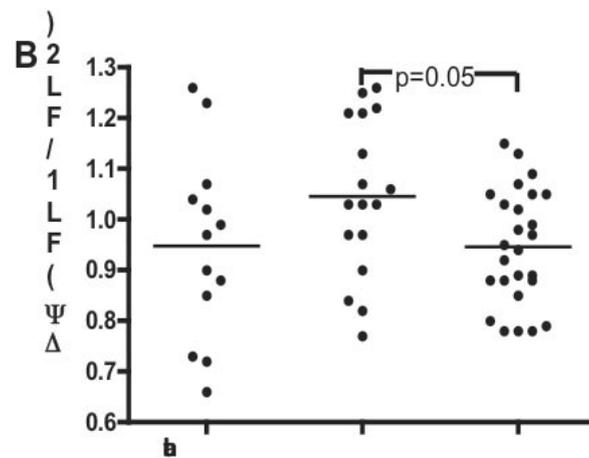


Figura 4: Apoptosis en plaquetas de pacientes con LES. La caída de $\Delta\Psi$ demuestra cambios propios de apoptosis en plaquetas circulantes

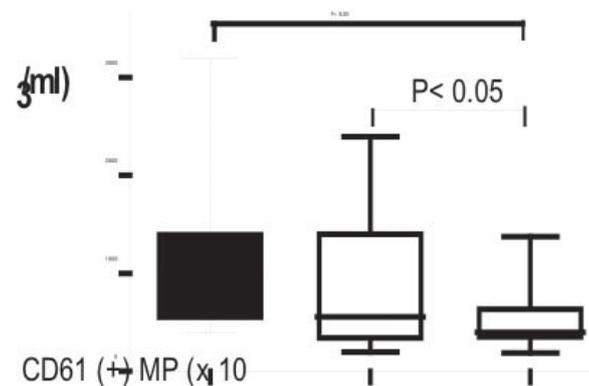


Figura 5: Aumento en número de MP derivadas de plaquetas en la sangre periférica en LES



4. Alfaro G, Pereira, J, Goycoolea M, Quiroga T, Ocqueteau M, Massardo L, Pérez C, Sáez CG, Mezzano D. Circulating Platelet-Derived Microparticles In Systemic Lupus Erythematosus: Association With Increased Thrombin Generation And Procoagulant State. J Thromb Haemostas 2005; 3: 1275a.

Colaboradores

Patricia Hidalgo P, Blanca Muñoz V, María Soledad Rodríguez P, Carol Pérez, Smiljan Astudillo.

Financiamiento

-Proyectos FONDECYT

Concurso Regular:

-1971024

-1990131

-1011010

-Proyecto FONDECYT en Líneas Complementarias:

8010002

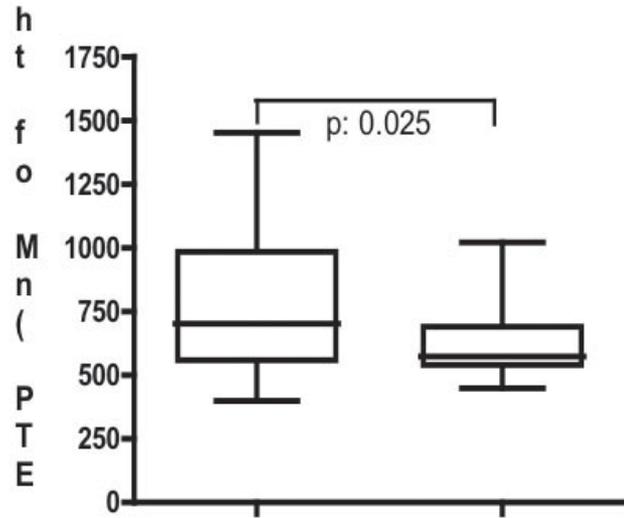


Figura 6: Aumento de capacidad de generar trombina del plasma libre de plaquetas en pacientes portadores de LES

Estudio de Cohorte del Impacto Biopsicosocial del consumo de Pasta Base de Cocaína y Clorhidrato de Cocaína en sujetos no consultantes de Servicios de Rehabilitación

Rodrigo Santis B. (*), Carmen Gloria Hidalgo C. (**), Viviana Hayden C. (*), Enzo Anselmo M. (*), Sergio Ruiz P. (*), María José Mezzera (*).

* Unidad de Adicción, Departamento de Psiquiatría, Pontificia Universidad Católica de Chile

**Escuela de Psicología, Pontificia Universidad Católica de Chile

Introducción

En nuestro país existe desde 2001 una Red Nacional de Centros de Tratamiento de Rehabilitación. Sin embargo, se estima que sólo un 7,2% de los consumidores abusivos de drogas recibe tratamiento cada año. El consumo de sustancias que están al margen de la legalidad y la asociación del consumo con marginación social y narcotráfico dificultan que los consumidores sean adecuadamente representados por encuestas poblacionales. Así, es probable que en nuestro país exista una población oculta de consumidores de drogas a los métodos de registro tradicionalmente empleados que no ha sido caracterizada clínicamente.

Uno de los métodos de estudio de poblaciones ocultas es la utilización de la Entrevista de Acceso Privilegiado (EAP). Esta metodología consiste en establecer una red de recolección de información formada por entrevistadores que tienen acceso a la cultura de interés (Griffiths, 1993).

Con el objetivo de comparar las conductas de riesgo biopsicosocial de consumidores de pasta base de cocaína y consumidores de clorhidrato de cocaína no consultantes

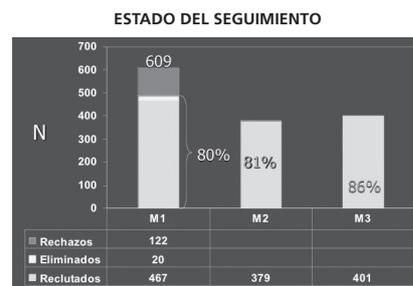
de los servicios de rehabilitación a lo largo de un año, se implementó la EAP en 4 comunas de Santiago de mayor consumo de PBC y CC (CONACE, 2000): Pedro Aguirre Cerda, Huechuraba, La Pintana y San Joaquín. El presente reporte se focaliza en las conductas antisociales de estos consumidores.

Método y Participantes.

El estudio tuvo un diseño de cohorte con tres evaluaciones repetidas (al ser reclutados, a los 6 y 12 meses de seguimiento). Esta investigación trabajó con 28 entrevistadores seleccionados y capacitados a través de un riguroso procedimiento. Se efectuó un muestreo estratificado por género y rango etéreo; adicionalmente el muestreo fue dirigido a las zonas territoriales de alto consumo en cada comuna. Los criterios de inclusión para el estudio fueron: Grupo 1, consumidores preferentemente de PBC, por sobre CC, en los últimos 30 días, y Grupo 2, consumidores preferentemente de CC, por sobre PBC, en últimos 30 días. Ambos grupo sin tratamiento por consumo de sustancias en los últimos 6 meses.

El instrumento empleado, Encuesta de

Conductas de Riesgo consiste de una compilación de 246 ítemes que recoge: Datos sociodemográficos; Patrón de Consumo de Sustancias; Conductas de Riesgo; Situación Legal; Contactos y Percepción de Servicios de Salud; Cuestionario de Salud General de Goldberg y el Test breve: Cómo funciona SU/TU familia (OPS, 2001). Cada entrevista fue grabada en una cinta de audio para para comprobar la fidelidad de los datos registrados. En un 10% del total de sujetos se efectuó una semana después una reentrevista parcial por un entrevistador Gold Standard con el objetivo de establecer la confiabilidad de los datos. El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile.



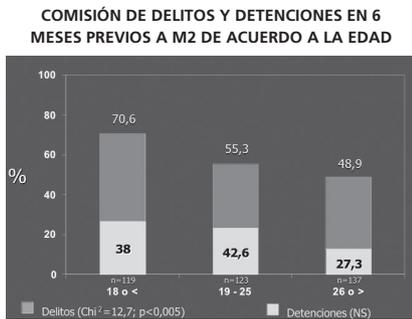


Figura 2: Comisión de delitos y detenciones a los 6 meses

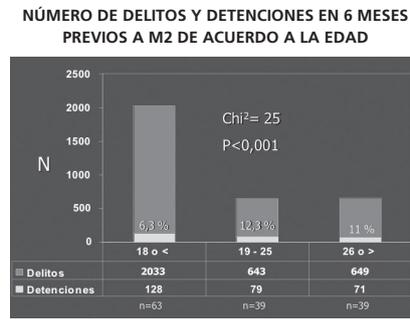


Figura 3: Número total de delitos y detenciones a los 6 meses



Figura 4: Menores con delitos a los 6 meses sin antecedentes legales al inicio

Resultados

Se obtuvieron encuestas de 487 sujetos (tasa de respuesta de 80%), 20 de las cuales fueron eliminadas por inconsistencia entre el registro escrito y la grabación de la entrevista. De este modo la cohorte estuvo constituida por 467 sujetos, 231 consumidores de PBC y 236 consumidores de CC.

La Figura 1 describe la retención en los tres momentos de evaluación. La retención final fue de un 86%. La Figura 2 describe el porcentaje de sujetos que cometieron delitos y los que fueron detenidos a los 6 meses de seguimiento de acuerdo a la distribución etárea. La Figura 3 describe el número total de delitos y detenciones de acuerdo a la distribución etárea. La figura 4 describe la relación entre comisión de delitos, ser detenido por carabineros e inicio de proceso judicial a los 6 meses de seguimiento, en menores de 18 años que no tenían antecedentes delictuales al ingreso al estudio.

Conclusiones

Los consumidores de sustancias estudiados presentan una alta frecuencia de conductas antisociales, en especial los menores de 18 años. Sin embargo, sólo uno de cada diez enfrenta a la justicia. El distinto estatus jurídico de los menores y la inducción

al crimen por parte de sujetos mayores pueden explicar estas diferencias.

Lista de publicaciones

-Santis R, Hidalgo CG, Hayden V, Anselmo E, Ruiz S, Rodríguez J, Torres R, Cartagena F, Perez M, & Saunt John`s C. Risk behaviors of out-of-treatment cocaine base paste users and cocaine Problems of Drug Dependence 2004: Proceedings from the Sixty Sixth Annual Scientific Meeting of the College in Problems of Drug Dependence. San Juan. Puerto Rico. June 2004

-Santis R, Hidalgo CG, Hayden V, Anselmo E, Ruiz S, Mezzera MJ, Torres R, Rodríguez J, Cartagena F, Dreyse J, Toro L, Jimenez MJ. Predictors of entry into treatment of Cocaine Base Paste and Cocaine Hydrochloride users: A cohort study. Problems of Drug Dependence 2004: Proceedings from the Sixty Seventh Annual Scientific Meeting of the College on Problems of Drug Dependence, Orlando, USA. June 2005.

- Santis R. Funcionamiento familiar y conductas antisociales en menores no consultantes consumidores de pasta base de cocaína y clorhidrato de cocaína. XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Toxicomanías. II Foro

Iberoamericano de Trastornos Adictivos. Logroño, España. Marzo 2005.

-Santis R. Family Functioning and Antisocial Behavior of Young Out-of-Treatment Users of Hydrochloride Cocaine and Cocaine Base Paste. National Hispanic Science Network on Drug Abuse. Fifth Annual Conference. Miami, USA. September, 2005.

-R. Santis, V. Hayden, CG Hidalgo y cols. Conductas de Riesgo en consumidores de pasta base de cocaína y clorhidrato de cocaína no consultantes: estudio de cohorte. 59o Congreso Chileno de Neurología, Psiquiatría y Neurocirugía. Octubre, 2004. Iquique (Premio al mejor trabajo).

Colaboradores

Mariela Calderón M., Jorge Rodríguez F., Fernando Cartajena, Jorge Dreyse, Luis Toro, María Josefina Jimenez, Luis Ulloa C.

Financiamiento

Proyecto financiado por FONDECYT (No 1030431)

Genética molecular del Melanoma Maligno de la piel

Sergio González B.(*), Pablo Uribe G.(**),
María Luisa Pérez-Cotapos S.(***), Ignacio I. Wistuba O.(*)

* Departamento de Anatomía Patológica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

** Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

*** Unidad de Dermatología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

El melanoma cutáneo ha incrementado su incidencia en las últimas décadas. Proponemos que el melanoma se origina secuencialmente del nevo atípico o displásico. Los hechos moleculares que hemos determinado y apoyan esta hipótesis son: a) deleciones en regiones específicas del ADN, b) mutación del proto-oncogén BRAF, c) activación de MAPK-ERK quinasas. Además, hemos estudiado el rol de la mutación de BRAF en la fase precoz de la patogenia del melanoma. Creemos que el estudio de esta vía, frecuentemente activada en melanoma, generará marcadores moleculares útiles para el diagnóstico, tratamiento, pronóstico y seguimiento de los pacientes con melanoma cutáneo.

Lista de publicaciones

-Uribe P, Wistuba II, Gonzalez S. BRAF mutation. A frequent event in benign, atypical, and malignant melanocytic lesions of the skin. *Am J Dermatopathol* 2003; 25: 365-370

-Uribe P, Wistuba II, Solar A, Balestrini C, Pérez-Cotapos ML, González S. Comparative analysis of loss of heterozygosity and microsatellite instability

in adult and pediatric melanoma. *Am J Dermatopathol* 2005; 27: 279-285

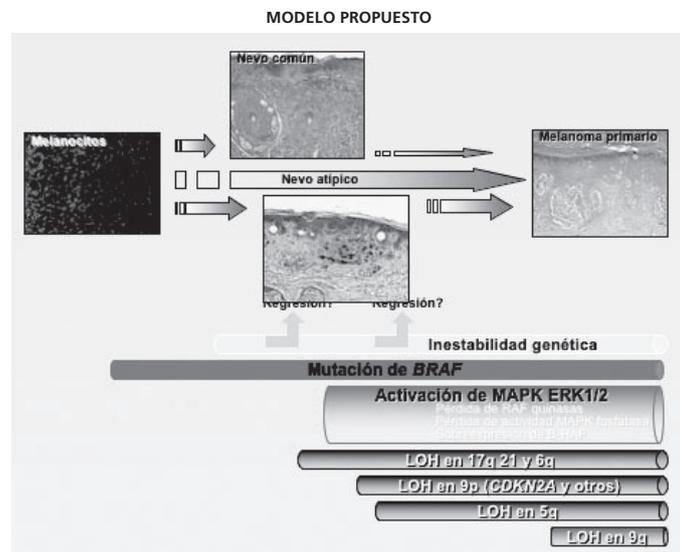
-Benedetto J, Balestrini C, Silva F, Molgó M, González S. Tipos histológicos y variables pronósticas en 569 casos de melanoma maligno de la piel entre 1976 y 2001. *Rev Chil Dermatol* 2003; 19: 94-99

-Pérez-Cotapos ML, Molgó M, González S, Norero M, Palisson F. Melanoma maligno en la infancia. *Rev Chil Dermatol*

1996; 12: 160.

-Segovia L, Andrade L, González S: Expresión inmunohistoquímica de la oncoproteína p53 en neoplasias melanocíticas de la piel. *Rev Chil Dermatol* 1995; 11: 79-83

-González S. Histopathologic diagnosis of pigmented lesions of the skin. *Pathol Res Pract* 1991; 187: 387-431





-Wistuba I, González S. Eosinophilic globules in pigmented spindle cell nevus. *Am J Dermatopathol* 1990; 12: 268-271

Colaboradores nacionales

Antonieta Solar G, Claudia Balestrini D., Juanita Benedetto, Montserrat Molgón N.

Colaboradores internacionales

-Rodrigo Chuaqui F, MD, Laboratory of Pathology, National Cancer Institute/NIH, Advanced Technology Center
 -Ann Richmond, PhD, Dept. of Cancer Biology, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN, USA

Financiamiento

FONDECYT 1020696 (SG)
 PG-04-02 (PU)
 PG 09-03 (PU)
 PG-10/04

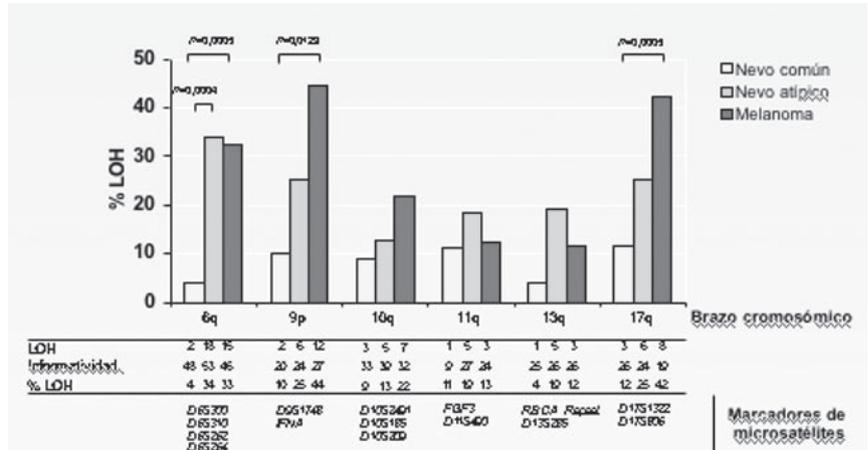


Figura 2: Porcentaje de deleciones (LOH) por brazo cromosómico en lesiones melanocíticas donde se amplificó más de un microsatélite. Se demuestra la similitud de algunas deleciones en melanoma y nevos atípicos

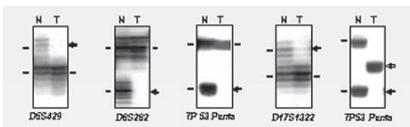
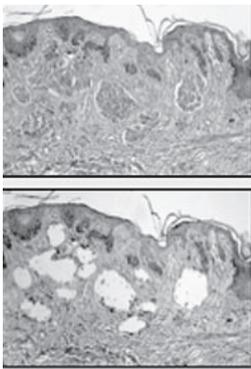


Figura 1: Ejemplos representativos de microdissección (panel superior), en panel inferior deleciones (flecha negra) en lesiones melanocíticas. N, células estromales normales del mismo paciente; T, tumores melanocíticos microdissecados.

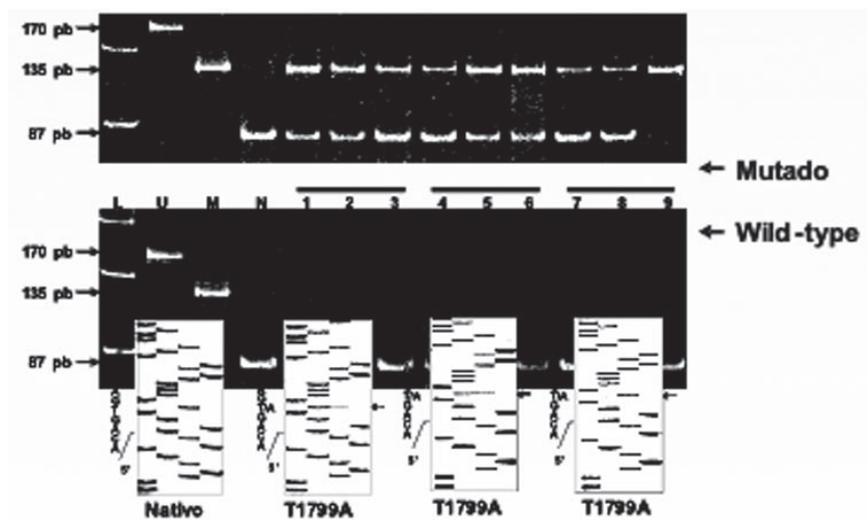


Figura 3: Ejemplos representativos de análisis de mutación de BRAF en el codón 600 mediante PCR-RFLP en lesiones melanocíticas cutáneas. se muestran tres bandas; no digerida, 170 pb; mutante, 135 pb; y nativa, 87 pb, cada panel y la flecha marca el lugar de la mutación. Se encontró BRAF mutado en 73% de los nevos comunes, 52% de los nevos típicos y 56% de los melanomas.

Variables predictoras de embarazo en la inseminación intrauterina homóloga (IIU-h)

Alejandro Manzur Y, Ingrid Cárdenas R, Rodrigo Macaya P, Guillermo Durruty V, Rose M. Zeidan M, Paz Dominguez R, Gloria Gajardo T, Claudia Almendra G.

Unidad de Reproducción Humana. Departamento de Obstetricia y Ginecología. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La inseminación intrauterina homóloga (IIU-h) es una técnica de reproducción asistida de baja complejidad, efectiva y de bajo costo. En este estudio retrospectivo, analizamos las variables que contribuyeron al éxito de la IIU-h en ciclos realizados en la Unidad de Reproducción Humana de nuestra institución.

Pacientes infértiles con al menos una trompa permeable y más de un millón de espermatozoides móviles en una separación espermática, que recibieron inducción de ovulación con citrato de clomifeno, gonadotropinas o la combinación de ambos. Se les realizó seguimiento ecográfico transvaginal desde el día 3o del ciclo hasta la ovulación, inducida mediante gonadotropina coriónica humana (hCG). La inseminación intrauterina se programó 24 hrs o 36 hrs post hCG en casos de LH urinaria (+) o (-), respectivamente. Se usó swim-up como técnica estándar para las separaciones espermáticas concentrándolas en un volumen < 0.5 ml. Se indicó una medición plasmática de β -hCG quince días post ovulación en ausencia de menstruación.

Se realizó una regresión logística para

identificar variables significativas que contribuyeron al éxito de la inseminación en los 1768 ciclos analizados.

La tasa de embarazo clínico fue 10,2% (181/1768) siendo 79% embarazos viables y 21% abortos espontáneos. La tasa de embarazo múltiple fue 13%. El promedio de edad 30,3 + 4 años (18 - 46 años)

La edad de la mujer influyó significativamente en el éxito del procedimiento. El factor ovulatorio se asoció a mejores resultados que la presencia de endometriosis, factor tubo peritoneal y factor masculino. El uso de gonadotropinas dio una tasa significativamente mayor que citrato de clomifeno, así como la presencia de > 3 folículos preovulatorios y un grosor endometrial > 6 mm el día de la inseminación. La mayoría de los embarazos se obtuvo dentro de los tres primeros ciclos (86%). No hubo embarazos después del séptimo ciclo.

Conclusión

Resultaron variables predictivas para embarazo en IIU-h la edad < 40 años, el número de folículos preovulatorios,

la presencia de factor ovulatorio, la infertilidad secundaria, el uso de gonadotropinas y el grosor endometrial > 6 mm. La endometriosis afectó significativamente los resultados, no así el total de espermatozoides inseminados.

Lista de publicaciones

Manzur A, Almendra C, Gajardo G, Cárdenas I. Influencia de la morfología estricta postseparación espermática en la tasa de embarazo lograda mediante inseminación intrauterina homóloga Boletín de la Sociedad Chilena de Fertilidad, Año 6, (2) 2003: 6-9 2004:

Manzur A, Macaya R, Bianchi M, Zeidán RM, Domínguez P, Almendra C. Valor predictivo de una sola medición de beta-hCG ejecutada en los días 13 a 17 post ovulatorio en embarazos únicos logrados por fertilización in-vivo. Boletín de la Sociedad Chilena de Fertilidad, Año 7, (1) 2004: 4-7

Manzur A, Macaya R, Durruty G, : Correlation between CA-125 marker with the presence and severity of pelvic endometriosis. Rev.Med Chil.2003 Apr;131(4):367-72



Manzur A Infertilidad Red Salud U.C.,
Diciembre 2000

Manzur A. La necesidad de enseñar
medicina como una experiencia humana
Revista Educación Médica U.C., 1998
(16): 93-6 2000: 10:

Colaboradores nacionales

Marcelo Bianchi P (*), Paola Viviani G (**),
Bernardita Donoso M (***)

* Unidad de Reproducción Humana.

** Centro de Investigaciones Médicas.

*** Departamento de Obstetricia y
Ginecología. Pontificia Universidad
Católica de Chile

Colaboradores internacionales

FLASEF

Federacion Latinoamericana de
Sociedades de Esterilidad e Infertilidad

Financiamiento

Autofinanciado con fondos de la Unidad
de Reproduccion Humana.

Departamento de Obstetricia y
Ginecología.

Pontificia Universidad Católica de Chile.

TASA DE EMBARAZO (%) EN VARIABLES PARA IUI - h

Edad (años) *		Grosor endometrial *	
<40	175/1688 (10)	<6 mm	4/73 (5.4)
≥40	6/80 (7.5)	>6 mm	177/1695 (10.4)
Tipo de infertilidad *		N. ciclos de tratamiento *	
INFERTILIDAD IRIA	68/1162 (6)	1-3	168/1605 (10.4)
INFERTILIDAD 2RIA	113/606 (18.6)	>3	13/163 (8)
N. Foliculos (16 mm)		Total espermatozoides *	
1	59/708 (8.3)	Móviles inseminados	
2	66/618 (10.6)	<1 millon	67/767 (8.7)
≥3 *	56/442 (12.6)	>1 millon	114/1001 (11.3)
	* P<0.05		* P<0.05

MODELO DE PREDICION LOGISTICA PARA PREDICION DE EMBARAZO

Variable	OR	CI	P
Edad			
< 40 (años)	1.6	(0.88-3.09)	NS
N. Foliculos			<0.05
2	1.16	(1.01-1.33)	
3	2.26	(2.1-4.98)	
Causa de Infertilidad			
F ovulatorio	1.53	(1.06-2.25)	<0.05
Endometriosis	0.63	(0.38-1.04)	<0.05
Otras	0.77	(0.53-1.18)	NS
Tipo de infertilidad 2ria	2.16	(1.08-4.97)	0.05
Esquema			
CC	1.07	(0.69-1.65)	NS
Gonadotropinas	1.16	(1.02-2.73)	<0.05
Grosor (>6 mm)	1.95	(1.67-5.56)	<0.05
Total espermatozoides inseminados			
>1 millón	1.89	(0.85-2.34)	NS
<1 millón	0.83	(0.56-1.37)	NS

Polimorfismos de los Receptores β -adrenérgicos, Estrés oxidativo y terapia en la Insuficiencia Cardíaca

Pablo Castro G.(*), Mario Chiong (**), Rodrigo Troncoso (**), Francisco Moraga (**), Rosemarie Mellado (**), Hernán Alcaino (**), Guillermo Díaz-Araya (**), José Luis Vukasovic R. (***), Iván Godoy J. (*), Sergio Lavandero (**).

* Departamento de Enfermedades Cardiovasculares, Pontificia Universidad Católica de Chile

** Universidad de Chile

***Hospital Salvador

Determinación de la prevalencia de los polimorfismos del gen del receptor β_1 y β_2 -adrenérgico en pacientes con insuficiencia cardíaca (IC).

Se determinó si las variantes β_1 AR Arg389→Gly, β_2 AR Arg16→Gly, β_2 AR Gln27→Glu y β_2 AR Thr164→Ile, solas o en combinación, representan un riesgo para desarrollar IC. Se genotipificaron estos polimorfismos en 168 sujetos: 80 pacientes con IC y 88 controles sanos. La variante β_2 AR Glu27Glu fue un predictor para IC.

Determinación de estrés oxidativo (EO) por niveles plasmáticos de malondialdehído (MDA) y actividades de los sistemas antioxidantes.

El EO estaba aumentado en los sujetos con IC y post trasplante cardíaco. Los valores de MDA en transplantados y con IC fueron significativamente mayores que en sujetos normales ($3,4 \pm 0,8$; $3,3 \pm 1,7$ y $0,9 \pm 0,3 \mu\text{M}$, respectivamente). Los pacientes sometidos a trasplante cardíaco tienen un aumento del EO con elevación del MDA y disminución de la actividad de superóxido dismutasa.

Evaluación de la relación de polimorfismos

receptor β_2 AR y respuesta a carvedilol (betabloqueador) en pacientes con IC.

Investigamos la respuesta clínica al tratamiento con carvedilol en pacientes con IC crónica estable. Se evaluó basalmente y luego de 6 meses de tratamiento: test de caminata a los seis minutos, fracción de eyección de ventrículo izquierdo (VI), frecuencia cardíaca y niveles de norepinefrina y MDA.

En el grupo global de pacientes con IC (n=35) el tratamiento con carvedilol durante 6 meses se asoció a una mejoría clínica, de la función ventricular izquierda y una disminución del MDA. Los polimorfismos del receptor β_2 AR influyeron en la respuesta a carvedilol. Carvedilol aumentó significativamente la fracción de eyección de VI, mientras que disminuyó la frecuencia cardíaca y las concentraciones plasmáticas de MDA en pacientes con IC crónica con alelo β_2 AR Glu27. Sin embargo, no se observaron cambios en aquellos pacientes con la variante β_2 AR Gln27.

Estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial en la IC crónica: Efectos de la inhibición de la xantino-oxidasa y 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa.

En la IC existe un proceso de tipo inflamatorio asociado a un aumento significativo en los niveles de EO. Existen evidencias de que estos mediadores contribuyen a la disfunción endotelial. Se desconoce si estos procesos son consecuencia o si tienen un papel patogénico directo en la IC. A su vez, no está determinado si el uso de medidas terapéuticas orientadas a modular estos dos procesos modifican las características y eventual evolución de la IC.

Nuestra hipótesis postula que en pacientes con IC, el tratamiento con inhibidores de la xantino-oxidasa (alopurinol) y/o de la

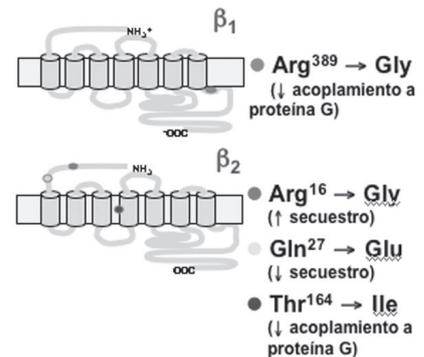


Figura 1: Polimorfismo de Receptores β Adrenérgicos



3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (atorvastatina), en dosis anti-inflamatorias, disminuye los niveles de EO, inflamación y mejora la función endotelial. Estas terapias pueden tener un efecto favorable en el remodelado cardiovascular y función cardiaca, disminuyendo las actividades de las metaloproteasas y/o inflamación.

Lista de publicaciones

Effects of early decrease in oxidative stress after medical therapy in patients with class IV congestive heart failure. P Castro, G Díaz-Araya, D Nettle, R Corbalán, O Perez, C Nazzal, G Larraín, S Lavandero. Am J Cardiol 2002; 89: 236-9.

Relation between oxidative stress, catecholamines, and impaired chronotropic response to exercise in patients with

chronic heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. PF Castro, D Greig, O Perez, F Moraga, M Chiong, G Diaz-Araya, I Padilla, C Nazzal, JE Jalil, JL Vukasovic, M Moreno, R Corbalán, S Lavandero. Am J Cardiol 2003; 92: 215-8.

Effects of carvedilol on functional capacity, left ventricular function, catecholamines and oxidative stress in patients with chronic heart failure. P Castro, O Pérez, D Greig, G Díaz-Araya, F Moraga, M Chiong, R Troncoso, I Padilla, JL Vukasovic, R Corbalán, S Lavandero. Rev Esp Cardiol 2004; 57: 1053-8.

Effects of carvedilol upon intra- and interventricular synchrony in patients with

chronic heart failure. PF Castro, P McNab, JC Quintana, A Bittner, D Greig, I Vergara, JL Vukasovic, R Corbalán, M Copaja, G Diaz-Araya, M Chiong, R Troncoso, H Alcaino, S Lavandero. Am J Cardiol 2005; 96: 267-9.

Polimorfismos de los receptores β -adrenérgicos y su relación con el riesgo de insuficiencia cardiaca, etiología y prevalencia de infarto al miocardio. P Castro, D Greig, M Copaja, H Alcaíno, R Troncoso, M Chiong, R Mellado, O Perez, JL Vukasovic, G Díaz-Araya, R Corbalán, MP Ocaranza, J Jalil, S Lavandero S. Rev Chil Cardiol. 2005; 24: 38-47.

Effects of carvedilol on oxidative stress and chronotropic response to exercise in patients with chronic heart failure. Castro P, Vukasovic JL, Chiong M, Díaz-Araya G, Alcaino H, Copaja M, Valenzuela R, Greig D, Pérez O, Corbalán R, Lavandero S. In press, 13 April 2005 Eur J Heart Fail. 2004.11.009.

Colaboradores

E.U. Sra. Ivonne Padilla A.

Financiamiento

FONDECYT 1010992 (P. C.)

FONDAP CEMC 15010006 (S. L.)

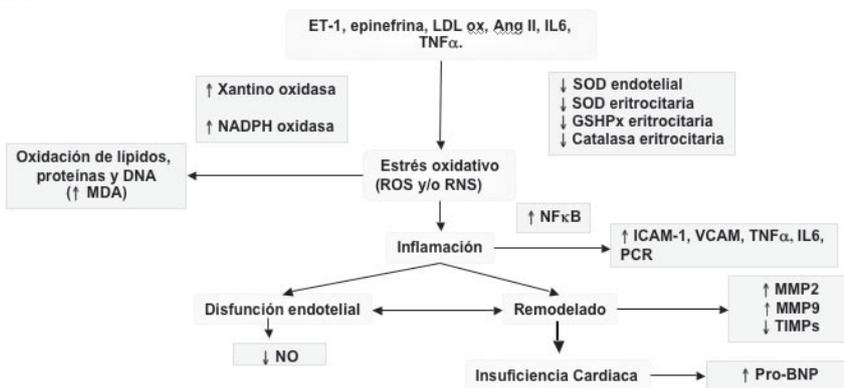
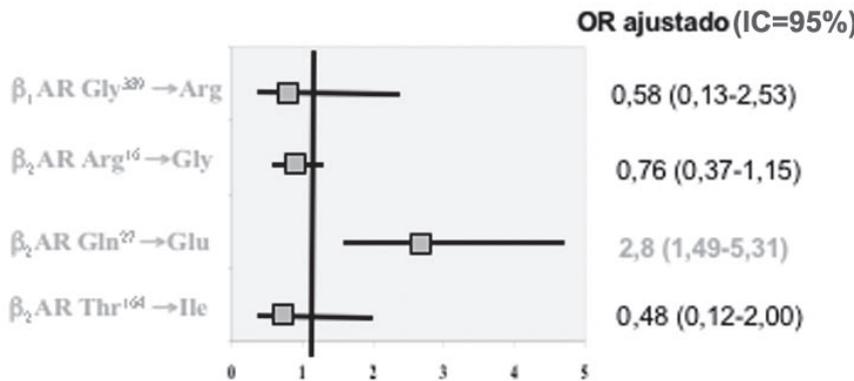


Figura 2: Riesgo de Insuficiencia Cardiaca y Polimorfismos β_1 y β_2

Estudio sobre el efecto del stress en el sistema auditivo y visual y su relación con el desarrollo de la depresión

Alexies Dagnino S. (*), Rodrigo Zepeda C. (*), Gonzalo Terreros H. (*), Carlos Carmona F. (*), Juan Orellana R. (*), Gabriela Díaz V. (**), Sergio Mora G. (**), Ursula Wyneken H. (***), Francisco Aboitiz D. (*)

* Departamento de Psiquiatría, CIM, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

** Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

*** Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes

Introducción

El stress afecta a áreas del cerebro que regulan las respuestas emocionales y el aprendizaje favoreciendo el desarrollo de los síntomas depresivos (Sapolsky, 2001). En humanos, estudios de neuroimágenes han demostrado que pacientes con patologías relacionadas con el stress, como la depresión y el stress post traumático, presentan atrofia del volumen hipocampal y de la corteza prefrontal, y alteraciones funcionales en la amígdala (McEwen, 2004). Recientemente hemos demostrado que el stress en ratas altera más el aprendizaje auditivo que el visual, induciendo además atrofia neuronal en el meencéfalo auditivo y no en el visual (Dagnino-Subiabre, 2005). En este contexto, nosotros hemos propuesto la hipótesis de que las alteraciones que induce el stress en el cerebro se amplifican y afectan a sistemas sensoriales específicos como el auditivo.

Objetivos

Investigar el efecto del stress en la morfología de las neuronas piramidales y expresión del receptor neurotrófico trkb en la corteza auditiva y visual de rata.

Métodos

Estudios morfométricos de Golgi, de inmunohistoquímica para estudiar la expresión de trkb y conductuales (laberinto en cruz elevado y actividad motora) para analizar la eficiencia del protocolo de stress crónico por inmovilización.

Resultados

El stress indujo un aumento de ansiedad y no afectó la actividad motora en las ratas sometidas a stress en este estudio.

A nivel cortical, el stress indujo atrofia dendrítica en las neuronas piramidales de la capa II-III y V-VI de la corteza auditiva primaria y no afectó la morfología de las neuronas de la corteza visual primaria (Figuras 1 y 2). Estos resultados se correlacionaron con un aumento de expresión de trkb en la capa II-III de la corteza auditiva primaria en las ratas estresadas (Figuras 3 y 4).

Conclusiones

Estos resultados sugieren que la corteza auditiva es más susceptible a dañarse por el stress que la corteza visual, lo cual puede afectar el procesamiento emocional de los estímulos auditivos en el cerebro.

Cambios morfológicos en las neuronas de la corteza auditiva podrían ser la base neurobiológica de las alteraciones en el lenguaje que presentan pacientes con depresión mayor (Emery, 1989; Georgieff, 1998; Vandoolaeghe, 1998).

El aumento de expresión de trkb en la corteza auditiva primaria podría ser parte de un mecanismo de defensa que tienen esas neuronas para disminuir el daño que origina el stress en esas neuronas.

Lista de publicaciones

Dagnino-Subiabre A, Terreros G, Carmona-Fontaine C, Zepeda R, Orellana JA, Díaz-Véliz G, Mora S, Aboitiz F (2005) Chronic stress impairs acoustic conditioning more than visual conditioning in rats: morphologic and behavioural evidence. *Neuroscience*, en prensa.

Dagnino-Subiabre A, Montiel J, Carmona-Fontaine C, Orellana JA, Díaz-Véliz G, Concha ML, Wyneken U, Aboitiz F (2005) Chronic stress decrease sympathetic markers in the rat pineal gland. *Journal of Neurochemistry*, en corrección.

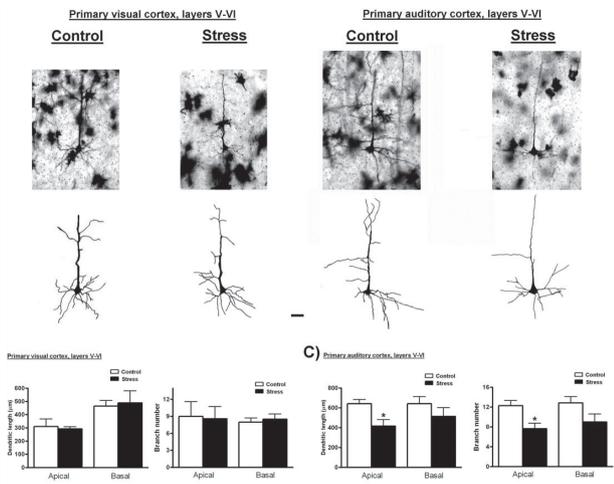


Figura 1

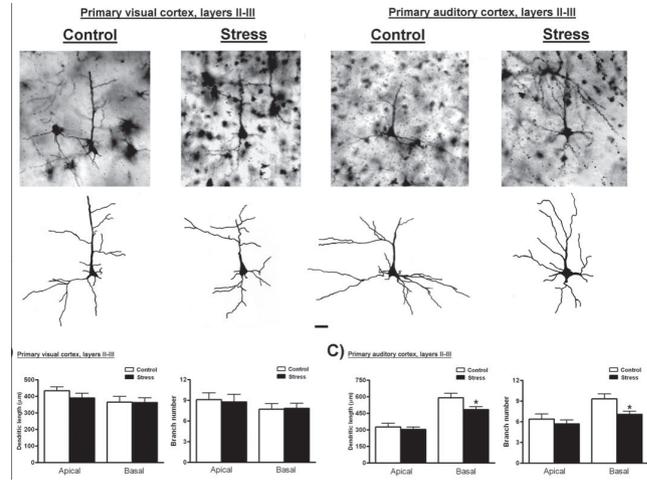


Figura 2

Dagnino-Subiabre A, Zepeda R, Terreros G, Díaz-Véliz G, Mora S, Aboitiz F (2005) Chronic stress impairs the neuronal morphology of the auditory cortex more than the visual cortex in rat. *Enviado a Neuroscience*.

Dagnino-Subiabre A, Díaz-Véliz G, Mora S, Aboitiz F (2005) Chronic stress induces up-regulation of BDNF mRNA expression in the rat pineal gland. *Enviado a Molecular Brain Research*

Financiamiento

Núcleo Milenio de Neurociencias Integradas (CENI)

FONDECYT N° 1050721

Referencias

Dagnino-Subiabre A, Terreros G, Carmona-Fontaine C, Zepeda R, JA Orellana, Díaz-Véliz G, Mora S, Aboitiz F (2005) Chronic stress impairs acoustic conditioning more than visual conditioning in rats: morphological and behavioural evidence. *Neuroscience*, in press.

Emery OB, Breslau LD (1989) Language deficits in depression: comparisons with

SDAT and normal aging. *J Gerontol* 44: M85-92.

Georgieff N, Dominey PF, Michel F, Marie-Cardine M, Dalery J (1998) Anomia in major depressive state. *Psychiatry Res* 77:197-208.

McEwen BS and Chattarji S (2004) Molecular mechanisms of neuroplasticity and pharmacological implications: the example of tianeptine. *Eur Neuropsychopharmacol* 5: S497-502.

Sapolsky RM (2001) Depression, antidepressants, and the shrinking hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:12320-12322.

Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW (1996) Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 3908-13.

Vandoolaeghe E, van Hunsel F, Nuyten D, Maes M (1998) Auditory event related potentials in major depression: prolonged P300 latency and increased P200 amplitude. *J Affect Disord* 48:105-13

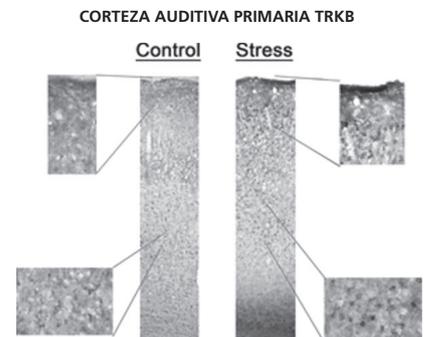


Figura 3

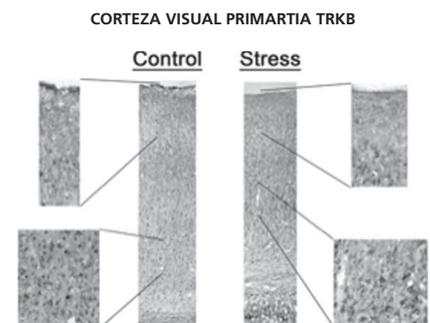


Figura 4

Rol de los factores vaso - dilatadores en la invasión trofoblástica y la mantención de la perfusión placentaria.

Gloria Valdés S., Jenny Corthorn H., Cecilia Chacón L.

Centro de Investigaciones Médicas y Departamento de Nefrología,
Escuela de Medicina
Pontificia Universidad Católica

Introducción

Esta línea tiene por objetivo comprender la adaptación de las circulaciones materna y fetal, y se inició a raíz de la necesidad de ofrecer el mejor de los tratamientos a la hipertensa embarazada y a su hijo, para reducir la presión arterial de la madre sin deteriorar la perfusión fetal.

Búsqueda de un rol contraregulador de los vasodilatadores : Evaluamos el sistema vasodilatador calicreína-cininas, utilizando como marcador la excreción urinaria de calicreína (CAL), la enzima que pone en marcha a este sistema. Demostramos un ascenso de CAL a lo largo del embarazo, que no correlacionaba con la actividad del sistema vasoconstrictor renina-angiotensina. Nuevos trabajos enfatizaron el hecho de que el alza de CAL urinaria precede a la de los vasoconstrictores, alcanzando su máximo entre las semanas 8 y 12, lo que nos hizo postular una función primordial, aumentando la irrigación uterina en la implantación.

Comprobación de la expresión del sistema calicreína-cininas en el útero y placenta del animal de laboratorio: En la rata gestante pudimos comprobar que CAL es sintetizada en el útero, y que en ciclo estral está aumentada en proestro, y en

embarazo asciende entre los días 5 a 7 de la gestación. Mediante inmunohistoquímica se demostró CAL en el epitelio luminal y glandular de la zona de implantación, y en la segunda mitad de la gestación en los sinusoides localizados en la zona subplacentaria (Fig. 1A y 2A). En la rata ovariectomizada y suplementada con estrógeno, en pseudopreñez, con implantación unilateral de embriones y con estimulación intraluminal por aceite comprobamos que la síntesis de CAL es regulada por estrógeno, y por estimulación intraluminal, y es inhibida por progesterona. El efector de la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular es el receptor de bradicinina de tipo 2 (B2R), que en el útero y placenta se expresa en los mismos tipos celulares que CAL, y además en las células deciduales, en lecho placentario, endotelio de arterias y venas uterinas, músculo liso vascular y miometrio (Fig. 1B y 2B).

Búsqueda de la expresión del sistema calicreína-cinina en la unidad útero-placentaria humana: Hemos planteado que la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad capilar participan en la invasión trofoblástica, por un

lado edematizando la decidua, y por otro haciendo a la arteria espiral más “complaciente” a ser invadida por el trofoblasto; una vez desarrollada la placenta esta vasodilatación participa en la mantención del flujo placentario y en la prevención de la coagulación. Por esto continuamos nuestro estudio con tejidos humanos, en los que demostramos expresión de CAL en sinciotrofoblasto, vasos fetales, trofoblasto intravascular. En los tejidos maternos, CAL y su RNAm se expresa en epitelio luminal y glandular y células endoteliales. El RNAm y el B2R se localizan en los mismos tipos celulares, y en células deciduales, y en citotrofoblasto veloso, de columnas de anclaje e invasor (Fig. 3 A,C y 4 A,C).

Incorporación del componente vasodilatador del sistema renina-angiotensina: Postulamos que la gestación debe protegerse con sistemas redundantes, por lo que evaluamos 2 nuevos factores vasodilatadores, angiotensina-(1-7) (ANG-(1-7)), y la enzima de conversión 2 (ACE2), que la genera. Comprobamos ANG-(1-7) urinaria aumenta a lo largo del embarazo, con un perfil defasado de CAL, conformando así “sistemas vasodilatadores de relevo”, eficaces para

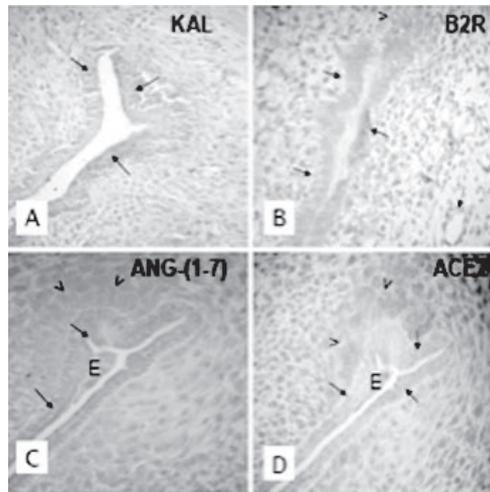


Figura 1: CAL, B2R, ANG - (1-7) y ACE2 en epitelio y decidua del sitio de implantación en rata en día 7 de gestación

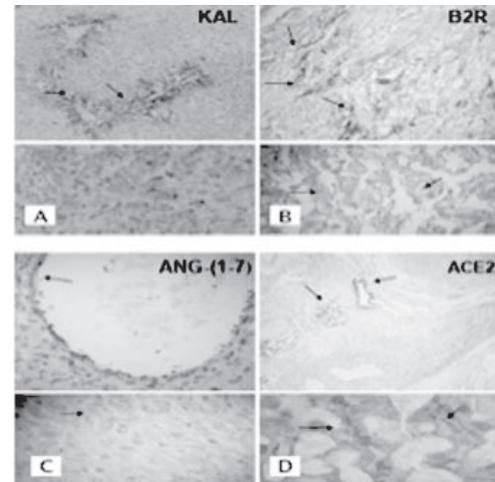


Figura 2: CAL, B2R, ANG - (1-7) y ACE2 en sinusoides subplacentarios y placenta laberintina en rata en día 16 de gestación

una condición de grandes variaciones hormonales como el embarazo. Estos mismos factores se identificaron en la rata gestante, encontrándolos en los mismos tipos celulares que expresan CAL y B2R (Fig. 1 C,D y 2 C,D). En la mujer hemos demostrado que ANG-(1-7), ACE2, y eNOS se expresan en los mismos tipos celulares que B2R, al que ANG-(1-7) y eNOS potencian, por lo que planteamos que existen vasodilatadora interrelacionados que amplifican su efecto (Fig. 3 B,D y 4 B,D).

Proyecciones futuras: El nuevo proyecto Fondecyt trata de comprender la relación entre los diversos sistemas vasodilatadores uterinos en la cobaya, cuya placentación es similar a la humana. A los factores estudiados hemos agregado a eNOS, metaloproteinasas, al factor de crecimiento endotelial (VEGF) y a sus receptores (flt1-flt2), asociados al sistema calicreína-cininas, primer objetivo de nuestro estudio.

Lista de publicaciones

Valdés G, Neves LAA, Anton L, Corthorn J, Chacón C, Germain AM, Merrill DC, Ferrario CM, Sarao R, Penninger J, Brosnihan KB. Distribution of angiotensin-

(1-7) and ACE2 in human placentas of normal and pathological pregnancies. *Placenta*, in press.

Brosnihan KB, Neves LA, Anton L, Joyner J, Valdes G, Merrill DC. Enhanced expression of Ang-(1-7) during pregnancy. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37:1255-62..

Valdés G, Germain AM, Corthorn J, Chacón C, Figueroa CD, Muller-Esterl W. Tissue kallikrein and bradykinin B2 receptor in human uterus in luteal phase and in early and late gestation. *Endocrine.* 2001;16:207-15.

Valdés G, Germain AM, Corthorn J, Berríos C, Foradori AC, Ferrario CM, Brosnihan KB. Urinary vasodilator and vasoconstrictor angiotensins during menstrual cycle, pregnancy, and lactation. *Endocrine.* 2001;16:117-22.

Valdés G, Chacón C, Corthorn J, Figueroa CD, Germain AM. Tissue kallikrein in human placenta in early and late gestation. *Endocrine.* 2001;14:197-204.

Figueroa CD, Chacón C, Corthorn J, Ehrenfeld P, Muller-Esterl W, Valdés

G. Temporospatial changes of kinin b2 receptors during the estrous cycle and pregnancy in the rat uterus. *Biol Reprod.* 2001;64:1590-9.

Valdés G, Corthorn J, Figueroa CD. The kallikrein-kinin system along the different stages of gestation: experimental and clinical findings. *Biol Res.* 1998;31:235-41.

Corthorn J, Figueroa C, Valdés G. Estrogen and luminal stimulation of rat uterine kallikrein. *Biol Reprod.* 1997;56:1432-8.

Valdés G, Figueroa CD, Corthorn J. Temporospatial changes of kallikrein-like enzymes during the estrous cycle and pregnancy in the rat uterus. *Biol Reprod.* 1996;55:236-45.

Corthorn J, Valdés G. Variations in uterine kallikrein during cycle and early pregnancy in the rat. *Biol Reprod.* 1994;50:1261-4.

Valdés G, Corthorn J, Scicli AG, Gaete V, Soto J, Ortíz ME, Foradori A, Saed GM. Uterine kallikrein in the early pregnant rat. *Biol Reprod.* 1993;49:802-8.

Colaboradores nacionales

Alfredo M. Germain., Arnaldo Foradori,, Ignacio Duarte, Escuela de Medicina PUC.

María Elena Ortiz, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC.

Carlos D. Figueroa, Universidad Austral de Chile, Valdivia

Gloria X. Soto, Hospital Paula Jaraquemada, Santiago.

Forest, Winston Salem, USA)

Werner Müller Esterl (University of Frankfurt Medical School, Frankfurt, Germany).

Guillermo Scicli (Henry Ford Hospital, Detroit, USA)

Olga Genbacev (UCLA, San Francisco, USA

1050707 RELACION ENTRE EL SISTEMA CALICREINA-CININAS Y OTROS COMPONENTES DEL REPERTORIO VASODILATADOREN EL PROCESO DE PLACENTACION.

1980958 EVALUACION DE LA REGULACION HORMONAL DE CALICREINA UTERINA Y SU ROL EN LA GESTACION

Colaboradores internacionales

Bridget K. Brosnihan (University Wake-Forest, Winston Salem, USA)

Carlos M. Ferrario (University Wake-

Financiamiento

1020705 EL SISTEMA CALICREINA-CININAS, UNA HERRAMIENTA PARA COMPRENDER LA PLACENTACION.

1940636 BUSQUEDA DE NUEVAS EVIDENCIAS DEL ROL DEL SISTEMA CALICREINA-CININAS EN LA GESTACION

1920749 ROL DEL SISTEMA

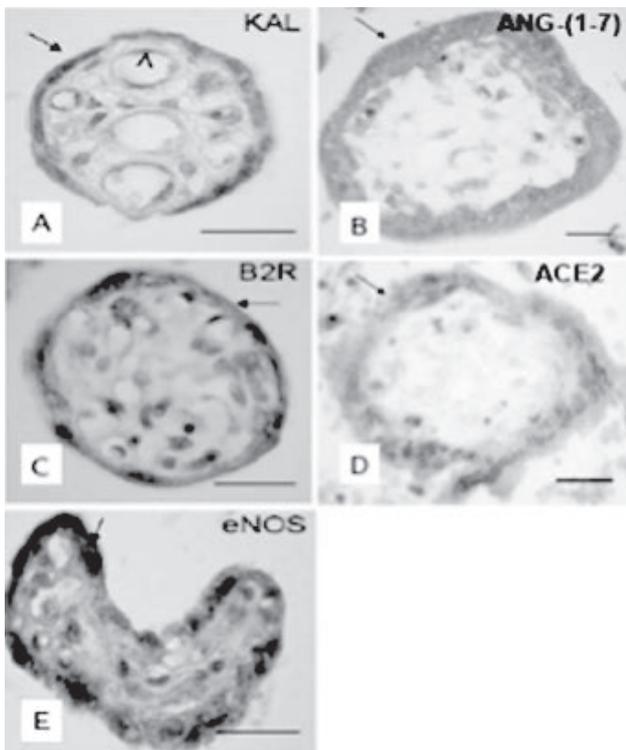


Figura 3: CAL, B2R, ANG - (1-7), ACE2 y eNOS en sinciotrofoblasto y capilares fetales de vellosidades de placentas de término normales

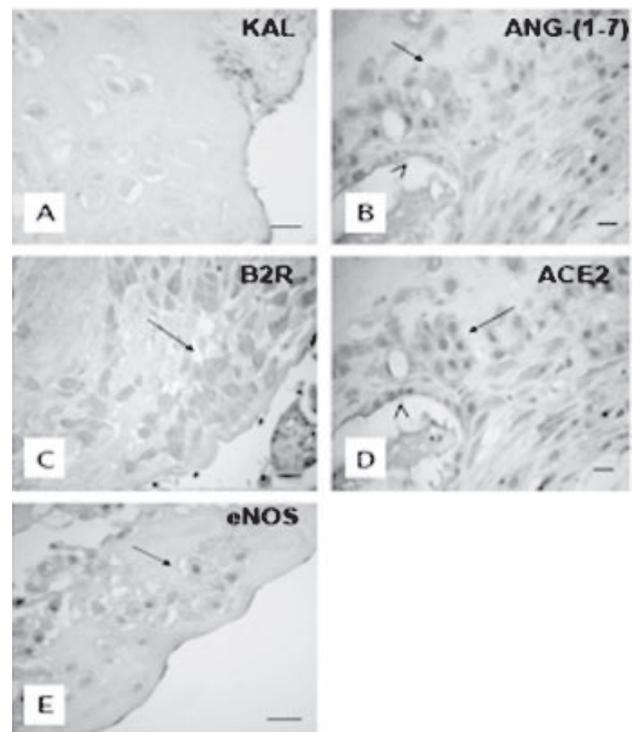


Figura 4: CAL, B2R, ANG - (1-7), ACE2 y eNOS en citotrofoblasto invasor de placentas de término normales



Sepsis neonatal precoz por *Streptococcus agalactiae* (Grupo B)

Drs Fernando Abarzúa C. (*), Cristián Belmar J. (*), Jorge Becker V. (*), Alonso Rioseco R. (*), Enrique Oyarzún E. (*), Patricia García C. (**), Ana María Guzmán D. (**), José Luis Tapia I. (***)

* Depto Obstetricia

** UDA Laboratorios Clínico

*** Depto Pediatría-Unidad Neonatología

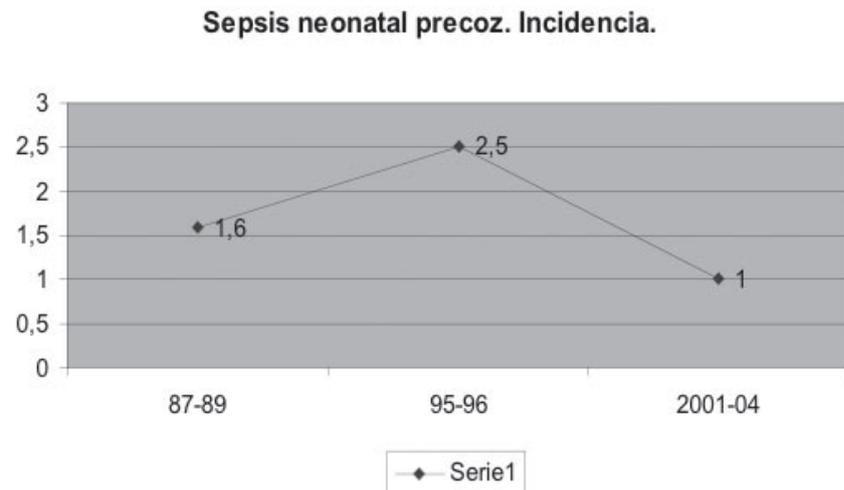
Sepsis neonatal precoz por *Streptococcus agalactiae* (Grupo B)

Streptococcus agalactiae (B hemolítico grupo B, SGB) es el principal agente bacteriano de sepsis neonatal precoz, adquirida al momento del parto. En 1996 el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), propuso dos diferentes protocolos de prevención: a) administrar antibiótico intraparto basado sólo en factores de riesgo (prematurez, fiebre intraparto, antecedentes de bacteriuria por SGB o de un recién nacido anterior con sepsis por SGB), o b) incorporar el screening universal de portación de SGB.

Objetivos

Evaluar el impacto en la tasa de sepsis neonatal precoz, de la implementación de la estrategia que incorpora screening universal de mujeres embarazadas durante el tercer trimestre de gestación.

La hipótesis es que la aplicación de dicho protocolo reduce la tasa de sepsis neonatal precoz en comparación al protocolo basado exclusivamente en factores de riesgo, utilizado hasta la fecha.



Pacientes y métodos

A partir de octubre de 1999 se incorporó, como parte del control prenatal, la pesquisa de las pacientes colonizadas por SGB entre las 35 y 37 semanas de embarazo.

Se indicó ampicilina intraparto a todas las madres con cultivos positivos para SGB y además a aquellas con factores de riesgo o partos prematuros.

Resultados

1.- Incidencia de sepsis neonatal precoz: La

incidencia de sepsis precoz en el período de estudio (enero 2001 a diciembre 2005) fue 1,0 / recién nacidos vivos (RNV), comparado con el período 1987-1989 que fue de 1,6/1000 RNV y 1995-1996 fue de 2,5/1000 RNV. En estos dos últimos períodos, SGB fue responsable del 50% y 54% de los casos de sepsis precoz. En el período en estudio (2001-4), correspondió al 11% de los casos (p0.05).

2.-Prevalencia de portación de SGB en el tercer trimestre del embarazo: En el período comprendido entre octubre de

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA	
Ampicilina	0%
Penicilina	0%
Cefazolina	0%
Clindamicina	3,70%
Eritromicina	3,20%

PREVALENCIA SGB EN EMBARAZADAS SEGUN MODO DE PESQUISA	
Agar sangre	12%
Todd Hewitt	19,80%
IFI	9%

Financiamiento

Departamento de Obstetricia
UDA Laboratorios Clínicos-Laboratorio
Microbiología

Departamento de Pediatría
U. neonatología

1999 y abril de 2001 se evaluó a 2192 embarazadas entre las 35 y 37 semanas. La prevalencia de SGB utilizando medio selectivo (Caldo Todd Hewitt) fue de un 19,8%, porcentaje que baja a un 12,7% si se utiliza sólo medio no selectivo (agar sangre).

Conclusiones

La incorporación del protocolo con screening universal parece reducir la incidencia de sepsis neonatal precoz en comparación al protocolo con factores de riesgo exclusivo

Lista de publicaciones

* Belmar J., Cristián, Abarzúa C., Fernando, Beker V., Jorge et al. ESTUDIO DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE 183 CEPAS DESTREPTOCOCCUSAGALACTIAE AISLADAS EN REGION VAGINO-PERINEAL DE EMBARAZADAS EN EL TERCER TRIMESTRE. Rev. chil. obstet. ginecol., 2002, vol.67, no.2, p.106-109. ISSN 0717-7526

*Abarzúa C., Fernando, Guzmán, Ana María, Belmar, Cristián et al. PREVALENCIA DE COLONIZACION POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (GRUPO B) EN EL TERCER TRIMESTRE DEL EMBARAZO. EVALUACION DEL CULTIVO SELECTIVO. EXPERIENCIA EN 2192 PACIENTES. Rev. chil. obstet. ginecol., 2002, vol.67, no.2, p.89-93. ISSN 0717-7526

*Guzmán d., Ana m., Abarzúa c., Fernando, belmar j., Cristian et al. RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DEL PROTOCOLO BASADO EN SCREENING PARA LA BÚSQUEDA DESTREPTOCOCCUSAGALACTIAE EN EL TERCER TRIMESTRE DEL EMBARAZO: POSIBLE IMPACTO SOBRE LA SEPSIS NEONATAL PRECOZ POR ESTE AGENTE. Rev. chil. infectol., 2001, vol.18, no.3, p.187-192. ISSN 0716-1018

*Abarzúa C., Fernando, Zajer, Claudia, Guzmán D, Ana María et al. DETERMINACION DE LA PORTACION DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (GRUPO B) EN EMBARAZADAS DURANTE EL TERCER TRIMESTRE MEDIANTE INMUNOENSAYO. Rev. chil. obstet. ginecol., 2002, vol.67, no.4, p.293-295. ISSN 0717-7526

*JL Tapia I, Cristina Teicchard T, MI Saldías, F Abarzúa C, ME Pérez, A González. SEPSIS NEONATAL: INCIDENCIA Y CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS EN UNA UNIDAD NEONATAL. COMPARACIÓN CON PERÍODOS ANTERIORES. En prensa

Colaboradores

Dra Claudia Zajer.
Interna Cristina Reichhard T



Estudio clínico-molecular de la hipertensión mediada por mineralocorticoides

Dr. Carlos Fardella B.(*), Dra. Lorena Mosso G. (*),
Bq. Cristian Carvajal M. (*) y Dr. Joaquín Montero (**)

* Departamento de Endocrinología, Pontificia Universidad Católica de Chile
** Departamento de Medicina Familiar, Pontificia Universidad Católica de Chile

Un subtipo de HTA esencial (HE) es la HTA hiporreninémica que se estima correspondería al 20% de la población de hipertensos.

En la HTA hiporreninémica se ha planteado que la supresión de renina y la elevación de la presión arterial podrían explicarse a través de una síntesis excesiva de mineralocorticoides. Esta hipótesis fue estudiada en el proyecto Fondecyt 198099 concluyendo que alrededor de la mitad de los HTA hiporreninémicos presentaban un hiperaldosteronismo primario no diagnosticado. El subdiagnostico radicaba en que el screening por mucho tiempo se realizo por la presencia de hipokalemia que es poco sensible y no por la determinación de renina y aldosterona como se realiza en la actualidad (Fig. 1). El diagnostico de esta enfermedad es muy importante ya que la aldosterona también provoca daño vascular y miocárdico secundario a la elevación de la presión arterial y a través de mecanismos directos de injuria vascular.

Dado que el Hiperaldosteronismo primario solo explica la mitad de los casos de hiporreninemia, hemos estudiado otros cuadros que pudieran activar el receptor de mineralocorticoides gatillando un cuadro semejante (Fondecyt 1011035).

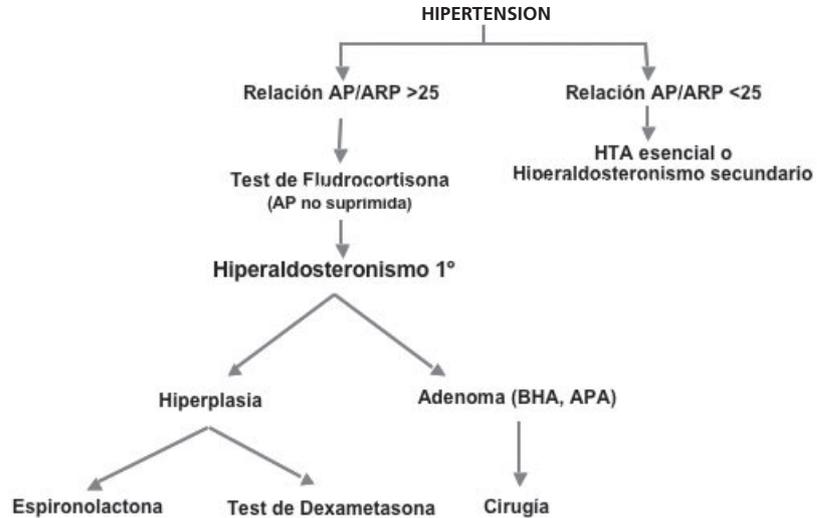


Figura 1: Diagrama de flujo diagnóstico para Hiperaldosteronismo primario

Así, logramos detectar que déficits a nivel de la enzima 11β-hidroxiesteroide dehidrogenasa tipo 2 (11βHSD2), y en menor medida alteraciones de canal renal de sodio (ENaC), 11β- y 17α -hidroxilasa, pueden explicar alrededor de un 25% mas de los casos de HTA hiporreninémica.

Especial interés presentan los déficit de 11βHSD2, enzima encargada de convertir el cortisol (F) a cortisona (E) y con ello impedir que el cortisol active en forma anormal a este receptor (Fig. 2).

Dado que aun existe un porcentaje de

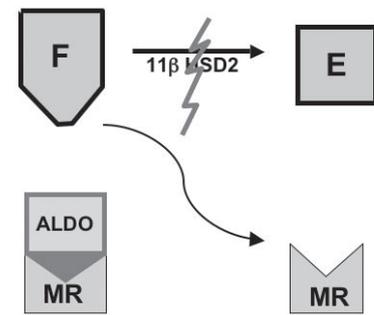


Figura 2: Déficit de 11βHSD2, enzima encargada de convertir el cortisol a cortisona

pacientes hipertensos hiporreninémicos es que postulamos otras hipótesis que se están evaluando en nuestro proyecto Fondecyt actual (1040834), el cual se enfoca en detectar posibles alteraciones a nivel del receptor de glucocorticoides. En la actualidad se sabe que en la resistencia a glucocorticoides, el cortisol se eleva en forma compensatoria por acción de la ACTH. El aumento del cortisol plasmático (así como otros esteroides que también se producen en exceso) permite que este active al receptor de mineralocorticoides (MR), incrementando la reabsorción de sodio, y con ello, la aparición de HTA y la supresión de renina. Resultados preliminares demuestran que alrededor de 15-20% de hipertensos hiporreninémicos presentan elevación del cortisol libre urinario y algunas alteraciones de la unión a su receptor sugerentes de una resistencia a glucocorticoides.

Estos estudios permitirán implementar tratamientos específicos y nos dará la posibilidad de identificar familias con riesgo genético de desarrollar HTA y tomar medidas preventivas que impidan el desarrollo de la enfermedad.

Lista de publicaciones

Fardella CE, Mosso L, Pinto M, Foradori A, Montero J. Primary hyperaldosteronism in essential hypertensives: Prevalence, biochemical profile and molecular biology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1863-7.

Fardella CE, Pinto M, Mosso L, Gomez-Sanchez C, Jalil J, Montero J. Genetic study of patients with dexamethasone-suppressible aldosteronism without the chimeric CYP11B1/CYP11B2 gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct;86(10):4805-7

Mosso L, Gomez-Sanchez CE, Fardella

C. Serum 18-hydroxycortisol in primary aldosteronism, hypertension, and normotensives. *Hypertension.* 2001 (3):688-91.

Mosso L, Fardella C, Montero J. Cautions over idiopathic aldosteronism. *Lancet.* 2001 Jul 28;358(9278):333-4.

Fardella C, Mosso L. Primary aldosteronism. A Review. *Clin Lab* 2002; 48:181-190.

Mosso L, Carvajal C, Gonzalez A, Montero J, Huete A, Gederlini A, Fardella CE. Primary aldosteronism and hypertensive disease. *Hypertension.* 2003 ;42(2):161-5.

Carvajal C, Gonzalez A, Mosso L, Perez-Acle T, Gomez-Sanchez CE, Montero J, Fardella C. Two Homozygous Mutations in the 11 β -HSD2 Gene in a Case of Apparent Mineralocorticoid Excess. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 88: 2501-07.

Mulatero P, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L, Gomez-Sanchez CE, Veglio F, Young WF Jr. 1: Mar;89(3):1045-50. Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004

Cristian A. Carvajal, Damián G. Romero, Lorena M. Mosso, Alexis A. González, Carmen Campino, Joaquín Montero, Carlos E. Fardella. Biochemical and Genetic Characterization of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 In Low-Renin Essential Hypertensives. *J Hypertens.* 2005, 23(1):71-7 (ISI: 3.27)

Fardella C, Carvajal C, Mosso L. Primary

Colaboradores nacionales

Bio. Alexis González, Bq. Paola Krall, Bq. Jose Luis Garrido, Bio. Rocio Artigas, TM. Auristela Rojas, Dra. Carmen Campino, Dr. Gonzalo Valdivia

Colaboradores internacionales

-Universidad de Torino, Italia

Dr. Paolo Mulatero

Dr. Franco Veglio

-Universidad de Mississippi, MS, Estados Unidos

Dr. Celso Gómez- Sánchez

Dr. Damián Romero

Financiamiento

Proyecto FONDECYT 1980999, 1011035 y 1040834



Expansión del volumen plasmático en embarazo normal y patológico

Sofía P. Salas, Andrea Giacaman, Pedro Rosso, Patricio Downey, Guillermo Marshall, Carlos P. Vío (**), y Victoria Gallardo (***)

Departamentos de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Nefrología y Salud Pública y Centro de Investigaciones Médicas

Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

** Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

*** Depto. Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción

Introducción

Nuestra línea de investigación se ha centrado en estudiar los mecanismos que regulan la expansión del volumen plasmático en la gestación normal y en embarazos complicados por restricción de crecimiento fetal (RCF) y pre-eclampsia (PE), yendo desde la observación clínica hasta la investigación experimental en ratas.

Resultados de estudios clínicos

a) Al término de la gestación, embarazadas con restricción de crecimiento fetal idiopático (RCF) tienen menor volumen plasmático que embarazadas con fetos

creciendo en forma adecuada.

b) Esta menor volemia es por menor expansión de volumen plasmático y no por menor volumen pre-embarazo (Fig 1).

c) Embarazadas con RCF idiopático presentan disminución en renina y aldosterona plasmáticos, y en la excreción urinaria de prostaciclina, tromboxano, y caliceína activa. Además, observamos disminución significativa de progesterona y estradiol.

d) Embarazadas con RCF o PE comparten ciertas alteraciones, tales como menor

volemia y disminución de renina, aldosterona y caliceína (Fig 2), mientras que sólo las con PE tienen aumento de progesterona y de la razón progesterona/estradiol (Fig 3).

e) En RCF y PE, la menor expansión del volumen es un evento precoz, que antecede la disminución en aldosterona o estradiol, sugiriendo la participación de otros mecanismos en estos cambios hemodinámicos.

Principales resultados estudios en ratas

a) En la preñez normal, se observa un

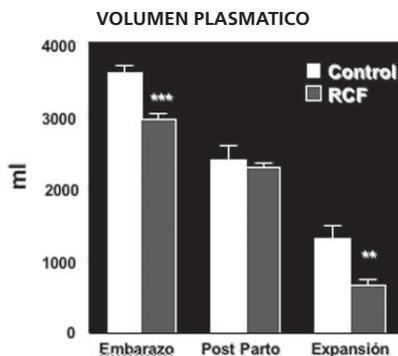


Figura 1: Menor expansión del volumen plasmático en embarazadas con RCF. * = significativo con respecto al control

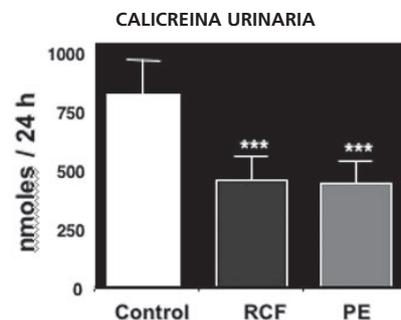


Figura 2: Disminución de la actividad de caliceína urinaria en embarazadas con RCF o con PE

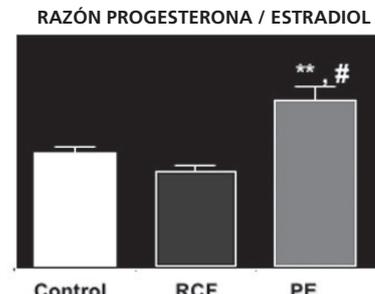


Figura 3: Aumento en la razón progesterona / estradiol en embarazadas con PE

aumento precoz de calicreína urinaria, que antecede al aumento en renina y volumen plasmático maternos.

b) Modelo de desnutrición materna produce menor expansión del volumen plasmático, RCF y disminución de calicreína urinaria.

c) La inhibición de la síntesis de óxido nítrico produce un cuadro tipo PE (menor volumen plasmático, hipertensión, RCF). Además, se asocia a alteraciones renales y disminución de calicreína.

d) En modelo de insuficiencia renal crónica producida por nefrectomía 5/6, a pesar de disminución de calicreína, se logra expansión normal de VP y crecimiento fetal adecuado.

e) Ratas sometidas a deprivación acuosa al término de la gestación, aumentan aún más los niveles de renina y aldosterona.

f) El uso de un precursor de serotonina produce insuficiencia renal aguda, asociada a menor expansión del volumen y RCF.

Conclusión

Los hallazgos descritos muestran que la alteración de la expansión normal del volumen plasmático materno, independiente del mecanismo, se asocia a restricción del crecimiento fetal, confirmando así nuestras observaciones clínicas.

Lista de publicaciones

Salas SP, Marshall G, Gutiérrez BL, Rosso P. Time course of maternal plasma volume and hormonal changes in women with pre-eclampsia or fetal growth restriction. *Hypertension* 2005 (aceptado).

Salas SP, Giacaman A, Vio CP. Renal

and hormonal effects of water deprivation in late-term pregnant rats. *Hypertension*. 2004;44(3):334-9.

Salas SP, Giacaman A, Vio CP. Pregnant rats with 5/6 nephrectomy have normal volume expansion despite lower renin and kallikrein. *Hypertension*. 2003;42(4):744-8.

Salas SP, Vuletin JF, Giacaman A, Rosso P, Vio CP. Long-term nitric oxide synthase inhibition in rat pregnancy reduces renal kallikrein. *Hypertension*. 1999;34(4 Pt 2):865-71.

Giacaman A, Salas SP, Rosso P. Maternal factors modulate the increase in vasoactive substances during rat pregnancy. *Hypertens Pregnancy*. 1999;18(1):23-34.

Salas SP, Rosso P. Plasma volume, renal function, and hormonal levels in pregnant women with idiopathic fetal growth restriction or preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 1998; 17:69-79.

Salas SP, Altermatt F, Campos M, Giacaman A, Rosso P. Effects of long-term nitric oxide synthesis inhibition on plasma volume expansion and fetal growth in the pregnant rat. *Hypertension*. 1995;26(6 Pt 2):1019-23.

Salas SP, Rosso P, Espinoza R, Robert JA, Valdes G, Donoso E. Maternal plasma volume expansion and hormonal changes in women with idiopathic fetal growth retardation. *Obstet Gynecol*. 1993;81(6):1029-33.

Rosso P, Donoso E, Braun S, Espinoza R, Fernandez C, Salas SP. Maternal hemodynamic adjustments in idiopathic fetal growth retardation. *Gynecol Obstet Invest*. 1993;35(3):162-5.

Colaboradores nacionales

Docentes formadores: Renato Albertini, Héctor Croxatto, Juan Roblero, Gloria Valdés

Ayudantes Alumnos de Medicina: Fernando Altermatt, Arturo Baeza, Mauricio Campos, William Romero, Priscilla Valdebenito, Eduardo Villanueva, Fernando Vulletin, Eugenio Zalaquett, Nicolás Zamarín

Colaboradores internacionales

Drs. Joey Granger y Barbara Alexander
Dept Physiology, School of Medicine,
University of Mississippi
Jackson, Mississippi

Financiamiento

Proyectos Fondecyt
1.85.5088 1.89.0592 1.91.0734 1.92.0657
1.94.0603 1.96.0779 1.00.0553
DIPUC: ayuda viaje
Esc. Medicina: ayudantes alumnos



Quiescencia Miometrial del Embarazo

Jorge A. Carvajal C. (*); Mauricio A. Cuello F. (**); José A. Poblete L. (*)

Departamento de Obstetricia y Ginecología

* Unidad de Medicina Materno Fetal

** Unidad de Oncología

Introducción

El control preciso de la duración del embarazo se logra en gran medida gracias a la mantención de una activa relajación uterina durante gran parte de la gestación, proceso conocido como Quiescencia Miometrial.

Hipótesis

Postulamos que las membranas fetales (corion y amnios), liberan un factor, o grupo de factores, que actuando de modo paracrino, desempeñan un rol fundamental en la mantención de la Quiescencia Miometrial. Metodología: Se midieron cambios en la contractilidad miometrial in Vitro inducidos por las membranas fetales (corion o amnios).

Resultados

El corion y el amnios, pero no la decidua, producen una disminución significativa y reversible de la contractilidad miometrial (Figura 1). Las membranas prematuras producen una mayor reducción en la contractilidad que las membranas de término ($p < 0.05$). Las membranas de término obtenidas luego del inicio del trabajo de parto, producen la misma inhibición que aquellas obtenidas antes del

inicio del trabajo de parto. Las membranas obtenidas de embarazos prematuros con trabajo de parto, pierden completamente su capacidad inhibitoria (Figura 2). El bloqueo de Canales de K^+ miometrial mediante iberiotoxina, disminuye en una 50% la máxima inhibición producida por las membranas fetales o el medio condicionado (Figura 3). El BNP (10-7M) inhibe en un 50% la contractilidad del miometrio prematuro.

El péptido y su mRNA, fueron detectados mediante RIA y RT-PCR en el corion y amnios de término y pretérmino; sin variaciones por edad gestacional o trabajo de parto.

Conclusiones

Concluimos que las membranas fetales humanas, tanto el corion como el amnios, producen y liberan uno o varios factores que inhiben la contractilidad miometrial in Vitro. Hemos denominado a este factor(es) como Factor Quiescente derivado de las Membranas Fetales (FQ-MF). Los datos apoyan nuestra hipótesis de que el FQ-MF juega un papel fundamental en la mantención de la Quiescencia Miometrial. Postulamos que una falla en la producción

o el transporte de FQ-MF puede contribuir a una activación miometrial prematura y así al inicio prematuro del trabajo de parto.

Demostramos que la capacidad inhibitoria de las membranas fetales es reducida en un 50% por el bloqueo farmacológico de los canales $BKCa$ miometrial. Postulamos que al menos uno de los factores constituyentes del FQ-MF actúa aumentando el grado de actividad de los canales $BKCa$ miometrial. Finalmente demostramos que el BNP inhibe la contractilidad del miometrio prematuro, y evidenciamos la presencia del BNP y su mRNA en el corion y el amnios. Estos hallazgos apoyan nuestra hipótesis de que el BNP podría ser uno de los componentes del FQ-MF.

Lista de publicaciones

-Carvajal JA, Buhimschi IA, Thompson LP, Aguan K, Weiner CP. Chorion releases a factor that inhibits oxytocin-stimulated myometrial contractility in the pregnant guinea pig. *Hum Reprod.* 2001 Apr;16(4):638-43

-Carvajal JA, Aguan K, Thompson LP, Buhimschi IA, Weiner CP.

Natriuretic peptide-induced relaxation of myometrium from the pregnant guinea pig is not mediated by guanylate cyclase activation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001 Apr;297(1):181-8

-Carvajal JA, Weiner CP. Mechanisms Underlying Myometrial Quiescence During Pregnancy. *Fetal and Maternal Medicine Review.* 2003;14(3):209-237

-Carvajal JA, Thompson LP, Weiner CP. Chorion-induced myometrial relaxation is mediated by large-conductance Ca-activated K channel opening in the guinea pig. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Jan;188(1):84-91.

-Carvajal JA, Vidal RJ, Cuello MA, Poblete JA, Weiner CP. Mechanisms of paracrine regulation by fetal membranes of human uterine quiescence. *Journal Soc Gyn Invest.* Enviado.

Carvajal JA, Vidal RJ, Cuello MA, Poblete JA, Weiner CP. Fetal Membranes produced Brain Natriuretic Peptide (BNP) may mediate Pregnancy Uterine Quiescence in Humans. *AJP.* Enviado

Colaboradores nacionales

Rossana X. Vidal L.
Tecnólogo Médico
Laboratorio de Medicina Materno Fetal

Colaboradores internacionales

-Carl P. Weiner and Loren P. Thompson.
Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Sciences
University of Maryland, Baltimore. USA.

-Irina Buhimschi and Catalin Buhimschi
Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Science.
Yale University School of Medicine, New Haven,

Financiamiento

-Proyecto de Inicio. DIPUC. Investigador Principal. “El corion humano produce una sustancia con la capacidad de inhibir la contractilidad miometrial inducida por ocitocina.”

-Proyecto FONDECYT 1020675. Investigador Principal. “Quiescencia miometrial del embarazo. Rol del péptido natriurético cerebral en la regulación paracrina de la actividad contráctil uterina.

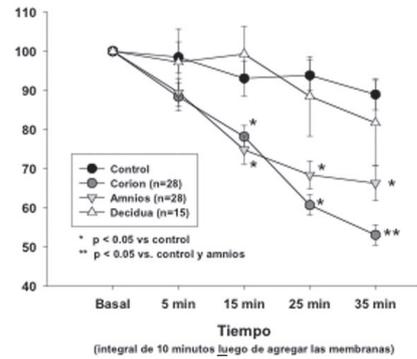


Figura 1: Inhibición de la contractilidad miometrial in vitro por corion y amnios

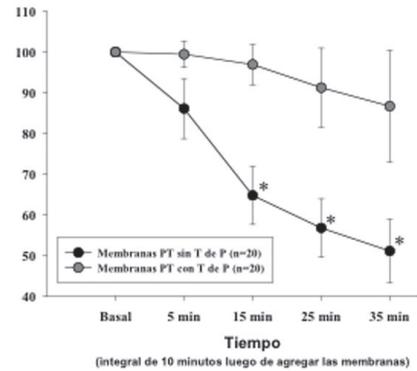


Figura 2: Membranas de pretérmino en Trabajo de Parto NO inhiben contractilidad miometrial

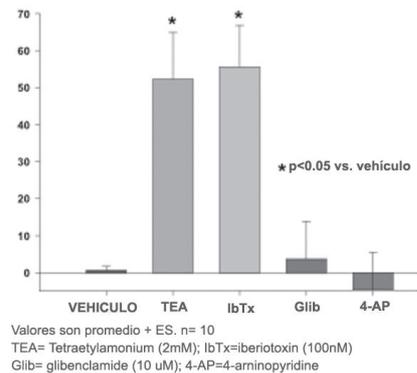


Figura 3: Membranas de pretérmino en Trabajo de Parto NO inhiben contractilidad miometrial

Apoptosis mediada por TRAIL en cánceres ginecológicos

Mauricio Cuello F. (*), Sumie Kato C. (*), Claudia Saez S. (**),
Roger Gejman E. (***), A. Castiblanco G. (***), Gareth I. Owen (****).

* Departamento de Obstetricia y Ginecología
 ** Departamento de Hematología-Oncología
 *** Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina
 **** Departamento de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas
 Pontificia Universidad Católica de Chile

Pese a los avances alcanzados en el tratamiento del cáncer de endometrio y ovario aún existe un número importante de mujeres que fallecen por la enfermedad. Aproximadamente 500 mujeres fallecen al año en Chile por esta causa. Ello se explica por la poca efectividad de las distintas terapias existentes (cirugía, quimioterapia, radioterapia y la combinación de éstas) en la enfermedad que se presenta en etapa avanzada. A fin de encontrar nuevas terapias, se ha buscado blancos moleculares que interviniendo en el proceso de carcinogénesis puedan ser utilizados como terapia. Dentro de dichos blancos, un miembro de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) de receptores de muerte celular ha adquirido un particular atractivo. El ligando llamado TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) una vez unido a su receptor, induciría apoptosis vía activación de caspasas en una amplia variedad de tumores (Fig.1). Lo más importante, TRAIL induciría selectivamente apoptosis en células cancerosas respetando las células normales. Previamente hemos reportado que la mayoría de las líneas de cáncer de ovario y mama son resistentes a TRAIL. Los mecanismos detrás de

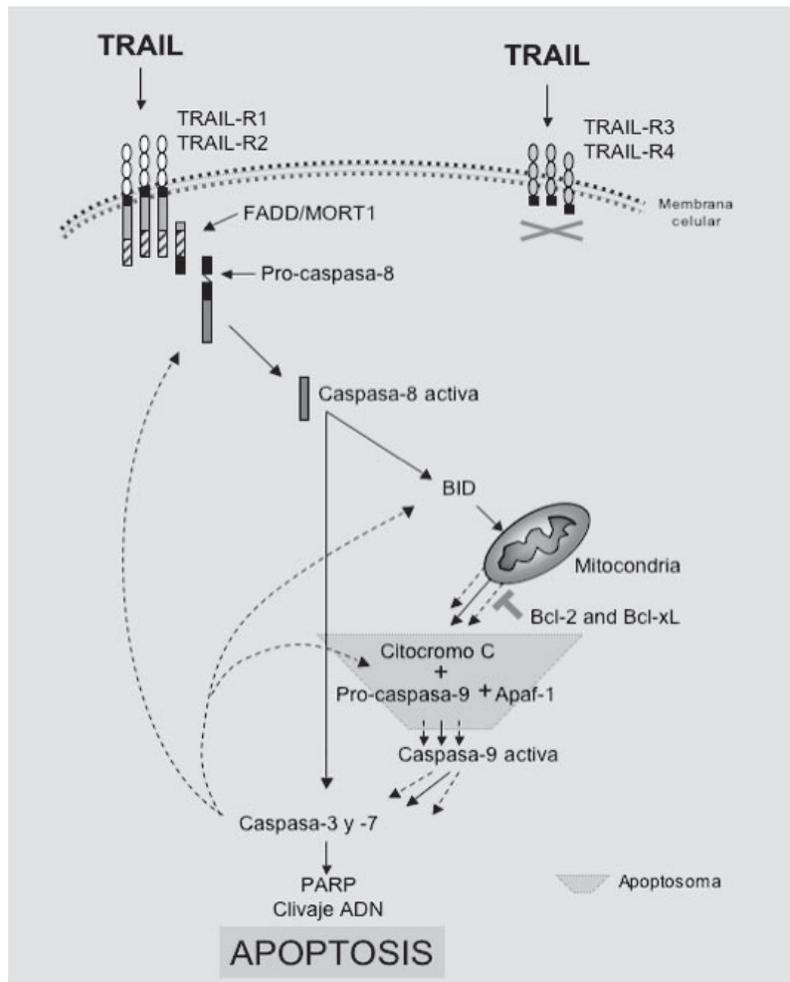


Figura 1: Apoptosis mediada por TRAIL

dicha resistencia no son completamente conocidos e incluyen la expresión anormal de diversos mediadores que participan de la cascada de la apoptosis (ej. AKT, TRAIL-R3 y -R4, FLIPs, survivin, IAPs, Bcl-2, etc). Ya hemos reportado que el uso de quimioterapia induce muerte mediada por TRAIL en cáncer de ovario resistente a ambas terapias por separado.

Así también, agentes como fenretinide (4-HPR) vía activación de la cascada mitocondrial favorecerían la muerte mediada por TRAIL en cáncer de ovario. Tanto cáncer de ovario y endometrio son tumores hormono-dependientes. En ellos el balance proliferación-apoptosis estaría influenciado por las hormonas esteroidales ováricas. Mediadores de la apoptosis mediada por TRAIL serían afectados también por ellas (ej. AKT). Escasa información existe sobre los efectos de TRAIL en cánceres ginecológicos y la mayoría de dicha información se ha obtenido en líneas celulares comercialmente disponibles. Así, nuestro trabajo actual se ha abocado a:

- 1) estudiar los efectos que las hormonas esteroidales y sus derivados tendrían sobre la sensibilidad a TRAIL de cánceres ginecológicos hormono-dependientes.
- 2) estudiar los mecanismos detrás de dicha interacción.
- 3) estudiar la inducción de apoptosis por TRAIL en otros cánceres ginecológicos.
- 4) investigar los efectos de TRAIL sobre los tejidos reproductivos normales considerando que se vislumbra como nueva terapia para múltiples cánceres.

A la fecha, hemos trabajado tanto con líneas celulares comerciales como con cultivos primarios que han sido establecidos

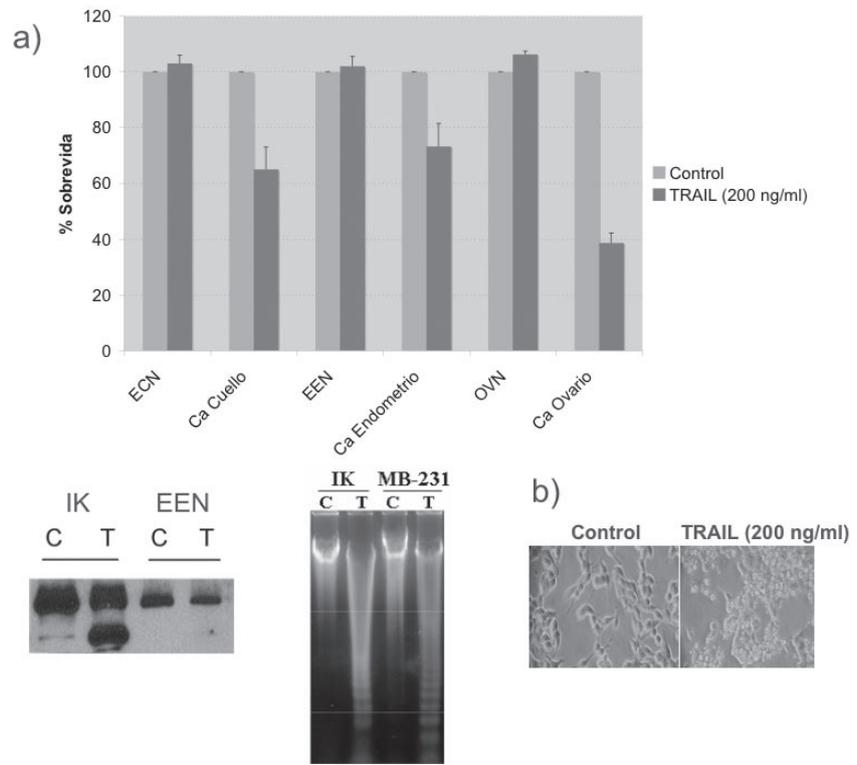


Figura 2: a) Citotoxicidad de TRAIL en cánceres ginecológicos (MTS, Western blot PARP y DNA ladder) **b)** Aspecto microscópico de células A2780 de cáncer de ovario tratadas con TRAIL

desde pacientes. Hemos establecido que condiciones hormonales que remedan el uso combinado de estrógenos más progesterona y el uso de un metabolito de los estrógenos (2-metoxiestradiol, 2ME) son capaces de inducir la muerte mediada por TRAIL en cáncer de ovario y endometrio. Más interesante, sin afectar los tejidos reproductivos normales (cuello, endometrio, ovario, etc) (Fig. 2-4).

Lista de publicaciones

-NfκB and TRAIL mediated apoptosis in breast cancer cell lines. M. Keane, Y. Rubinstein, M. Cuello, SA. Ettenberg, P.

Banerjee, MM. Nau, S. Lipkowitz Breast Cancer Research and Treatment 2000; 64(2):211-219

-A synergistic interaction between TRAIL and chemotherapy induces apoptosis in chemoresistant ovarian cancer cells. M. Cuello, SA. Ettenberg, M. Nau, S. Lipkowitz Gynecologic Oncology 2001; 81(3):380-390

-Downregulation of the erbB-2 receptor by trastuzumab (Herceptin) enhances TRAIL-mediated apoptosis in breast and ovarian cancer cell lines which overexpress



erbB-2. M. Cuello, SA. Ettenberg, AS. Clark, MM. Keane, RH. Posner, MM. Nau, PA. Dennis, S. Lipkowitz *Cancer Research* 2001; 61(12):4892-4900

-Apoptosis and the treatment of breast cancer. M. Cuello, M. Nau, S. Lipkowitz *Breast Disease*, 2002, 15(2):71-82

-N-(4-Hydroxyphenyl)retinamide (4HPR) enhances TRAIL-mediated apoptosis through enhancement of a mitochondrial amplification loop in ovarian cancer cell lines. M. Cuello, A. Coats, I. Darko, S. Ettenberg, G. Gardner, M. Nau, R. Liu,

M. Birrer, S. Lipkowitz. *Cell death differ* 2004, 11(5):527-541

Colaboradores nacionales

Anil Sadarangani K.(*), Natalia Espinoza Z.(**), Soledad Lange S.(*), Marisol Quezada M.(*), Jorge Brañes Y.(***), David Mayerson B.(***). (*)Estudiantes y (**)personal técnico del Depto. Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. (***)Académicos del Depto. Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, PUC.

Colaboradores internacionales

Stanley Lipkowitz, Laboratory of Cellular

and Molecular Biology, Center for Cancer Research, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, EEUU

Financiamiento

-FONDECYT: 1050744, 1020715
-DIPUC: 200312E

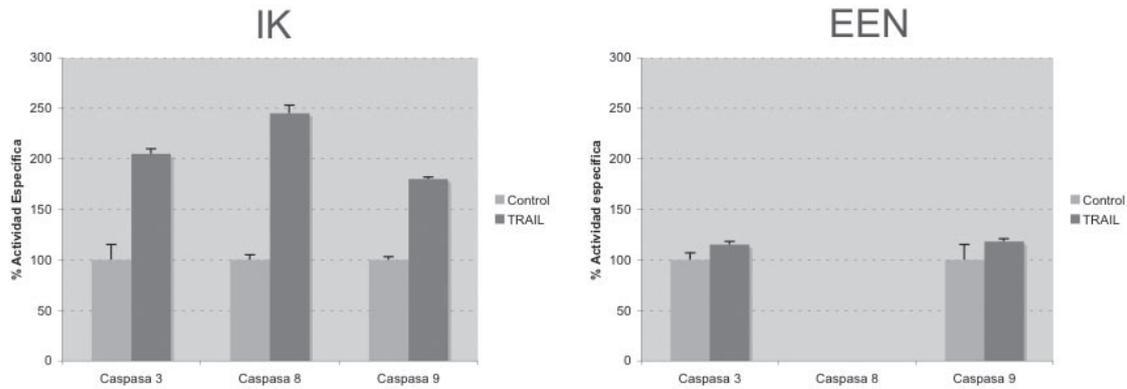


Figura 3: Actividad de caspasas 3, 8 y 9

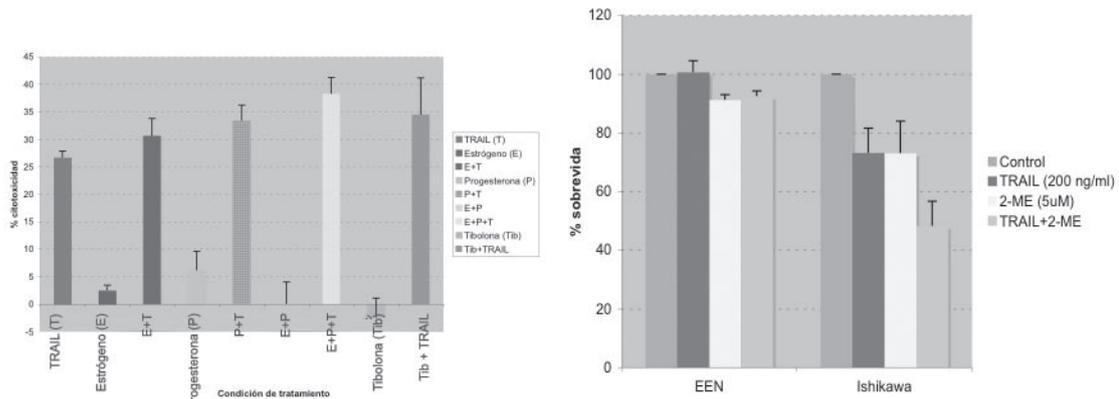


Figura 4: Citotoxicidad de TRAIL en presencia de hormonas ováricas en células Ishikawa (IK)

Bases moleculares cáncer gástrico

Alejandro Corvalán R.

Laboratorio Patología Molecular
Departamento Anatomía Patológica
Facultad de Medicina
Pontificia Universidad Católica de Chile

El cáncer gástrico es la primera causa de muerte por enfermedades neoplásicas en Chile (6,000 casos nuevos / 2,937 muertes anuales). El cáncer gástrico se considera una enfermedad curable si se detecta en etapas tempranas (sobrevivida 98%). Sin embargo, dado que no existen programas de detección precoz, la mayor parte de los casos se diagnostican en etapas avanzadas (sobrevivida <25%). La falta de programas de detección precoz se debe al alto costo de los métodos diagnósticos (radiología y endoscopia) y a la naturaleza invasiva de estos. Nuestro laboratorio intenta identificar marcadores de detección precoz no-invasivos de cáncer gástrico a través de la caracterización de agentes infecciosos y alteraciones genéticas del huésped. Para ello en colaboración con el Instituto Chileno-Japonés de Enfermedades Digestivas y el Centro de Referencia en Salud La Florida hemos establecido un banco de tumores de cáncer gástrico. En este material hemos identificado la presencia del virus Epstein-Barr en 31/185 casos (17%) con un predominio de ubicación cardial y tipo histológico difuso (Figura 1).

Adicionalmente hemos identificado la

presencia de una sola cepa en todos los casos de cáncer gástrico EBV positivo, pero múltiples cepas en población control (Figura 2). Estos datos sugieren la presencia de una cepa de alto riesgo en población sana. El análisis de inactivación de 23 genes supresores de tumores (TSG) del huésped utilizando el método Methylation-specific

PCR y Hierarchical clustering nos ha permitido identificar 6 TSG inactivados en los tipos: adenocarcinoma y mucinoso/anillo de sello (Figura 3). Finalmente la inactivación de estos genes en mucosa gástrica y suero de sujetos controles se encuentra en evaluación con el propósito de desarrollar métodos no-invasivos de detección precoz de cáncer gástrico.



Figura 1



Lista de publicaciones

-Corvalan A, Koriyama C, Akiba S, Eizuru Y, Backhouse C, Palma M, Argandoña J, Tokunaga M: Epstein-Barr virus in gastric carcinoma is associated with location in the cardia and with a diffuse histology: a study in one area of Chile. *Int J Cancer* 2001, 94:527-530

-Koriyama C, Akiba S, Itoh T, Kijima Y,

Sueyoshi K, Corvalan A, Herrera-Goepfer R, Eizuru Y: Prognostic significance of Epstein-Barr virus involvement in gastric carcinoma in Japan. *Int J Mol Med* 2002, 10:635-639

-Koriyama C, Akiba S, Corvalan A, Carrascal E, Itoh T, Herrera-Goepfer R, Eizuru Y, Tokunaga M: Histology-specific gender, age and tumor-location

distributions of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Japan. *Oncol Rep* 2004, 12:543-547

-Corvalan A, Ding S, Koriyama C, Carrascal E, Carrasquilla G, Backhouse C, Urzua L, Argandoña J, Palma M, Eizuru Y, Akiba S: Association of a distinctive strain of Epstein-Barr Virus with Gastric Cancer. *Int J Cancer* 2005, (in press)

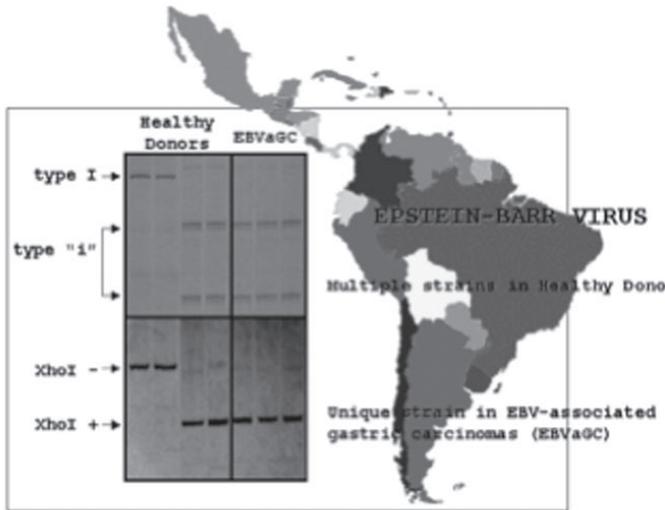


Figura 2

Corvalan A, Akiba S, Valenzuela MT, Cumsille MA, Koriyama C, Argandoña J, Backhouse C, Bal M, Mena F, Palma M, Eizuru Y. Características clínico-moleculares del cancer gástrico cardial asociado al virus Epstein-Barr. *Rev Med Chile* 2005; 133

Colaboradores nacionales

Carolina Bernal, Francisco Ossandon C., Eudocia Santibañez, Erick Riquelme S., Claudia Backhouse E., Mariana Palma V., Jorge Argandoña C., Edmundo Aravena, Carlos Barriento, Alfonso Díaz, Alfonso Calvo, Concepcion Risueño, Pilar Carvallo S, Francisco Melo.

Colaboradores internacionales

-Ignacio Wistuba O. MD. Anderson Cancer Center Houston, TX, USA

-Suminori Akiba, Department of Epidemiology University of Kagoshima, Kagoshima Japan

Fernando Mena U. Hospital Max-Peralta Cartago, Costa Rica

Financiamiento

-Fondecyt 1030130

-Fondecyt 7050076

-Fondecyt 1040779

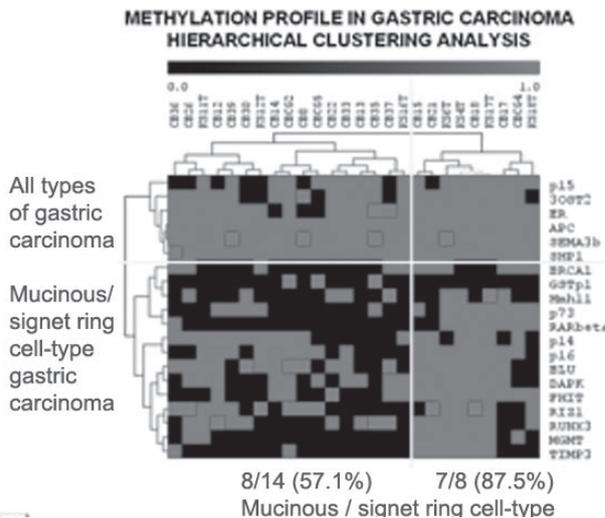


Figura 3

Restricción del crecimiento fetal y mecanismos de programación de la función endotelial

Paola Casanello, Luis Sobrevia

Departamento de Obstetricia y Ginecología
Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL)
Centro de Investigaciones Médicas (CIM)
Escuela de Medicina

La Restricción de Crecimiento Intrauterino (RCIU) se asocia con alteraciones en la función vascular de la placenta y el feto resultando en un menor aporte de nutrientes y oxígeno (hipoxia) al feto. Por la importancia que juegan los vasodilatadores locales en la regulación del tono vascular placentario, la menor síntesis del vasodilatador óxido nítrico (NO) por el endotelio fetal ha sido descrito como un importante candidato. RCIU se ha relacionado con una mayor incidencia de alteraciones metabólicas tanto al momento del nacimiento como en la infancia y la vida adulta (ej. hipertensión, obesidad, diabetes mellitus), un fenómeno conocido como 'Programación Fetal'. Sin embargo, se desconoce los mecanismos celulares y moleculares asociados a la disfunción endotelial fetal en individuos con RCIU.

Objetivo

Determinar los mecanismos de regulación de la actividad y expresión de transportadores de L-arginina y sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) en endotelio de la vena umbilical humana (HUVEC) de fetos con RCIU.

Metodología

En cultivos primarios de HUVEC de embarazos normales y con RCIU (percentil<5) se determina la expresión de transportadores de L-arginina (hCAT-1 y hCAT-2B) y eNOS. Se determina la participación de moléculas de señalización celular (PKC, Ca²⁺, MAPK) y los efectos de hipoxia en los mecanismos involucrados.

Resultados

RCIU se asocia con: (i) disminución de la capacidad de transporte (V_{max}/K_m) de L-arginina vía hCAT-1, (ii) aumento de la concentración extracelular de L-arginina, (iii) menor número de transcritos de hCAT-1 y hCAT-2B, (iv) menor actividad y expresión de eNOS.

El efecto de RCIU es bloqueado por inhibidores de eNOS, proteína quinasa C y ERK1/2. Hipoxia (2%O₂) induce cambios similares a los observados en HUVEC de RCIU. Sin embargo, los mecanismos de regulación del transporte de L-arginina y síntesis de NO en HUVEC de RCIU no son alterados por hipoxia.

Conclusiones

Este estudio sugiere que el aumento en la resistencia vascular observada en gestaciones con RCIU se debe a una menor actividad de la ruta L-arginina/NO endotelial en el lecho placentario. Esto podría explicarse por la hipoxia intrauterina descrita en fetos con RCIU.

Lista de publicaciones

Casanello P, Gallardo V, Sobrevia L. Hypoxia reduces mRNA expression and activity for the cationic amino acid transporters 1 and 2B in human umbilical vein endothelium. *Circ Res* (En Revisión).

Casanello P, Sobrevia L, Gallardo V. Heme Oxygenase 1 regulates the L-arginine/nitric oxide pathway in hypoxia in human umbilical vein endothelium. *Ped Res*. 2005 (En Prensa).

Sanhueza F, Casanello P, Sobrevia L. Insulin restores the elevated adenosine transport in human umbilical vein endothelial cells from intrauterine growth restriction pregnancies. *Ped Res*. 2005 (En Prensa).



Casanello P, Torres A, Sanhueza F, González M, Farías M, Gallardo V, Pastor-Anglada M, San Martín R, Sobrevia L. Equilibrative nucleoside transporter 1 expression is downregulated by hypoxia in human umbilical vein endothelium. *Circ Res.* 2005;97:16-24.

Gonzalez M, Flores C, Pearson JD, Casanello P, Sobrevia L. Cell signalling-mediated insulin increase of mRNA expression for cationic amino acid transporters-1 and -2 and membrane hyperpolarization in human umbilical vein endothelial cells. *Pflugers Arch.* 2004;448:383-394.

Flores C, Rojas S, Aguayo C, Parodi J, Mann G, Pearson JD, Casanello P, Sobrevia L. Rapid stimulation of L-arginine transport by D-glucose involves p42/44mapk and nitric oxide in human umbilical vein endothelium. *Circ Res.* 2003;92:64-72.

Casanello P, Sobrevia L. Intrauterine

growth retardation is associated with reduced activity and expression of the cationic amino acid transport systems y+/hCAT-1 and y+/hCAT-2B and lower activity of nitric oxide synthase in human umbilical vein endothelial cells. *Circ Res.* 2002;91:127-134.

Colaboradores nacionales

Marcelo Farías, Rodrigo Vásquez, Marcelo González, Carlos Escudero, Victoria Gallardo, Francisco Minaya, Luis Cea, Carlos Puebla, Catalina Prieto, Felipe Sanhueza, Alberto Torres, Julián Varas, Gonzalo Muñoz, Rody San Martín, Andrea Vecchiola.

Agradecimientos

Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico de Pontificia Universidad Católica de Chile y Hospital Luis Tisné Brousse

Colaboradores internacionales

-Jeremy D Pearson, King's College London, University of London, Inglaterra

-David Sugden, King's College London, University of London, Inglaterra

-Leslie Myatt, University of Cincinnati, USA

-Marçal Pastor-Anglada, Universitat de Barcelona, España

Financiamiento

-FONDECYT 1030607, 1030781, 1050479

-FONDECYT-Cooperación Internacional 7050030, 7030109

-Wellcome Trust (Inglaterra)

-King's College London (Inglaterra)

-Pontificia Universidad Católica de Chile

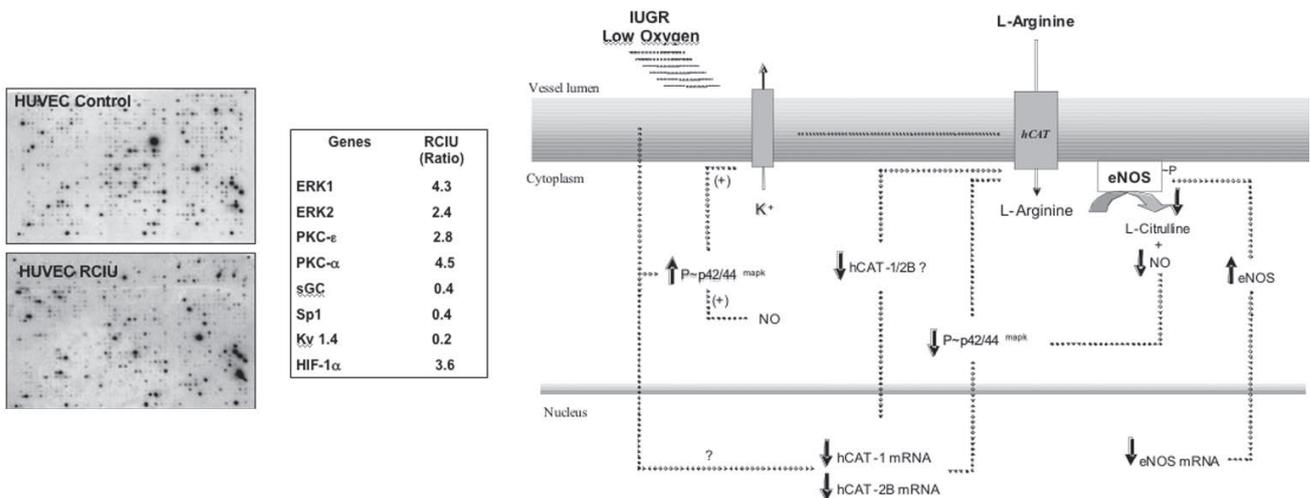


Figura: Mecanismos moleculares propuestos para la regulación de la actividad y expresión de la ruta L - arginina / NO en endotelio de vena umbilical humana de fetos con RCIU

Función de Galectina-8 y los autoanticuerpos anti-Gal-8 en linfocitos T y su relación con autoinmunidad

Claudia Cárcamo R. (*, **, ***), Claudia Metz B. (*, **, ***), Loreto Massardo R. (*), Sergio Jacobelli G. (*), Alfonso González de la R. (*, **, ***) y Andrea Soza G. (*, **, ***)

* Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología
Facultad de Medicina

** Centro de Regulación Celular y Molecular.

*** Departamento de Biología Celular y Molecular

Facultad de Ciencias Biológicas.

Pontificia Universidad Católica de Chile

Este proyecto tiene como objetivo general estudiar autoantígenos de superficie celular o asociados a ella que contribuyan a la patogenia de enfermedades autoinmunes. En particular estudiamos la galectina-8 (Gal-8), un autoantígeno encontrado en nuestro laboratorio utilizando un suero de un pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES). Las galectinas constituyen una familia de lectinas, que interaccionan con β -galactosidos presentes en glicoproteínas. Se han involucrado en procesos celulares de adhesión, migración, quimiotaxis, proliferación y apoptosis. Algunas de ellas se les vincula directamente con la regulación del sistema inmune.

Con el fin de definir el significado funcional o patogénico de los autoanticuerpos contra Gal-8, analizamos la frecuencia de los autoanticuerpos en pacientes con LES, los efectos de Gal-8 en células Jurkat como modelo de linfocitos T humanos y cómo éstos se afectan por los autoanticuerpos anti-Gal-8. En un cohorte de 55 pacientes encontramos que el 30 % de pacientes con LES produce autoanticuerpos versus el 7% de controles sanos ($P < 0.003$). Sin embargo, con el estudio de la ficha clínica al momento

de la toma de la muestra, no encontramos relación entre las manifestaciones clínicas y la presencia de autoanticuerpos anti-Gal-8, ni tampoco con el índice de actividad de la enfermedad reflejado en el MEX-SLEDAI. Es posible que estos anticuerpos se asocien a ciertos hechos de la historia clínica que no son registrados en evaluaciones de rutina, como por ejemplo, la frecuencia de brotes de actividad y la intensidad de cada brote.

Para dilucidar el significado funcional y clínico de estos anticuerpos será necesario realizar un estudio prospectivo de los pacientes en los que hemos detectado anti-Gal-8. También daría información el análisis de otras enfermedades autoinmunes y procesos inflamatorios agudos no asociados a autoinmunidad.

Además estudiamos los efectos de la Gal-8 en células Jurkat. Nuestros resultados mostraron que la Gal-8 interactúa con las integrinas $\alpha 1 \beta 1$, $\alpha 3 \beta 1$ y $\alpha 5 \beta 1$ en la superficie celular de células Jurkat e induce adhesión y reorganización del citoesqueleto de actina con la consiguiente formación de lamelipodios y filopodios, estructuras especializadas en migración celular, la cual

es dependiente de las vías de señalización de la PI3K, ERK y Rac. Estos efectos son inhibidos por los autoanticuerpos. Por lo tanto, proponemos estudiar el efecto de Gal-8 sobre la migración de linfocitos y otros tipos celulares (células epiteliales).

Además la Gal-8 podría regular otros procesos dependientes de ERK. La activación de ERK es necesaria para la diferenciación de linfocitos T hacia el linaje Th2. Se ha propuesto que la desviación de la diferenciación desde Th1 a Th2 disminuiría las manifestaciones autoinmunes.

La Gal-8 podría favorecer la diferenciación de Th2, en cambio los autoanticuerpos podrían favorecer la vía hacia Th1. También hemos visto que las células Jurkat no sólo expresan Gal-8 sino que parecen secretarla al medio durante su activación, por lo tanto proponemos estudiar el mecanismo de secreción de esta proteína. Además estudiaremos los efectos de la Gal-8 y los autoanticuerpos en linfocitos T aislados de pacientes con LES e de individuos sanos.

El conjunto de observaciones sobre el efecto de Gal-8 en células Jurkat, la



presencia de autoanticuerpos anti-Gal-8 en el 30% de los pacientes con LES y la acción inhibitoria de estos anticuerpos sobre la acción de Gal-8 sugieren posibles funciones de Gal-8 y sus autoanticuerpos en el sistema inmune que podrían variar durante distintas fases de la respuesta inmune

Lista de publicaciones

1.- Andrea Soza, Andrés Norambuena, Jorge Cancino, Erwin de la Fuente, Peter Henklein and Alfonso González (2004). Sorting competition with membrane-permeable peptides in intact epithelial cells revealed discrimination of transmembrane proteins not only at the trans-Golgi Network but also at pre-Golgi stages. JBC.

279 (17), 17376-17383.

2.- Evelyn Pardo H., Claudia Cárcamo R., Loreto Massardo V., Verónica mezzano R., Sergio Jacobelli G. Alfonso González de la R y Andrea Soza G (2005). Autoanticuerpos anti-Galectina-8 en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico. Revista Medica de Chile (en prensa).

3.- Claudia Cárcamo, Evelyn Pardo, Claudia Oyanadel, Marcela Bravo, Paulina Bull, Mónica Cáceres, Jorge Martínez, Loreto Massardo, Sergio Jacobelli, Alfonso González and Andrea Soza (2005). Galectin-8 binds specific $\beta 1$ integrins and induces polarized spreading with asymmetric lamellipodia in Jurkat T

cells. (manuscrito en preparación)

Colaboradores

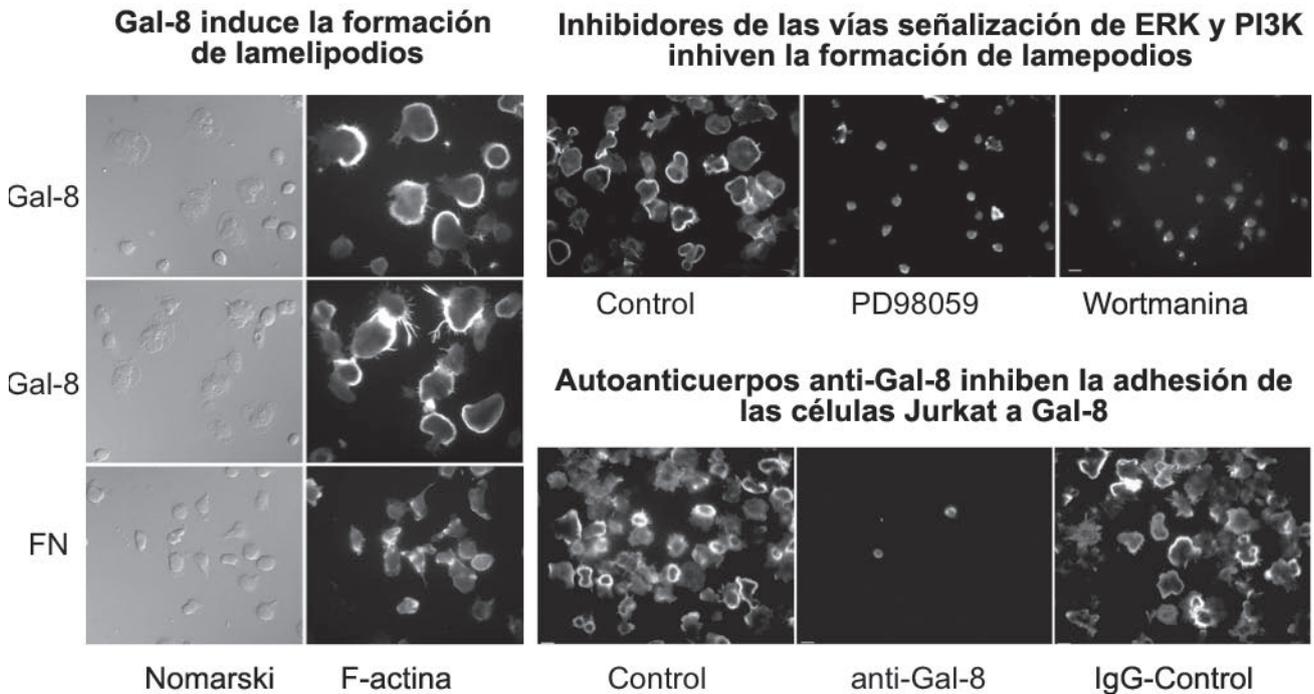
-Evelyn Pardo H. (*, **)

-Claudia Oyanadel M(*, **)

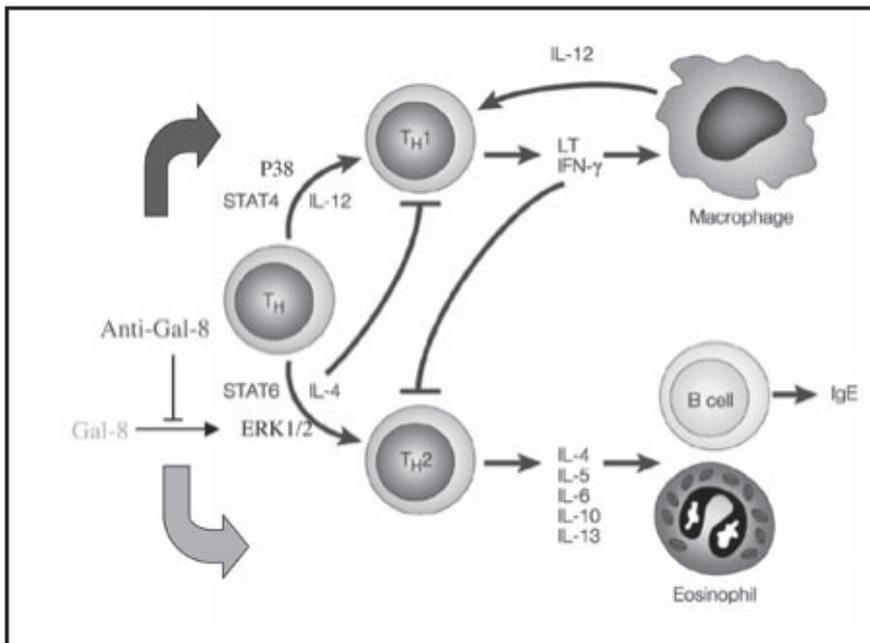
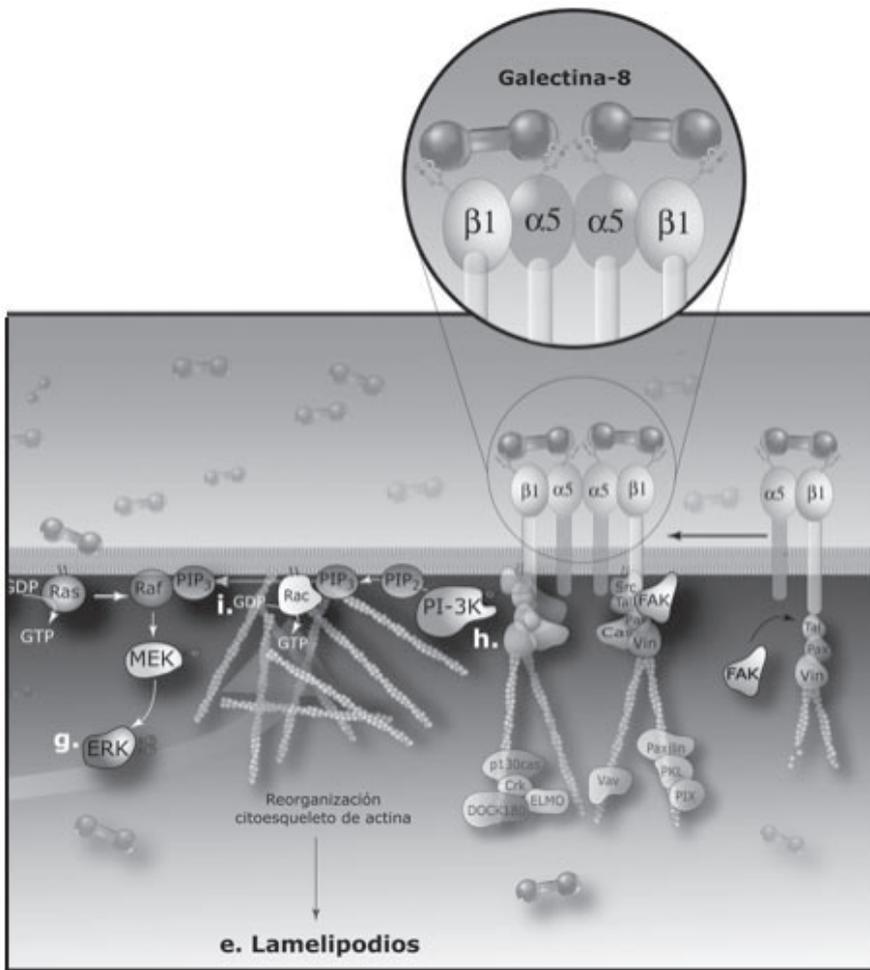
Financiamiento

-Proyecto Fondecyt Regular No 1020592

-Proyecto Fondecyt Regular No 1050715



Las figuras muestran microscopía de fluorescencia y Nomarski de células Jurkat sembradas sobre cubreobjetos tratados con Gal-8, en presencia o ausencia de inhibidores o autoanticuerpos.



Nuestro modelo nos permite proponer las siguientes predicciones:

en una primera fase, los linfocitos T podrían detectar la Gal-8 liberada al medio durante la destrucción celular en sitios de inflamación o en nódulos linfáticos periféricos donde se han descrito altos niveles de expresión de Gal-8. En este sentido, Gal-8 podría jugar un papel similar a los quimioattractantes durante la presentación de antígeno. La unión a Gal-8 estimularía la adhesión y migración de linfocitos. Una vez activados los linfocitos por las células presentadoras de antígenos, la función de Gal-8 podría variar. La Gal-8 al ser secretada por los linfocitos podría saturar sus sitios de unión en la superficie celular y facilitar la liberación del linfocito desde la matriz y tal vez desde la sinápsis inmunológica.

Gal-8, en una acción autocrina en esta etapa de activación de los linfocitos, podría contribuir a promover la diferenciación hacia la línea Th2, que es dependiente de ERK. Por último, la producción de autoanticuerpos bloqueantes de la función de Gal-8 podría tener una función atenuadora de los procesos dependientes de Gal-8 y contribuir a regular la respuesta inmune. Este sistema de regulación que involucra a la Gal-8 y a sus autoanticuerpos de distintas maneras según el momento de la respuesta inmune tiene un gran potencial de sufrir alteraciones que pueden promover autoinmunidad.



Boletín de la Escuela de Medicina

Propósitos de esta publicación

El Boletín de la Escuela de Medicina ha servido desde hace más de 20 años a la educación de pregrado y a la formación continua de postgrado.

Sus objetivos fundamentales son:

- Servir como un medio para la educación continua de postgrado a los académicos de nuestra Facultad, a los becarios y a los médicos en general. Además, el Boletín debe servir como ayuda a la docencia de pregrado.
- Comunicar a la comunidad médica las grandes líneas de investigación y de trabajo de los académicos de la Facultad de Medicina.

El propósito del Boletín es lograr que el lector conozca el estado actual de los problemas de mayor trascendencia, por su prevalencia o gravedad, al nivel de un médico no especialista en el tema. Aquellos aspectos que usualmente son manejados por especialistas son tratados sólo en sus líneas generales, dando importancia a los criterios de derivación. Los artículos de revisión de líneas de investigación o trabajo también están concebidos para ser estudiados por un médico no especialista, aunque deben necesariamente tratar con mayor profundidad su área.

Cualquier académico de la Facultad de Medicina puede enviar contribuciones, aunque es conveniente comunicarse previamente con los editores, para convenir fecha probable de publicación, extensión y estilo, entre otros aspectos.

Instrucciones a los autores

Los trabajos enviados deberán ajustarse a las instrucciones establecidas por el International Committee of Medical Journal Editors. Dichas instrucciones se encuentran en el sitio WEB www.icmje.org.

1. El trabajo debe ser escrito en "Word" y entregado en CD. Las figuras que muestren imágenes (radiografías, histología, etc.) deben entregarse en formato PPT.

Se solicita que los "Artículos de Investigación" no sobrepasen

2.500 palabras. Los "Artículos de Revisión" y los "Especiales" pueden extenderse hasta 3.000 palabras. Los "Casos Clínicos" no deben exceder 1.500 palabras, pudiendo agregárseles hasta 2 tablas y figuras y no más de 20 referencias. Las "Cartas al Editor" no deben exceder 1.000 palabras, pudiendo agregárseles hasta 6 referencias y 1 tabla o figura.

2. Los "Artículos de Investigación" deben dividirse en secciones tituladas "Introducción", "Material y método", "Resultados" y "Discusión". Otros tipos de artículos, tales como los "Casos Clínicos" y "Artículos de Revisión", pueden acomodarse mejor a otros formatos.

3. El ordenamiento de cada Artículo de Investigación será el siguiente:

3.1. Página del título

La primera página del manuscrito debe contener: 1) El título del trabajo, que debe ser conciso pero informativo sobre el contenido central de la publicación; 2) El o los autores, identificándolos con su nombre de pila, apellido paterno e inicial del materno. 3) Nombre de la o las secciones, departamentos, servicios e instituciones a las que perteneció dicho autor durante la ejecución del trabajo; 4) Nombre y dirección del autor con quien establecer correspondencia. Debe incluir su número de fax y correo electrónico; 5) Fuente de apoyo financiero, si lo hubo, en forma de subsidio de investigación (grants), equipos, drogas, o todos ellos.

3.2. Resumen

La segunda página debe contener un resumen, de no más de 250 palabras, que describa los propósitos del estudio o investigación, el material y métodos empleados, los resultados principales y las conclusiones más importantes.

3.3. Introducción

Resume la racionalidad del estudio y exprese claramente su propósito. Cuando sea pertinente, haga explícita la hipótesis cuya validez pretendió analizar. No revise extensamente el tema y cite sólo las referencias bibliográficas que sean

estrictamente atinentes a su propio estudio.

3. 4. Material y método

Describa la selección de los sujetos estudiados: pacientes o animales de experimentación, órganos, tejidos, células, etc., y sus respectivos controles. Identifique los métodos, instrumentos o aparatos y procedimientos empleados

Cuando se efectuaron experimentos en seres humanos, explicita si los procedimientos respetaron normas éticas concordantes con la Declaración de Helsinki y si fueron revisados y aprobados por un comité de ética de la institución en que se efectuó el estudio.

Identifique los fármacos y compuestos químicos empleados, con su nombre genérico, sus dosis y vías de administración. Identifique a los pacientes mediante números correlativos, pero no use sus iniciales ni los números de fichas clínicas.

Indique siempre el número de pacientes o de observaciones, los métodos estadísticos empleados y el nivel de significación elegido previamente para juzgar los resultados.

3. 5. Resultados

Presente sus resultados siguiendo una secuencia lógica y concordante, en el texto, las tablas y figuras. Los datos se pueden mostrar en tablas o figuras, pero no simultáneamente en ambas.

En el texto, destaque las observaciones importantes, sin repetir todos los datos que se presentan en las tablas o figuras. No mezcle la presentación de los resultados con su discusión, la cual debe incluirse en la sección:

3. 6. Discusión

Se trata de una discusión de los resultados obtenidos en este trabajo y no de una revisión del tema en general. Discuta únicamente los aspectos nuevos e importantes que aporta su trabajo y las conclusiones que Ud. propone a partir de ellos. No repita detalladamente datos que aparecen en “Resultados”. Haga explícitas las concordancias o discordancias de sus hallazgos y sus limitaciones, comparándolas con otros estudios relevantes, identificados mediante las citas bibliográficas respectivas. Conecte sus conclusiones con los propósitos del estudio, que destacó en la “Introducción”. Evite formular conclusiones que no estén respaldadas por sus hallazgos, así como apoyarse en otros trabajos aún no terminados. Plantee nuevas hipótesis cuando le parezca adecuado, pero califíquelas claramente como tales. Cuando sea apropiado, proponga sus recomendaciones.

3. 7. Agradecimientos

3.8. Referencias

Limite las referencias (citas bibliográficas), idealmente a 40. Prefiera las que correspondan a trabajos originales publicados en revistas incluidas en el Index Medicus. Numere las referencias en el orden en que se las menciona por primera vez en el texto. Identifíquelas mediante numerales arábigos,

colocados (entre paréntesis) al final de la frase o párrafo en que se las alude. Los resúmenes de presentaciones a congresos pueden ser citados como referencias sólo cuando fueron publicados en revistas de circulación común. Si se publicaron en “Libros de Resúmenes”, pueden citarse en el texto (entre paréntesis), al final del párrafo pertinente. Se puede incluir como referencias a trabajos que están aceptados por una revista pero aún en trámite de publicación; en este caso, se debe anotar la referencia completa, agregando a continuación del nombre abreviado de la revista la expresión “(en prensa)”. Los trabajos enviados a publicación pero todavía no aceptados oficialmente pueden ser citados en el texto (entre paréntesis) como “observaciones no publicadas” o “sometidas a publicación”, pero no deben alistarse entre las referencias.

3. 9. Tablas

Presente cada tabla en hojas aparte, separando sus celdas con doble espacio (1,5 líneas). Numere las tablas en orden consecutivo y asígneles un título que explique su contenido sin necesidad de buscarlo en el texto del manuscrito (Título de la Tabla). Sobre cada columna coloque un encabezamiento corto o abreviado. Separe con líneas horizontales solamente los encabezamientos de las columnas y los títulos generales. Las columnas de datos deben separarse por espacios y no por líneas verticales. Cuando se requieran notas aclaratorias, agréguelas al pie de la tabla. Use notas aclaratorias para todas las abreviaturas no estándar. Cite cada tabla en su orden consecutivo de mención en el texto del trabajo.

3. 10. Figuras

Denomine “figura” a cualquier ilustración que no sea tabla (Ejs: gráficos, radiografías, electrocardiogramas, ecografías, etc.). Los gráficos deben ser dibujados por un profesional, o empleando un programa computacional adecuado. anonimato.

La publicación de figuras en colores debe ser consultada con la revista.

3. 11. Leyendas para las Figuras

Presente los títulos y leyendas de las figuras en una página separada. Identifique y explique todo símbolo, flecha, número o letra que haya empleado para señalar alguna parte de las ilustraciones. En la reproducción de preparaciones microscópicas, explicita la ampliación y los métodos de tinción empleados.