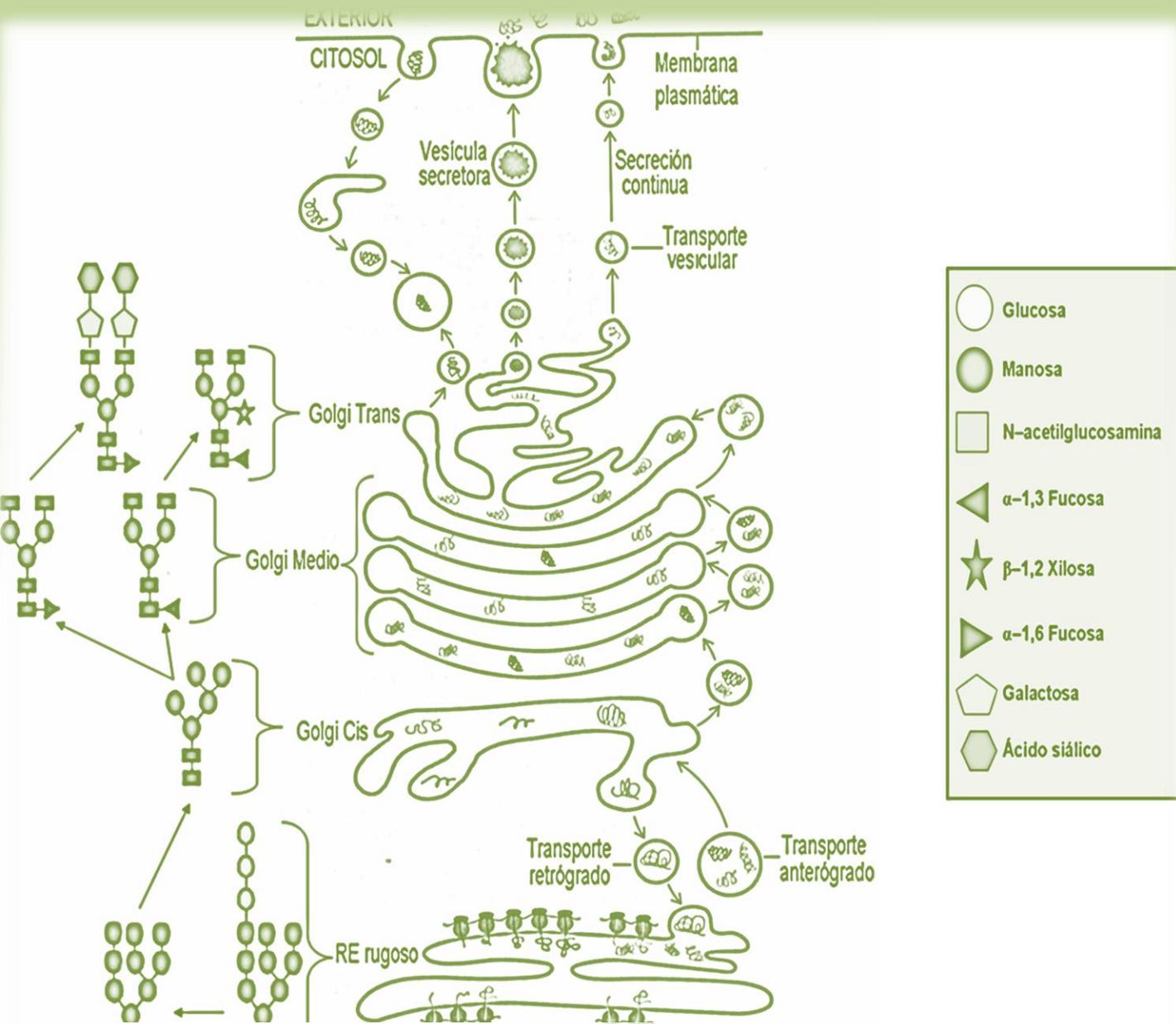


Avances Biomedicina



sep-dic 2013 volumen 2 número 3
<http://revistas.saber.ula.ve/biomedicina>



Depósito Legal: ppi201102ME3935
 ISSN: 2244-7881



Sobre la Portada

La portada muestra: Patrón de glicosilación de proteínas en plantas y animales. Las proteínas recombinantes expresadas en plantas experimentan la adición de N-glicanos propios de células vegetales [$\alpha(1,3)$ -fucosa y $\beta(1,2)$ -xilosa], los cuales son añadidos a su estructura durante el desplazamiento por los compartimientos del Golgi medio y trans. Nótese que las modificaciones post-traduccionales entre ambos tipos de células son iguales hasta el Golgi cis. La ruta de glicosilación en células animales se indica con flechas rojas. Los polipéptidos destinados a permanecer en el lumen del retículo endoplasmático (RE) son marcados con la secuencia del tetrapéptido señal KDEL antes de ser exportados por primera vez desde el RE hacia el Golgi cis (transporte anterógrado), lo cual permite que estos péptidos sean recuperados y devueltos al RE a través del transporte retrógrado. Figura perteneciente al manuscrito de *Noguera A y Fermín G.* publicado en éste número.

AVANCES EN BIOMEDICINA

Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica

Autoridades ULA

Dr. Mario Bonucci

Rector de la Universidad de los Andes

Dr. Patricia Rosenzweig Levy

Vicerrector Académico

Dr. Manuel Aranguren

Vicerrector Administrativo

Dr. José María Andréz

Secretaría

Dr. Gerardo Tovitto

Decano de la Facultad de Medicina

Dra. Siham Salmen Halabi

*Directora del Instituto de Inmunología
Clínica*

Consejo Editorial

Director Editorial

Siham Salmen Halabi

Editores Adjuntos

Lisbeth Berrueta Carrillo

Guillermo Terán-Ángel

Luisa Barboza Carrillo

Comité Editorial

Nubia H Silva

Rima C Bahsas Zaky

Leidith Berrueta Carrillo

Daniela Montes-Berrueta

Joselyn Rojas Quintero

Comisión de Arbitraje

Andrés Soyano

Barbara E Bierer

Carmen Mazei de Dávila

Darrell L Peterson

Diego F Dávila Spinetti

Jesús Alfonso Osuna

José H Donis

Librado Ortiz-Ortiz

Masyelly D Rojas

Mercedes González Coira

Morella C Bouchard

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

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

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

Indizada en:

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

VOLUMEN 2, N°3, SEPTIEMBRE-DICIEMBRE 2013

DEPÓSITO LEGAL: PPI201102ME3935

ISSN: 2244-7881

Red:

Correos electrónicos:

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

Acceso online:

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

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

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

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

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

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

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

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

Agradecimiento:

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

Instituto de Inmunología Clínica:

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

Copyright:

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

Tabla de contenido

EDITORIAL

- 112-113 **El preciso definir de la salud**

Fadlalla Bahsas Bahsas

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 114-120 **Modificaciones hemodinámicas y metabólicas maternas secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal**

Hemodynamical and metabolic modifications secondary to betamethasone use for fetal lung maturity

Keibis Jiménez-Castillejo, Yolima Ruiz-Lopez, Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Jhoan Aragón-Charris, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil

- 121-126 **Hallazgos citogenéticos en los pacientes de la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela**

Cytogenetic findings in the patients of the Unit of Medical Genetics University of Los Andes, in Mérida, Venezuela

Dionora Araque, Francisco Cammarata-Scalisi, María Angelina Lacruz-Rengel, Fabiola López

- 127-136 **Niveles del factor de crecimiento derivado de plaquetas en el plasma rico en plaquetas antes y después de antiagregantes plaquetarios**

PDGF levels in platelet-rich plasma before and after anti platelets drugs

Maczy González, Melvis Arteaga-Vizcaíno, Ana Ruiz, Olga Briceño, Maribel Quintero, Ricardo Atencio, Mariluz Benito, Marisol Benito, Richard Flores.

REVISIONES Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

- 137-153 **Plataformas de expresión en plantas de péptidos humanos terapéuticos: expresión transitoria y estable.**

In plant expression platforms of therapeutic human peptides: transient and stable expression

Arnaldo Noguera, Gustavo Fermín.

CASOS CLÍNICOS

- 154-157 **Síndrome de Brugada durante el embarazo**

Brugada syndrome during pregnancy

Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Juan Perozo Romero

- 158-161 **Rotura Uterina Espontánea en embarazo de segundo trimestre: presentación de un caso y revisión de la literatura**

Spontaneous Uterine Rupture in Second Trimester of Pregnancy: Case report and Literature review



Airam Amoroso Gil, Cristian Pino, Carmen Salas, Diana Izurieta, Camilo González, Glennis Márquez, Francis Márquez

162-166 **Mutación de novo en el gen BTK en agammaglobulinemia ligada a X. Reporte de un caso del estado Mérida, Venezuela**

De novo mutation in BTK gene in X-linked agammaglobulinaemia. A case report in Mérida, Venezuela

Liliana Aboultaif Aboultaif, Lubna Nasr El Nimer, Maritza Navas, Lerida Borges, José Angel Cova, Silvia Danelian, Morella Bouchard

167 **INSTRUCCIONES A LOS AUTORES**

168 **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**

169-170 **ÉTICA DE LAS PUBLICACIONES & DECLARACIÓN DE MALA PRAXIS/ PUBLICATION ETHICS & MALPRACTICE STATEMENT**

Editorial

“El preciso definir de la salud”

El disfrute del más alto estándar de salud posible, es uno de los derechos fundamentales de todo ser humano, no es un privilegio reservado para aquellos con poder, dinero o posición social. SALUD es más que la ausencia de enfermedad, comprende la prevención de las enfermedades, el desarrollo de las potencialidades individuales, así como un sentido positivo de bienestar físico, mental y social.

Los cuidados de la salud se fundamentan en el diálogo y la colaboración entre los ciudadanos, los profesionales, las comunidades y los diseñadores de políticas. Los servicios de salud deben ser asequibles, accesibles, efectivos, eficientes y convenientes.

La salud comienza por el desarrollo saludable del niño y de un ambiente familiar positivo. La salud debe fundamentarse en el rol activo de hombres y mujeres en los campos de la salud y el desarrollo. El papel de las mujeres, así como el bienestar de ellas, debe ser reconocido y proclamado. Los cuidados de salud para los ancianos deben preservar la dignidad, el respeto e interés y preocupación por la calidad de vida y no tan sólo por la duración de la misma.

La salud exige un ambiente favorable, con un crecimiento balanceado de la población humana y con la preservación de la diversidad cultural. La salud depende de la disponibilidad para todo el pueblo de los elementos básicos esenciales: alimentos, agua apta para el consumo humano y otros usos, vivienda, educación, trabajo productivo, protección contra la polución y prevención de la exclusión social. La salud depende también de la protección contra la explotación, sin distinción de raza, religión, credo político, condición social o económica. La salud requiere el desarrollo pacífico, equitativo y la colaboración de todas las personas.

En general, la sociedad cumple sus funciones a través de la organización de los sistemas que estima necesario crear, uno de ellos es el sector salud, que existe para que los individuos puedan mantener durante el mayor tiempo posible, el más alto nivel de salud que les permita su potencial genético. Por consiguiente, el primer propósito se refiere a la cantidad de vida, o sea la expectativa de vida que debe alcanzarse, y el otro a la calidad de vida, que significa vida larga y vida buena que resultan de la actuación combinada de los diversos sectores sociales.

El sistema de salud se especializa y se diferencia de los demás porque debe lidiar con el binomio salud-enfermedad, como causa de la cantidad y calidad de vida, estos fines no pueden lograrse sino con la conjunción de esfuerzos de todos los demás sectores sociales, porque no hay salud si no hay educación, vivienda, trabajo, remuneración adecuada, alimentación, recreación apropiada,

aceptación social y seguridad social; componentes fundamentales del bienestar.

La demanda de servicios de salud es más accesible dentro del marco de lo que se denomina: revolución de las expectativas de la gente, la necesidad de reemplazar una práctica profesional individualista por una en equipo, la institucionalización creciente de las profesiones de la salud, la revolución demográfica y sus consecuencias y la revolución industrial, especialmente por el desarrollo impresionante de las técnicas tanto diagnósticas como terapéuticas y la informática, que han conducido al notable crecimiento de la especialización, pero que también han contribuido al uso y abuso de la tecnología y a la deshumanización de la práctica médica.

La situación actual, es de crisis, crisis del aparato médico sanitario que no está en capacidad de producir ganancias en salud, entre otras causas porque los recursos se asignan predominantemente a la atención intramural, curativista e individual, que no mejora en nada el nivel de salud de la población. Se fundamenta en un sistema de servicios de enfermedad y no de salud. Sus costos no van acompañados de mejora en los servicios prestados, de alta tecnología, y en nuestro medio, se agrega la mala gerencia de las instituciones hospitalarias.

Se constata que hay demanda creciente de servicios y marginalización de grandes grupos humanos descontentos por los servicios recibidos, y por la incapacidad del sistema para ofrecerles a todos la misma calidad, por el maltrato que se refleja en las llamadas “colas”, en largas esperas, visitas repetidas e innecesarias a los servicios por una misma causa, y por otra parte, el alza desmedida y vertiginosa de los costos en la atención privada que hacen inaccesibles los servicios a quienes anteriormente podían pagarlos.

Esto indica que grandes sectores de la población se han hecho insolventes, y crece la demanda de servicios en el sector público y éste no está en capacidad de atenderlos. Insistimos en que hay abuso, especulación por el uso inadecuado de técnicas costosas.

Para encarar coherentemente la responsabilidad de resolver los problemas de salud, convendría identificarlos como “dependientes de crisis”, que están en relación con la búsqueda de una estrategia de cambio que involucra transformaciones en el desarrollo económico-social, político y ético del país. El conocimiento científico que se tiene en el mundo actual, no se ha puesto al alcance de la totalidad de la población, pero la ampliación en la aplicación de este conocimiento no es el único factor del que disponemos para mejorar la atención médica, porque no debemos olvidar la importancia determinante que tiene la estructura socio-política y político-económica en que se desenvuelve la actividad médica. En consecuencia también señalamos la inexistente, pero necesaria conexión, que debe haber entre las políticas de desarrollo

económico y la de los sectores sociales; como educación, vivienda y trabajo.

“Habida cuenta de que no hay salud, si no hay desarrollo social y educación para la salud”.

Doctor Fadlalla Bahsas Bahsas

Profesor Titular Jubilado de la Facultad de Medicina

Universidad de Los Andes

Email: fwbahsas@hotmail.com

Como citar este artículo: Bahsas-Bahsas F. El preciso definir de la salud. *Avan Biomed* 2013; 2: 112-3



Modificaciones hemodinámicas y metabólicas maternas secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal (Hemodynamical and metabolic modifications secondary to betamethasone use for fetal lung maturity)

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

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

² Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez", Maracaibo – Venezuela.

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 31 de Diciembre de 2012. Aceptado: 05 de Abril de 2013.

Resumen

El objetivo de la investigación fue determinar las modificaciones hemodinámicas y metabólicas maternas secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal. Se realizó una investigación de tipo explicativa, prospectiva y longitudinal con un diseño cuasi-experimental y una muestra no probabilística intencional de 106 pacientes que acudieron a la consulta pre-natal de alto riesgo del Hospital Central "Dr. Urquinaona". Una vez seleccionadas las pacientes se le administró inyecciones intramusculares de betametasona (12 mg) por dos días consecutivos. El valor de presión arterial sistólica presentó un leve aumento luego de la segunda medición y la tercera medición ($p = ns$). La presión arterial diastólica presentó aumento significativo durante la segunda medición y un nuevo aumento significativo en la tercera medición ($p < 0,05$). Se observaron aumentos significativos en el valor promedio de la frecuencia cardiaca luego de la segunda y tercera medición de betametasona ($p < 0,05$). No se encontraron modificaciones significativas en las concentraciones de glicemia, sodio y potasio entre las tres mediciones ($p = ns$). Se concluye que el uso de betametasona para inducir la maduración pulmonar fetal produce modificaciones hemodinámicas maternas acompañados de cambios metabólicos transitorios.

Palabras clave

Betametasona, Maduración Pulmonar fetal, Efectos maternos.

Abstract

The objective of research was to determine maternal hemodynamic and metabolic modifications secondary to the use of betamethasone for fetal lung maturation. An explicative, prospective and longitudinal research was done with a quasi-experimental design and intentional non probabilistic sample of 106 patients who assisted to High Risk Antenatal Consult at Hospital Central "Dr. Urquinaona". Once patients were selected, two intramuscular injections of betamethasone (12 mg) were administered for two consecutive days. Systolic blood pressure presented a slight rise after second and third measurement ($p = ns$). Diastolic blood pressure presented a significant rise during second measurement and a new rise after third measurement ($p < 0.05$). There were observed significant rises in mean values of heart rates after second measurement and third measurements ($p < 0.05$). There were not found significant changes in glucose, sodium and potassium concentrations among three measurements ($p = ns$) It is concluded that the use of betamethasone for fetal lung maturation produced significantly in maternal hemodynamic changes and accompanied by transient metabolic changes.

Keywords

Betametasone, Pulmonar maturation, Adverse effects.

Introducción

El descubrimiento de Liggins y col. (1) que los esteroides tienen un papel importante en la maduración del feto durante el último trimestre del

embarazo ha llevado al uso rutinario del tratamiento con corticosteroides en el periodo prenatal, para tratar a las pacientes con amenaza de parto pretérmino.

✉ **Autor de correspondencia:** Dr. Eduardo Reyna-Villasmil, Hospital Central "Dr. Urquinaona" Final Av. El Milagro. Maracaibo, Estado Zulia. VENEZUELA. Teléfono: 584 162605233. Correo electrónico sippenbauch@gmail.com

Diferentes estudios han descrito que el uso de corticosteroides en el periodo prenatal produjo una reducción significativa en la mortalidad neonatal, síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido, hemorragia intraventricular y enterocolitis necrotizante asociadas al parto pretérmino (2,3).

Estudios realizados en animales, por ejemplo, en ovejas cercanas al término del embarazo se reportó que los corticosteroides producen una reducción significativa del flujo cerebral fetal (4), elevación sostenida de la presión arterial, aumentos de los valores basales de cortisol (5), aumento de la resistencia vascular y periférica (4,5), y alteración de la sensibilidad vascular a los factores derivados del endotelio (6). En el embarazo tardío en ratas, la dexametasona produce alteraciones de la inervación cardíaca y de la función beta-adrenérgica (7). Más aún, hallazgos experimentales demuestran que existe una alteración de la respuesta perinatal a la hipoxia la cual puede alterar la adaptación al trabajo de parto (8).

El uso de algunos tipos de corticosteroides en el periodo prenatal ha demostrado que produce una considerable reducción en la frecuencia cardíaca y los movimientos corporales fetales después de la primera dosis (9). En algunos casos, las marcadas alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal que se observan han sido mal interpretadas como sufrimiento fetal. Estos cambios temporales no parecen ser debidos a la hipoxemia inducida por los corticosteroides debido a que no se han encontrado cambios en los índices de flujo Doppler de los diferentes vasos fetales ni alteraciones en la frecuencia cardíaca fetal (10).

En la actualidad solo existen datos clínicos limitados y conflictivos sobre la influencia del uso de corticosteroides en la función cardiovascular de la embarazada que los recibe. En los adultos se ha reportado que la dexametasona tiene una amplia variedad de efectos adversos sobre las funciones cardiovascular, metabólica y endocrina (11).

La administración materna de dexametasona al final del embarazo induce solo efectos hemodinámicos transitorios, mientras que dosis bajas en ovejas embarazadas no producen efectos sobre la presión arterial. En contraste, la betametasona en monos causa una elevación aguda de la presión arterial por al menos 24 horas (12), aunque los efectos posteriores son desconocidos. Todo esto ha llevado a considerar los posibles efectos adversos maternos de la potencia excesiva de los esquemas actuales de

dosificación de los corticoides sintéticos en la práctica clínica actual (13).

El objetivo de la investigación fue determinar las modificaciones hemodinámicas y metabólicas maternas secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal.

Metodología

La investigación de este estudio fue explicativa, prospectiva y longitudinal con un diseño cuasi-experimental y una muestra no probabilística intencional de 106 pacientes que acudieron a la consulta pre-natal de alto riesgo del Hospital Central "Dr. Urquiza". El Comité de Ética del hospital aprobó la investigación y se obtuvo el consentimiento informado de todas las pacientes.

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

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

Una vez seleccionadas las pacientes se les administraron inyecciones intramusculares de betametasona (12 mg) por dos días consecutivos. Las mediciones de presión arterial y frecuencia cardíaca se realizaron en tres ocasiones: La primera medición, antes de la administración de la primera dosis de betametasona; la segunda medición, 24 horas después de la segunda y última inyección; y la tercera medición, siete días luego de la administración de la última dosis de betametasona para la maduración pulmonar fetal. La presión sanguínea y la frecuencia cardíaca se

midieron en posición sentada después de 15 minutos de descanso.

Las muestras de sangre para la determinación de glucosa, sodio y potasio se recolectaron en todas las pacientes en las mismas tres ocasiones que se realizaron las mediciones hemodinámicas. Se tomaron las muestras (10 ml) de la vena antecubital y se dejaron coagular a temperatura ambiente, posteriormente fueron centrifugadas y almacenadas a -80°C . Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio de las dos mediciones fue el resultado final. La glucosa sérica se cuantificó por el método de la glucosa oxidasa. Las concentraciones séricas de sodio y potasio se determinaron utilizando colorimetría.

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

Resultados

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

En la tabla 1 se muestran las modificaciones hemodinámicas posteriores a las inyecciones de betametasona. El valor de presión arterial sistólica en la primera medición fue de $108,8 \pm 10,6$ mmHg, observándose un leve aumento luego de la segunda medición ($112,8 \pm 6,4$ mmHg) y la tercera medición ($113,7 \pm 4,3$ mmHg), pero estas diferencias no se consideraron estadísticamente significativas ($p = \text{ns}$); ver figura 1. En cuanto a la presión arterial diastólica el valor de la primera medición fue de $64,9 \pm 7,3$ mmHg, el cual presentó un aumento significativo luego de la segunda medición para alcanzar valores de $71,8 \pm 6,9$ mmHg y un nuevo aumento significativo posterior a la tercera medición, siendo el valor promedio de

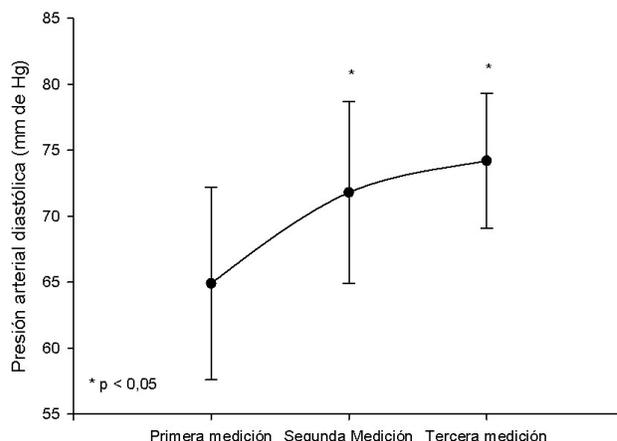


Figura 1. Valores promedio de presión arterial diastólica antes y después del uso de betametasona.

$74,2 \pm 5,1$ mmHg ($p < 0,05$). De igual forma, el valor promedio de la primera medición frecuencia cardíaca fue de $83,3 \pm 5,9$ latidos por minuto, y luego de la segunda y tercera medición de betametasona se observaron aumentos significativos de los valores que alcanzaron $89,2 \pm 7,0$ y $87,2 \pm 6,7$ latidos por minutos, respectivamente ($p < 0,05$); ver figura 2.

Con respecto a las modificaciones metabólicas (tabla 2), se observó que las inyecciones con betametasona producían aumentos de las concentraciones de glicemia en ayunas, ya que el valor de la primera medición fue de $78,1 \pm 10,6$ mg/dL, las

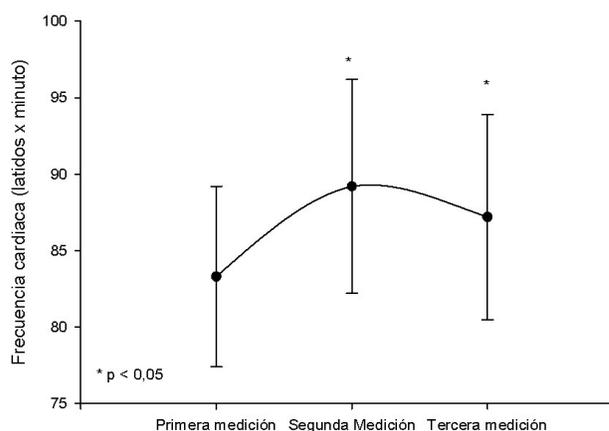


Figura 2. Valores promedio de frecuencia cardíaca antes y después del uso de betametasona.

concentraciones aumentaron a $94,2 \pm 13,4$ mg/dl

durante la segunda medición y a $86,5 \pm 7,3$ mg/dL luego de la tercera medición, pero esta variación no fue significativa ($p = ns$); ver figura 3. No se encontraron modificaciones significativas en las concentraciones de sodio y potasio entre los dos periodos de estudio y los valores iniciales ($p = ns$).

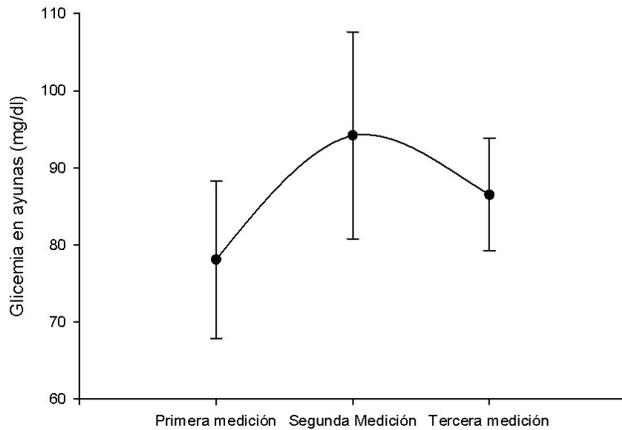


Figura 3. Valores promedio de glicemia en ayunas antes y después del uso de betametasona.

Discusión

Clínicamente, tanto la betametasona como la dexametasona disminuyen significativamente la morbilidad y mortalidad neonatal. Además, el tratamiento con betametasona ha demostrado producir una mayor reducción en el síndrome de dificultad respiratoria, sepsis y mejores resultados de desarrollo neurológico en la infancia (14). La betametasona parece ser el corticosteroide óptimo

para el uso en mujeres con amenaza de parto pretérmino, aún cuando sus efectos maternos sean marcados durante el uso de un esquema de dosis múltiple.

Un hallazgo clave de la investigación es que los cambios hemodinámicos después de la inyección de la betametasona son significativos más no dramáticos (un aumento máximo de aproximadamente 9% para la presión arterial diastólica y 5% de la frecuencia cardiaca). Aunque se observó un aumento significativo en los valores promedios de presión arterial diastólica pero no en la presión arterial sistólica, esta última presentó un aumento que, aunque no fue estadísticamente significativo, tienen una importancia clínica manifiesta, ya que se debe tener en cuenta al momento de la evaluación de la paciente para evitar la confusión con otras patologías comunes del embarazo. Los resultados de la presente investigación son similares a reportes previos que reportan un incremento sostenido de la presión y resistencia vascular que se observa por lo menos en las 48 horas siguientes después de la administración de pequeñas dosis endovenosas de corticosteroides en ovejas (5). Los datos de esta investigación son consistentes con los efectos del tratamiento a largo plazo observados con diferentes dosis en ovejas después de la segunda mitad de la gestación (15).

Varios estudios han demostrado que el tratamiento materno con corticosteroides en el periodo prenatal eleva la presión arterial en neonatos, ratas adultas, y en fetos de ovejas y ovejas adultas (16). En el feto de ovejas, la administración de corticosteroides sintéticos incrementa la presión arterial, si se administra directamente tanto al feto o

Tabla 1. Modificaciones hemodinámicas maternas de las inyecciones de betametasona.

n=106	Primera Medición (Antes de la primera dosis)	Segunda Medición (24 horas después de la segunda dosis)	Tercera Medición (7 días después de la segunda dosis)
Presión arterial sistólica, mmHg	87,5±8,3	84,7±9,8	85,4±10,6
Presión arterial diastólica, mmHg	135,1±12,7	137,2±18,9	142,9±19,9*
Frecuencia cardiaca, latidos por minutos	23,1±6,0	14,8±7,0*	20,0±9,7*

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

como a la madre (17). La betametasona puede inducir vasoconstricción en los lechos placentarios periféricos y umbilicales y se ha postulado al incremento en la resistencia vascular como el mecanismo responsable del incremento la presión arterial posterior a la inyección de betametasona (16). El incremento en la resistencia vascular parece no estar relacionado con los cambios en las catecolaminas circulantes, pero puede ocurrir, en parte, por la inhibición de vasodilatadores como la prostaciclina y el óxido nítrico, lo cual puede llevar a un exceso de liberación o sensibilidad a vasoconstrictores como la endotelina 1 (18). Se ha reportado un incremento en la circulación de angiotensina II y un incremento de la sensibilidad vascular a la angiotensina II en respuesta al cortisol, a la betametasona y a la dexametasona (19).

En forma particular, la administración de glucocorticoides eleva la concentraciones de adrenalina y neuropéptido Y (NPY), tanto durante como después de la administración, al igual que eleva el número de receptores de endotelina subtipo A (6). Más aún, el incremento de la presión arterial puede también estar relacionado parcialmente con un incremento en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, con un aumento sostenido en las concentraciones basales de cortisol en las 48 horas siguientes a la administración de la betametasona, pero con concentraciones normales de ACTH (5) por la hipercortisolemia (19). Consistente con esa hipótesis, es conocido que la exposición a corticosteroides in utero (en ovejas al principio del embarazo) produce hipertensión que puede estar relacionada con los cambios en el sistema renina angiotensina (20).

El NPY también puede contribuir a acentuar la vasoconstricción en las pacientes que reciben corticosteroides por mecanismos endocrinos y neuro-moduladores. En animales adultos, el NPY ejerce una

vasoconstricción potente y duradera por la acción directa sobre los receptores NPY-Y1 en la vasculatura periférica y/o potenciando los efectos de las sustancias vasoconstrictoras circulantes como las catecolaminas (21).

Los corticosteroides no parecen estimular la liberación de catecolaminas sistémicas (16), pero se conoce que el incremento de las concentraciones locales en los tejidos, incluyendo el cerebro y el corazón (22). La exposición a los esteroides incrementa la sensibilidad vascular a las catecolaminas, tanto in vitro como in vivo, y la administración de corticosteroides sintéticos, como la dexametasona, ha probado aumentar la respuesta simpática (23, 24). Es posible que el aumento de la frecuencia cardiaca pueda estar relacionado con el incremento transitorio de las concentraciones de catecolaminas o existe un incremento de la sensibilidad a las concentraciones circulantes de catecolaminas.

Es un hecho comprobado que la infusión de glucosa aumenta la frecuencia cardiaca, probablemente en respuesta al incremento de la tasa metabólica basal. Como se observó en la presente investigación mientras las concentraciones de glucosa se mantuvieron elevadas, la frecuencia cardiaca también se mantuvo elevada. Además, es conocido que los corticosteroides tienen un efecto cronotrópico directo, mediado por un aumento de la unión de los beta-adrenoreceptores (23). Padbury y col. (25) demostraron que los recién nacidos que recibieron corticosteroides en el periodo prenatal tuvieron un aumento significativo de la presión arterial, gasto y contractilidad cardiaca, a pesar de tener pre-cargas similares. En parte, eso puede ser debido a un incremento significativo en la generación de monofosfato de adenosina cíclico dependiente del receptor beta-adrenérgico.

Tabla 2. Modificaciones metabólicas maternas de las inyecciones de betametasona.

n=106	Primera Medición (Antes de la primera dosis)	Segunda Medición (24 horas después de la segunda dosis)	Tercera Medición (7 días después de la segunda dosis)
Glicemia en ayunas, mg/dL	78,1±10,2	94,2±13,4	86,5±7,3
Sodio, mEq/L	138,1±4,0	139,5±4,9	138,8±4,1
Potasio, mEq/L	4,2±0,5	4,5±0,6	4,5±0,5

Estudios previos han demostrado que la aplicación de ciclos cortos de corticosteroides exógenos se asocia con un incremento de la glucemia y con resultados anormales en la prueba de tolerancia glucosada en las mujeres embarazadas sanas (26). Estos efectos son generalmente transitorios y son más evidentes si las pruebas se realizan en las siguientes 24 horas al suministro del fármaco (26). Sin embargo, Los resultados de esta investigación confirman que las concentraciones de glucosa alcanzan valores a las 24 horas después de la segunda dosis de betametasona que podrían llevar a un error diagnóstico de diabetes gestacional. Sin embargo, estos valores disminuyen en la mayoría de las ocasiones, aunque pueden observarse concentraciones elevadas hasta 7 días después de esta medición comparado con los valores iniciales

Los esteroides reducen la sensibilidad a la insulina tanto en la administración aguda como crónica produciendo un incremento en las concentraciones de insulina. Estudios previos han demostrado que la administración de dexametasona en embarazadas no afecta las concentraciones circulantes de insulina y glucosa. Sin embargo, solo 1 mg de dexametasona fue administrado por vía oral cuatro veces al día por un promedio de 7,8 días (27), lo cual es substancialmente diferente al esquema propuesto internacionalmente y el utilizado en esta investigación. Datos de otra investigación demostraron que el régimen de uso actual de betametasona y dexametasona induce un incremento transitorio y no significativo en las

concentraciones de glucosa e insulina 24 horas después de completar el tratamiento (24). Aunque el feto también es expuesto a altas concentraciones de glucosa y probablemente también de insulina, la naturaleza transitoria de estos cambios puede significar que no son importantes.

Sin embargo, aún los incrementos transitorios de las concentraciones de glucosa e insulina pueden ser suficientes para alterar en forma permanente la homeostasis de la glucosa si ocurre en un momento crítico del desarrollo fetal. Tal coincidencia es más probable que ocurra con la administración de dosis repetidas de corticosteroides (y en especial de betametasona) en mujeres con riesgo continuo de parto pretérmino. Este efecto no se observa si los corticosteroides son administrados en la primera o segunda semana del embarazo en ratas. Por lo tanto, la exposición excesiva a corticosteroides puede predisponer a intolerancia a la glucosa (28). Los datos actuales sugieren que el incremento en la glucemia que ocasiona la betametasona en el periodo posterior a su administración muestran una tendencia a la normalización luego que desaparecen sus efectos.

Sobre la base de los resultados de la investigación, se puede concluir que el uso de betametasona para inducir la maduración pulmonar fetal produce modificaciones hemodinámicas maternas (presión arterial diastólica y frecuencia cardiaca) y acompañado de cambios metabólicos transitorios (glicemia en ayunas).

Referencias

1. Liggins GC, Howie RN. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics*. 1972;50:515-25. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Committee on Obstetric Practice. ACOG committee opinion. Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet*. 2002;78:95-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Murphy K, Aghajafari F, Hannah M. Antenatal corticosteroids for preterm birth. *Semin Perinatol*. 2001;25:341-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
4. McCallum J, Smith N, Schwab M, Coksaygan T, Reinhardt B, Nathanielsz P, Richardson BS. Effects of antenatal glucocorticoids on cerebral substrate metabolism in the preterm ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198:105.e1-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Jellyman JK, Gardner DS, Edwards CM, Fowden AL, Giussani DA. Fetal cardiovascular, metabolic and endocrine responses to acute hypoxaemia during and following maternal treatment with dexamethasone in sheep. *J Physiol*. 2005;567:673-88. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Docherty CC, Kalmar-Nagy J, Engelen M, Nathanielsz PW. Development of fetal vascular responses to endothelin-1 and acetylcholine in the sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;280:R554-62. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Zeiders JL, Seidler FJ, Slotkin TA. Ontogeny of regulatory mechanisms for beta-adrenoceptor control of rat cardiac adenylyl cyclase: targeting of G-proteins and the cyclase catalytic subunit. *J Mol Cell Cardiol*. 1997;29:603-15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Ervin MG, Padbury JF, Polk DH, Ikegami M, Berry LM, Jobe AH. Antenatal glucocorticoids alter

- premature newborn lamb neuroendocrine and endocrine responses to hypoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;279:R830-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Mulder EJ, Derks JB, Visser GH. Antenatal corticosteroid therapy and fetal behaviour: a randomised study of the effects of betamethasone and dexamethasone. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104:1239-47. [[PubMed](#)]
 10. Nozaki AM, Francisco RP, Fonseca ES, Miyadahira S, Zugaib M. Fetal hemodynamic changes following maternal betamethasone administration in pregnancies with fetal growth restriction and absent end-diastolic flow in the umbilical artery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009;88:350-4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 11. Hallman M, Peltoniemi O, Kari MA. Enhancing functional maturity before preterm birth. *Neonatology.* 2010;97:373-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 12. Koenen SV, Mecenias CA, Smith GS, Jenkins S, Nathanielsz PW. Effects of maternal betamethasone administration on fetal and maternal blood pressure and heart rate in the baboon at 0.7 of gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186:812-7. [[PubMed](#)]
 13. Spencer C, Neales K. Antenatal corticosteroids to prevent neonatal respiratory distress syndrome. We do not know whether repeated doses are better than a single dose. *BMJ.* 2000;320:325-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 14. Sotiriadis A, Makrydimas G, Papatheodorou S, Ioannidis JP. Corticosteroids for preventing neonatal respiratory morbidity after elective caesarean section at term. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;4:CD006614. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 15. Moss TJ, Nitsos I, Harding R, Newnham JP. Differential effects of maternal and fetal betamethasone injections in late-gestation fetal sheep. *J Soc Gynecol Investig.* 2003;10:474-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 16. Shaltout HA, Rose JC, Figueroa JP, Chappell MC, Diz DI, Averill DB. Acute AT(1)-receptor blockade reverses the hemodynamic and baroreflex impairment in adult sheep exposed to antenatal betamethasone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;299:H541-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 17. Quaedackers JS, Roelfsema V, Fraser M, Gunn AJ, Bennet L. Cardiovascular and endocrine effects of a single course of maternal dexamethasone treatment in preterm fetal sheep. *BJOG.* 2005;112:182-91. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 18. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87:10043-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 19. Forhead AJ, Fowden AL. Role of angiotensin II in the pressor response to cortisol in fetal sheep during late gestation. *Exp Physiol.* 2004;89:323-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 20. Wintour EM, Johnson K, Koukoulas I, Moritz K, Tersteeg M, Dodic M. Programming the cardiovascular system, kidney and the brain—a review. *Placenta.* 2003;24 Suppl A:S65-71. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 21. Balasubramaniam A. Neuropeptide Y (NPY) family of hormones: progress in the development of receptor selective agonists and antagonists. *Curr Pharm Des.* 2003;9:1165-75. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 22. Yang S, Zhang L. Glucocorticoids and vascular reactivity. *Curr Vasc Pharmacol.* 2004;2:1-12. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 23. Segar JL, Roghair RD, Segar EM, Bailey MC, Scholz TD, Lamb FS. Early gestation dexamethasone alters baroreflex and vascular responses in newborn lambs before hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006;291:R481-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 24. Asztalos E. The need to go beyond: evaluating antenatal corticosteroid trials with long-term outcomes. *J Obstet Gynaecol Can.* 2007;29:429-32. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 25. Padbury JF, Polk DH, Ervin MG, Berry LM, Ikegami M, Jobe AH. Postnatal cardiovascular and metabolic responses to a single intramuscular dose of betamethasone in fetal sheep born prematurely by cesarean section. *Pediatr Res.* 1995;38:709-15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 26. Yildirim Y, Tinar S, Oner RS, Kaya B, Toz E. Gestational diabetes mellitus in patients receiving long-term corticosteroid therapy during pregnancy. *J Perinat Med.* 2006;34:280-4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 27. Tuimala R, Kauppila A, Ylikorkala O. Effect of dexamethasone on blood glucose, serum insulin, free fatty acid and triglyceride levels during the last trimester of pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 1975;13:81-84.
 28. Vidaeff AC, Blackwell SC. Potential risks and benefits of antenatal corticosteroid therapy prior to preterm birth in pregnancies complicated by severe fetal growth restriction. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2011;38:205-14. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo:
 Jiménez-Castillejo K, Ruiz-Lopez Y, Reyna-Villasmil E, Torres-Cepeda D, Santos-Bolívar J, Aragón-Charris J, Mejía-Montilla J, Reyna-Villasmil N, Modificaciones hemodinámicas y metabólicas maternas secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal. *Avan Biomed* 2013; 2: 114-20.



Hallazgos citogenéticos en los pacientes de la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela (Cytogenetic findings in the patients of the Unit of Medical Genetics University of Los Andes, in Mérida, Venezuela)

Dionora Araque¹, Francisco Cammarata-Scalisi¹✉, María Angelina Lacruz-Rengel², Fabiola López³.

¹ Unidad de Genética Médica, Departamento de Puericultura y Pediatría, Universidad de los Andes. Mérida – Venezuela.

² Servicio de Neuropediatría, Departamento de Puericultura y Pediatría, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

³ Estudiante de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Mérida – Venezuela.

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 20 de Noviembre de 2012. Aceptado: 06 de Julio de 2013.

Resumen

El siguiente estudio tiene por finalidad identificar los hallazgos citogenéticos en los pacientes de la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes, en Mérida, Venezuela, para determinar la prevalencia y tipo de alteraciones cromosómicas. Se realizó un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal, en los pacientes evaluados desde enero de 2005 a enero de 2012. El estudio citogenético fue realizado por técnica convencional de banda G. De un total de 716 estudios citogenéticos realizados, 113 (15,78%) presentaron algún tipo de alteración de los cromosomas autosómicos y la trisomía 21 fue la más frecuente con 95 (84,07%); 71 (9,92%) de los cromosomas sexuales y la monosomía del X fue la más común con 67 (94,37%). La trisomía 21 constituye el principal tipo de alteración cromosómica en este estudio y los revisados, siendo la trisomía libre la forma más común. La monosomía del X constituye la segunda anomalía cromosómica y la primera de los cromosomas sexuales, resaltando la alta frecuencia de mosaicismo con una línea celular con monosomía del X y otra línea celular normal. Es pertinente difundir la importancia del análisis citogenético en la práctica médica, como recurso útil en estudio de pacientes con alteraciones cromosómicas.

Palabras clave

Alteración cromosómica, trisomía 21, monosomía del X.

Abstract

The following study aims to identify the cytogenetic findings in the patients of the Unit of Medical Genetics of the University of Los Andes in Merida, Venezuela to determine the prevalence and type of chromosomal abnormalities. An observational, descriptive and cross-sectional study was performed in the patients evaluated from January 2005 to January 2012. The cytogenetic study was realized by conventional technique G-banding. A total of 716 of cytogenetic studies performed, 113 (15,78%) had some type of alteration of autosomal chromosomes and trisomy 21 was the most frequent with 95 (84,07%); 71 (9,92%) of the sex chromosomes and the X monosomy was most common with 67 (94,37%). Trisomy 21 is the main type of chromosomal abnormality in this study and revised, with free trisomy the most common form. The X monosomy is the second and the first abnormality of the sex chromosomes, with emphasis the high frequency of mosaicism with a cell line with monosomy for the X and one normal cell line. It is pertinent to spread the importance of cytogenetic analysis in medical practice, as a useful resource in the study of patients with chromosomal alterations.

Keywords

Chromosomal abnormality, trisomy 21, X monosomy.

Introducción

La citogenética convencional es la disciplina que estudia a los cromosomas tanto en número como

en estructura (1-3). Permite la detección de anomalías cromosómicas asociadas a retardo mental, malformaciones congénitas múltiples y trastornos

hemato-oncológicos. En 1956, Tjio y Levan determinaron que el número de cromosomas en la especie humana era 46, el cual fue posteriormente confirmado por Ford y Hamerton. Este hallazgo marcó el comienzo de la citogenética humana y el estudio de la correlación genotipo-fenotipo. Posterior al hallazgo de la trisomía 21 en 1959, como la causa etiológica del síndrome de Down, se describieron otras anomalías numéricas y estructurales de los cromosomas autosómicos y de los sexuales (1).

El uso actual de la citogenética sigue siendo amplio y constituye un importante recurso en varios campos de la Medicina (3). El objetivo de este trabajo es presentar los hallazgos citogenéticos en los pacientes de la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes, en Mérida, Venezuela y compararlos con algunos estudios similares.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal, considerando los estudios citogenéticos realizados desde enero de 2005 a enero de 2012 en el Laboratorio de Citogenética de la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela. Los pacientes incluidos en el estudio fueron previamente examinados en la consulta de Genética Médica, presentando indicación para estudio citogenético, el cual se realizó por técnica convencional de banda G.

Para realizar el estudio citogenético, se utilizó linfocitos de sangre periférica, al cual se le agregó solución de heparina 500 UI, como anticoagulante. La muestra se sembró en un frasco de cultivo RPMI 1640 y se agregó fitohemaglutinina como mitógeno. Los cultivos permanecieron 72 horas, en estufa a 37 °C. Después de este tiempo, se agregó colchicina para detener la mitosis en metafase. Posteriormente se

somete a las células a un “choque hipotónico” con CIK 0.075 M. Los preparados se realizaron con fijador (3:1 de etanol:ácido acético) y luego se goteó la suspensión celular sobre un portaobjetos y se secó al aire. Se utilizó tripsina y el colorante de Giemsa para obtener el patrón de bandeo G, utilizado como estándar (4). Se analizaron como mínimo 30 metafases por paciente.

La variedad de pacientes estudiados es amplia e incluyen a recién nacidos con el diagnóstico pre y postnatal de algún tipo de malformación congénita, la presencia de genitales ambiguos, retardo mental, dismorfia facial, retardo del crecimiento o talla baja, amenorrea, abortos recurrentes, infertilidad o parejas con productos con alteración cromosómica; entre otras causas. En todos los casos el estudio se realizó postnatalmente y en linfocitos de sangre periférica.

La organización de los datos se efectuó mediante el uso de tablas de frecuencias, con valores expresados en porcentajes.

Resultados

En el período de estudio se realizaron un total de 716 estudios citogenéticos, siendo normal en 532 pacientes (259 masculinos y 273 femeninos). Presentaron algún tipo de alteración en los cromosomas autosómicos 113 (15,78%) pacientes y 71 (9,92%) cursaron algún tipo de anormalidad en los cromosomas sexuales, Tabla 1. La trisomía 21 fue la alteración cromosómica más frecuente con 95/716 (13,27%) y 95/113 (84,07%) de las alteraciones de los cromosomas autosómicos; siendo la trisomía 21 libre la más frecuente. La trisomía 18 fue el segundo tipo de alteración cromosómica numérica de los autosomas más frecuente con 4/113 (3,54%) pacientes y en igual frecuencia se presentó la delección parcial del brazo corto del cromosoma 5 como alteración cromosómica

Tabla 1. Distribución general del total de los estudios citogenéticos.

Estudio Citogenético	Nº de Pacientes (n=716)	Porcentaje (%)
Normal		
46,XY	259	36.17
46,XX	273	38.17
Alteración en Cromosomas Autosómicos	113	15.78
Alteración en Cromosomas Sexuales	71	9.92

Fuente: Archivo del Laboratorio de Citogenética de la Unidad de Genética Médica, ULA.

Tabla 2. Distribución de las alteraciones cromosómicas.

Tipo de Alteración	N° de Pacientes (n=113)	Porcentaje (%)
Alteraciones numéricas		
<u>Trisomía 21</u>		
47,XY,+21	41	36.17
47,XX,+21	39	34.51
46,XY/47,XY,+21	8	7.08
46,XX/47,XX,+21	6	5.31
45,X/46,XX/47,XX,+21	1	0.88
<u>Trisomía 18</u>		
47,XY,+18	1	0.88
47,XX,+18	2	1.77
46,XX/47,XX,+18	1	0.88
<u>Trisomía 13</u>		
46,XX/47,XX,+13	1	0.88
Otras Alteraciones numéricas		
46,XY/47,XY,+20	1	0.88
46,XX/47,XX,+22	1	0.88
Alteraciones estructurales		
<u>Delección parcial del brazo corto del cromosoma 5</u>		
46,XY,5p-	1	0.88
46,XX,5p-	1	0.88
46,XY/46,XY,5p-	1	0.88
46,XX/46,XX,5p-	1	0.88
<u>Delección parcial del brazo corto del cromosoma 4</u>		
46,XY,4p-	1	0.88
46,XX/46,XX,r(4)	1	0.88
Otras alteraciones estructurales*	5	4.42

* Diferentes alteraciones estructurales que se presentaron en mosaico en su totalidad.

estructural, Tabla 2. La monosomía del X (Síndrome de Turner), correspondió la segunda alteración cromosómica más frecuente del total y la primera de los cromosomas sexuales con 67/716 (9,36%) del total de estudios citogenéticos realizados y 67/71 (94,37%) entre las alteraciones de los cromosomas sexuales, siendo el mosaicismo con una línea celular con monosomía del X y otra línea celular normal, la forma de presentación más frecuente 63/67 (94,03%) (Tabla 3).

Discusión

En los estudios revisados en la (tabla 4), la trisomía 21 correspondió la alteración cromosómica más frecuente (5-8), así como también en el presente trabajo. Corresponde la aneuploidía más común con una incidencia de 1 en 700 recién nacidos (9), y ocurre cuando un individuo exhibe todo o una parte específica adicional del cromosoma 21 (10). Aboussair et al (6). analizaron el cariotipo de 5572 pacientes en Marruecos, de los cuales 27% cursaron algún tipo de anomalía cromosómica y la trisomía 21 se presentó en 19,65%. Asimismo, la trisomía libre del cromosoma 21, fue el tipo de alteración cromosómica más frecuente en los estudios incluidos en la (tabla 4) y en otros el cual se sólo se analizaron a los pacientes con

Tabla 3. Distribución de las alteraciones cromosómicas sexuales.

Tipo de Alteración	N° de Pacientes (n=71)	Porcentaje (%)
<u>Monosomía X</u>		
45,X/46,XX	63	88.73
45,X	2	2.82
46,XX/46,Xr(X)	1	1.41
46,X.Xp-ter	1	1.41
<u>XXY</u>		
46,XY/47,XXY	2	2.82
47,XXY	1	1.41
<u>XXX</u>		
46,XX/47,XXX	1	1.41

Fuente: Archivo del Laboratorio de Citogenética de la Unidad de Genética Médica, ULA.

síndrome de Down, como en Egipto 95,4% (11), India 84,8% (12), y México (13).

La segunda alteración cromosómica en este trabajo correspondió a la monosomía del X, como en todos los estudios citados en la (tabla 4). Este trastorno se debe a la pérdida de todo o una parte de un cromosoma X en la mujer (14), y presenta una incidencia de 1 en 1200 - 2500 recién nacidas femeninas (15). Djordjević et al (16). en Serbia documentaron los hallazgos citogenéticos en 31 pacientes, siendo el principal tipo la monosomía del X en 48,4%, isocromosoma del brazo largo del X en 16,1% y sólo en 9,7% se presentaron en mosaico con una línea celular con monosomía X y otra línea celular normal, entre otras formas infrecuentes. Otro estudio realizado por Catović (17). en la Federación de Bosnia Herzegovina, incluyeron 30 pacientes, fue la monosomía del X en 63,3% el principal tipo de alteración encontrado, seguido por el isocromosoma del brazo largo del X en el 16,7%, mosaico con una línea celular con monosomía X y otra línea celular normal, y la delección del brazo corto del X en 6,7%, cada uno, entre los principales tipos. Por su parte, en Polonia el más frecuente fue la monosomía del X, seguida por el mosaicismo con una línea celular con monosomía para el X y otra línea celular normal, entre otras variantes (15).

En Tunisia, se presentaron 89 casos de síndrome de Turner, el cual el mosaicismo se evidenció

en 47%, la monosomía del X en 32% y alteraciones estructurales en 21% (18). Igualmente, el mosaicismo con una línea celular con monosomía para el X y otra línea celular normal, fue el tipo de alteración más frecuente en 55,17%, según Duarte et al (5). este último corresponde el mayor porcentaje de este tipo de alteración según lo revisado en la literatura y presente en Latinoamérica, no obstante, el presentado en el presente estudio lo superó con 94,03%.

La tercera alteración cromosómica correspondió la trisomía 18, el cual corresponde la segunda aneuploidía de los autosomas. Ocurre de 1 en 3000 a 8000 nacimientos y es causante de numerosas malformaciones y alteraciones en el desarrollo (19). De los cuatro pacientes estudiados en este estudio, tres presentaron trisomía libre del 18 y en un caso se presento en mosaico. Referente a este último tipo de alteración, Tucker et al (20). reportaron dos nuevos casos de mosaicismo y revisaron la literatura internacional encontrando para el 2007, sólo 31 casos reportados previamente. Con igual número de afectados se presentó la alteración estructural correspondiente a la delección parcial del brazo corto del cromosoma 5, producido por delección variable que abarca esta región citogenética y presenta una incidencia de 1 en 50.000 nacimientos (21).

Posteriormente, se encontró tres casos del síndrome XXY, alteración de los cromosomas sexuales más común en hombres y se define cuando se presenta un cromosoma Y y al menos dos cromosomas X en el varón (22). Otra alteración estructural de los autosomas encontrada en dos casos, correspondió al delección parcial del brazo corto del cromosoma 4, un complejo de malformaciones congénitas producidas por la pérdida de material genético en el locus 4p16.3 (23), e incidencia estimada en 1 en 20.000 a 50.000 nacimientos (24). Uno de los casos se presentó como mosaico del cromosoma 4 en anillo, produciendo pérdida de parte de su brazo corto (25). Finalmente, se encontró un caso de trisomía en mosaico del cromosoma 13 y de igual forma en los cromosomas 20 y 22, como alteraciones de los autosomas. En cuanto a los sexuales se presentó un caso de XXX igualmente en mosaico.

La solicitud del estudio de citogenético es cada vez más relevante en la práctica médica, en especial de pacientes con sospecha de alteraciones cromosómicas. Es un recurso útil en la investigación clínica de pacientes con alteraciones genéticas de origen incierto indispensable para confirmar el

Tabla 4. Porcentaje de alteraciones cromosómicas con respecto al total de estudios citogenéticos realizados. Comparación de estudios similares.

País Autor	Duarte y col. Brasil	Aboussair y col. Marruecos	Mahrous y col. Egipto	Kim y col. Corea	Este estudio
Tipo de alteración					
Porcentaje*					
Cromosomas autosómicos					
Trisomía 21	11.90	19.65	16.25	7.17	13.27
Trisomía 18	0.76	0.41	0.17	0.56	0.56
Trisomía 13	0.44	0.29**	0.21	0.12	0.14
Delección parcial del brazo corto del cromosoma 5	0.33	0.14	-	0.19	0.56
Delección parcial del brazo corto del cromosoma 4	0.33	0.13	-	-	0.28
Cromosomas sexuales					
Monosomía de X	3.17	2.19	2.45	2.77	9.36
XXY	0.55	0.68	0.60	1.43	0.42
XXX	-	0.04	0.13	0.07	0.14
XYY	-	0.05	-	0.12	-

* Del total de estudios realizados

** Excluyendo translocaciones

diagnóstico y aportar asesoramiento genético al grupo familiar en estudio (26).

Al igual que los trabajos reportados en la literatura y resumidos en la (Tabla 4), los cuales presentan una metodología similar a este estudio, la trisomía 21 constituyó la principal entidad presente y la trisomía libre constituyó el tipo más común de alteración citogenética. En este trabajo no se reportaron alteraciones estructurales del cromosoma 21.

Aunque el objetivo de este trabajo no fue establecer la correlación fenotipo-genotipo y desde el punto de vista clínico no representa ningún inconveniente en realizar el diagnóstico en la trisomía 21, el estudio citogenético permite estimar el riesgo de

recurrencia, constituyendo una información valiosa para el asesoramiento genético. Posteriormente, la monosomía del cromosoma X, constituye la segunda entidad más frecuente y la primera de los cromosomas sexuales, este reporte resalta la alta frecuencia de mosaicismo encontrada en esta alteración, no conociéndose los factores que pueden influir en el patrón de distribución distinto a otros estudios revisados.

Trabajos como este son necesarios para conocer la forma de presentación de las alteraciones cromosómicas evaluadas en la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes, centro de referencia del Estado Mérida y regiones vecinas del occidente del país.

Referencias

- Gallego MS. Rol de la citogenética en pediatría. Arch Argent Pediatr 2011;109:339-46. [[Google Scholar](#)].
- Li X. Sex chromosomes and sex chromosome abnormalities. Clin Lab

- Med 2011;31:463-79. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Silva CT, Contreras NC, Fonseca DJ. Utilidad de la citogenética en la medicina actual. Visión histórica y aplicación. Acta Med Colomb 2008;33:309-16. [[Google Scholar](#)]
 4. Solari AJ. Genética Humana. Fundamentos y aplicaciones en Medicina. 3ª ed. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 2004.
 5. Duarte AC, Cunha E, Roth JM, Ferreira FL, Garcias GL, Martino-Roth MG. Cytogenetics of genetic counseling patients in Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. Genet Mol Res 2004;3:303-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 6. Aboussair N, Jaouad IC, Dequaqi SC, Sbiti A, Elkerch F, Yahya B, Natiq A, Sefiani A. Cytogenetic analysis of 5572 patients referred for suspected chromosomal abnormalities in Morocco. Genet Test Mol Biomarkers 2012;16:569-73. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 7. Mahrous HS, Behery AK, Nazmy NA, Kholeif SF. Chromosome anomalies in a population referred for cytogenetic analysis. A five years experience in Alexandria, Egypt. JMRI 2007;28:189-93. [[Google Scholar](#)]
 8. Kim SS, Jung SC, Kim HJ, Moon HR, Lee JS. Chromosome abnormalities in a referred population for suspected chromosomal aberrations: a report of 4117 cases. J Korean Med Sci 1999;14:373-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 9. Jaouad IC, Cherkaoui Deqaqi S, Sbiti A, Natiq A, Elkerch F, Sefiani A. Cytogenetic and epidemiological profiles of Down syndrome in a Moroccan population: a report of 852 cases. Singapore Med J 2010;51:133-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 10. Cammarata-Scalisi F, Paoli-Valeri M, Cammarata-Scalisi G, Diaz JJ, Nasre R, Cammarata-Scalisi ME. Frecuencia del ano imperforado y factores de riesgo asociados en pacientes con síndrome de Down. Acta Gastroenterol Latinoam 2012;42:40-5. [[Google Scholar](#)]
 11. Mokhtar MM, Abd el-Aziz AM, Nazmy NA, Mahrous HS. Cytogenetic profile of Down syndrome in Alexandria, Egypt. East Mediterr Health J 2003;9:37-44. [[PubMed](#)]
 12. Sheth F, Rao S, Desai M, Vin J, Sheth J. Cytogenetic analysis of Down syndrome in Gujarat. Indian Pediatr 2007;44:774-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 13. González-Herrera L, Pinto-Escalante D, Ceballos-Quintal JM. Prevalencia de mosaicos en 100 individuos con diagnóstico de síndrome de Down. Rev Biomed 1998;9:214-22. [[Google Scholar](#)]
 14. Pinsker JE. Clinical review: Turner syndrome: updating the paradigm of clinical care. J Clin Endocrinol Metab 2012;97:E994-1003. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 15. Lacka K. Turner's syndrome correlation between karyotype and phenotype. Endokrynol Pol 2005;56:986-93. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 16. Djordjević VA, Jovanović JV, Pavković-Lučić SB, Drakulić DD, Djurović MM, Gotić MD. Cytogenetic findings in Serbian patients with Turner's syndrome stigmata. Genet Mol Res 2010;9:2213-21. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 17. Catović A. Cytogenetics findings at Turner syndrome and their correlation with clinical findings. Bosn J Basic Med Sci 2005;5:54-8. [[PubMed](#)]
 18. Kammoun I, Chaabouni M, Trabelsi M, Ouertani I, Kraoua L, Chelly I, M'rad R, Ben Jemaa L, Maâzoul F, Chaabouni H. Genetic analysis of Turner syndrome: 89 cases in Tunisia. Ann Endocrinol 2008;69:440-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 19. Raczkowski JW, Daniszewska B, Paradecka A. Edwards syndrome in a 6-year old girl. Neuro Endocrinol Lett 2010;31:43-6. [[PubMed](#)]
 20. Tucker ME, Garringer HJ, Weaver DD. Phenotypic spectrum of mosaic trisomy 18: two new patients, a literature review, and counseling issues. Am J Med Genet A 2007;143:505-17. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 21. Murru D, Boccone L, Ristaldi MS, Nucaro AL. Cri du chat mosaicism: an unusual case of partial deletion and partial deletion/duplication of the short arm of chromosome 5, leading to an unusual cri du chat phenotype. Genet Couns 2008;19:381-6. [[PubMed](#)]
 22. Savic I. Advances in research on the neurological and neuropsychiatric phenotype of Klinefelter syndrome. Curr Opin Neurol 2012;25:138-43. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 23. Fisch GS, Grossfeld P, Falk R, Battaglia A, Youngblom J, Simensen R. Cognitive-behavioral features of Wolf-Hirschhorn syndrome and other subtelomeric microdeletions. Am J Med Genet C Semin Med Genet 2010;154C:417-26. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 24. Battaglia A, Filippi T, Carey JC. Update on the clinical features and natural history of Wolf-Hirschhorn (4p-) syndrome: experience with 87 patients and recommendations for routine health supervision. Am J Med Genet C Semin Med Genet 2008;148C:246-51. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 25. Kim JH, Oh PS, Na HY, Kim SH, Cho HC. A case of mosaic ring chromosome 4 with subtelomeric 4p deletion. Korean J Lab Med 2009;29:77-81. [[PubMed](#)]
 26. Dayakar S, Rani DS, Bahu SJ, Srilatha K, Jayanthi U, Goud KI, Jain D, Raina V. Increasing role of cytogenetics in pediatric practice. Genet Test Mol Biomarkers 2010;14:197-204. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo: Araque D, Cammarata-Scalisi F, López F, Hallazgos citogenéticos en los pacientes de la Unidad de Genética Médica de la Universidad de los Andes en Mérida, Venezuela. *Avan Biomed* 2013; 2: 121-26.

Niveles del factor de crecimiento derivado de plaquetas en el plasma rico en plaquetas antes y después de antiagregantes plaquetarios

(PDGF levels in platelet-rich plasma before and after anti platelets drugs)

Maczy González¹✉, Melvis Arteaga-Vizcaíno², Ana Ruiz³, Olga Briceño³, Maribel Quintero⁴, Ricardo Atencio², Mariluz Benito⁵, Marisol Benito⁶, Richard Flores³.

¹Jefe Cátedra de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ²Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ³Cátedra de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ⁴Práctica Profesional de Hematología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Venezuela. ⁵Cátedra de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad del Zulia, Venezuela. ⁶Instituto de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad del Zulia, Venezuela.

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 2 de Julio de 2013. Aceptado: 20 de Octubre de 2013.

Resumen

El PDGF es uno de los mitógenos más potentes para el tejido conectivo, su secreción parece ser particularmente importante cuando la fuente es el Plasma Rico en Plaquetas (PRP), de allí el rol protagónico de este último en la regeneración tisular. Se determinó mediante ELISA los niveles de PDGFBB en el PRP, Plasma Pobre en Plaquetas (PPP) y Exudado de 32 sujetos sanos antes y 24 horas después de ingerir AAS (Aspirina) y Clopidogrel. Los niveles basales de PDGFBB fueron de 10, 6 ± 1, 9 ng/ml (PPP), 12, 12 ± 2, 5 ng/ml (PRP) y 10, 84 ± 1, 68 ng/ml (Exudado). Mientras que después del tratamiento con AAS las concentraciones de PDGFBB estuvieron en 8, 96 ± 1, 4 ng/ml (PPP), 11, 36 ± 1, 48ng/ml (PRP), 11, 11 ± 1, 14ng/ml (Exudado) y para el Clopidogrel fueron de 8, 53 ± 0, 59 ng/ml (PPP), 9, 65 ± 1, 17 ng/ml (PRP) y 8, 51 ± 0, 75 ng/ml (Exudado). Se notó que luego de la administración de AAS y Clopidogrel los valores de PDGFBB disminuyeron de manera estadísticamente significativa, en especial para el grupo del Clopidogrel. El AAS pareció afectar en menor grado las concentraciones de PDGFBB, lo cual puede ser atribuible al mecanismo de acción farmacológica diferencial existente entre la AAS y Clopidogrel. No se encontró correlación entre el recuento plaquetario y los niveles basales de PDGFBB del PRP.

Palabras clave

Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), Plasma rico en plaquetas (PRP), Aspirina o ácido acetil salicílico (AAS), Clopidogrel (CLO).

Abstract

PDGF is one of the most potent mitogen for connective tissue, its secretion appears to be particularly important when the source is Platelet Rich Plasma (PRP), hence the latter leading role in tissue regeneration. ELISA PDGFBB levels in PRP, Platelet Poor Plasma (PPP) and exudates, were determined in 32 healthy subjects before and 24 hours after ingestion of Aspirin (ASA) and Clopidogrel (CLO). PDGFBB baseline levels were 10.6 ± 1.9 ng / ml (PPP), 12.12 ± 2.5 ng / ml (PRP) and 10.84 ± 1.68 ng / ml (exudate). After treatment with ASA concentrations were PDGFBB in 8.96 ± 1.4 ng / ml (PPP), 11.36 ± 1.48 ng / ml (PRP), 11.11 ± 1.14 ng / ml (exudate) and the Clopidogrel were 8.53 ± 0.59 ng / ml (PPP), 9.65 ± 1.17 ng / ml (PRP) and 8.51 ± 0.75 ng / ml (exudate). It was noted that after the administration of ASA and CLO, PDGFBB values statistically significantly decreased, especially for the group of CLO. ASA lesser extent appears to affect the concentrations of PDGFBB, which may be attributable to the pharmacological mechanism of action between the ASA and Clopidogrel. No correlation was found between platelet count and baseline levels of PRP PDGFBB.

Keywords

Platelet derived growth factor (PDGF), Platelet-rich plasma (PRP), acetyl salicylic acid (ASA), Clopidogrel (CLO).

✉ **Autor de correspondencia:** Maczy González Rincón, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Instituto de Investigaciones Clínicas, Universidad del Zulia, final Av. 20 al lado de la Maternidad Castillo Plaza. Teléfono: 58 261 4127225; 04246692707, Fax: 58 261 4127224; E-mail: maczy.gonzalez@gmail.com, rigonzalez@fmed.luz.edu.ve. Maracaibo, Venezuela

Introducción

Las plaquetas o trombocitos son células anucleadas discoideas de la sangre periférica de pequeño tamaño (2 a 4 μm diámetro) que tienen una función primordial en el proceso de la hemostasia normal, regeneración de tejidos y en algunos aspectos de la defensa inmunitaria. Dentro de la hemostasia normal, la hemostasia primaria es el proceso inicial de la coagulación y tiene el objeto de crear un tapón plaquetario en respuesta al daño del endotelio vascular y consiste en cuatro fases: adhesión, activación, secreción y agregación plaquetaria, su recuento normal se sitúa entre 150.000 a 450.000/ μl (1, 2).

Las plaquetas están repletas de gránulos secretorios, que son indispensables para que cumplan con sus funciones. Entre los tres tipos de gránulos secretorios se encuentran los gránulos α , gránulos o cuerpos densos y lisosomas, de ellos, los más abundantes son los gránulos α , los cuales poseen un contenido importante de proteínas, mediadores solubles tales como citoquinas, factores de crecimiento (FC), entre estos últimos, se encuentran proteínas pro y anti-angiogénicas que incluyen el factor de crecimiento vasculo-endotelial (VEGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento fibroblástico FGF, factor de crecimiento del hepatocito (HGF) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), entre otros. Todos estos FC son secretados adicionalmente por una variedad de células que participan en el proceso inflamatorio, pero la rapidez con la cual las plaquetas se acumulan en los sitios de injuria vascular las hace una fuente relevante y especial de estos mediadores mitogénicos (2).

Entre las preparaciones que aíslan y concentran las plaquetas tenemos al Plasma Rico en Plaquetas (PRP), el cual ha sido reconocido como un poderoso agente hemostático y adhesivo desde la década de 1970 (3), así como, una potente fuente de FC desde 1990 (4). El PRP es una fracción plasmática que posee una concentración de plaquetas superior de 2 a 5 veces al número de plaquetas en sangre periférica (5) El PRP se considera un concentrado de plaquetas, obtenido generalmente por centrifugación de la sangre del propio paciente a quien se le va aplicar (autólogo). Este compuesto es portador de FC naturales tanto en el plasma sin activar como en el activado con Calcio o Trombina; para estos últimos el resultado es un coágulo que contiene fibrina además de moléculas de adhesión celular (fibronectina y

vitronectina) y FC, que participan en el proceso de la coagulación, cicatrización y regeneración tisular (5-8)

La mayor cantidad de elementos contenidos en el PRP son los FCs, estos son polipéptidos considerados mediadores solubles que son producidos y secretados por la mayoría de las células del organismo en respuesta a un estímulo específico, pero son las plaquetas y los macrófagos, los que secretan la mayor proporción de FCs (9, 10)

Los primeros trabajos que apoyaron el empleo médico del PRP fueron los realizados en el área odontológica, ya que lo consideraron una fuente rica en factores de crecimiento que modulaban la proliferación celular, lo que conlleva a una exitosa regeneración del tejido periodontal (11-13).

Luego, otras ramas de la medicina asumieron esas experiencias para justificar la utilización del PRP en otras patologías, como el mostrado en pacientes con Hemofilia A, Hemofilia B, úlceras de miembros inferiores en pacientes con Diabetes Mellitus, artrosis, entre otras enfermedades (14).

Del PDGF y sus isoformas más conocidas (PDGFAA, PDGFBB y PDGFAB), se sabe que fueron purificados por Antoniades empleando electroforesis en 1981, se encuentran en elevadas concentraciones en las plaquetas, en los macrófagos y en células endoteliales vasculares y en menores concentraciones en otros tejidos. El PDGF es una proteína catiónica termoestable con un PM de 30-40 Kd, está almacenado en los gránulos α de las plaquetas y se libera cuando las plaquetas se agregan y se inicia la activación del sistema de la coagulación (15).

La función principal del PDGF es promover la quimiotaxis, es secretado por las plaquetas en el callo en el lugar de la lesión de fractura, además puede estimular el reclutamiento, proliferación, y sobrevivencia de células mesenquimales, células del músculo liso, endoteliales, fibroblastos, y otras células reparadoras; así mismo, inicia la angiogénesis del complejo capilar en procedimientos que involucran la colocación de un injerto. El efecto mitogénico sobre los osteoblastos es el reflejo de su acción primaria en el hueso (12, 16, 17).

Ahora bien, es ampliamente conocido la utilización de ciertos medicamentos que tienen efecto antiagregantes sobre las plaquetas como el ácido acetil salicílico-AAS o aspirina y el Clopidogrel/Ticlopidina (Tienopiridinas), entre otros, cuya indicación es universal en el tratamiento de pacientes con tendencia a formar trombos por diversas causas como cardiopatías congénitas o adquiridas, episodios únicos o múltiples de accidentes cerebrovasculares, entre otras enfermedades (18). Estos actúan inhibiendo la

agregación plaquetaria, reduciendo con ello el riesgo de formar un trombo plaquetario; no obstante pueden interferir con la liberación de los factores de crecimiento contenidos en los gránulos (19-22). De esa manera, en teoría, el PRP proveniente de sujetos tratados con antiagregantes plaquetarios, no sería de utilidad en las áreas de la medicina en donde ha sido probada su gran influencia en la curación y cicatrización de diversos tipos de heridas.

Dado lo anteriormente planteado, sobre el mecanismo de acción y efecto terapéutico de una droga antiagregante plaquetaria en diversas patologías médicas y el empleo del PRP para acelerar la regeneración y reparación tisular, en este trabajo se propone determinar los niveles de PDGFBB en el PRP y sus subproductos en sujetos sanos tratados con antiagregantes plaquetarios y su correlación con el recuento plaquetario. Así como determinar si el uso profiláctico de dichas drogas puede modificar de manera importante la concentración de los factores de crecimiento en el PRP; si no es así, permitiría recomendar el uso del PRP en pacientes en quienes se indiquen estas drogas con el fin de disminuir el riesgo de formar trombos. Esta investigación espera contribuir a un mejor entendimiento del empleo efectivo del PRP en diversos procedimientos médicos, como una estrategia novedosa al servicio de la terapéutica médica en general.

Métodos

El Diseño del presente estudio es de Campo, el tipo es Experimental y Longitudinal (23)

La población objeto de estudio, estuvo conformada por todos los sujetos adultos, de ambos sexos, aparentemente sanos, que acudieron al Instituto de Investigaciones Clínicas "Dr. Américo Negrette" de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. Esta población es de carácter finita, es decir, menos de 100 mil sujetos (23)

La muestra se calculó de manera no aleatoria e intencionada (23), correspondió a 32 sujetos. Los criterios de selección que se tomaron en cuenta fueron los siguientes:

Inclusión:

- Edad entre 18 y 50 años.
- En ayunas.
- Sin enfermedad clínica de base conocida.
- Aparentemente sanos.
- Resultados normales en el estudio de agregación plaquetaria que se realice antes de la

ingestión de las drogas antiplaquetarias que se utilizarán en este estudio.

Exclusión:

- Haber ingerido antiagregantes plaquetarios 11 días antes del estudio.

Para disminuir el sesgo de la muestra, en el muestreo la técnica que se utilizó correspondió a los 32 primeros sujetos que cumplieron con todos los criterios de inclusión y que deseaban participar en este estudio.

Todos los sujetos fueron sometidos a un examen clínico y de laboratorio exhaustivo, con el fin de descartar enfermedades sistémicas. Estos se distribuyeron de la siguiente manera:

- Grupo A: 32 sujetos sin tratamiento previo con drogas antiagregantes plaquetarias. Estos mismos conformaron el Grupo B.
- Grupo B: se dividió a su vez en dos subgrupos:
 - o B1: constituidos por 16 sujetos que recibieron aspirina a una dosis de 100 mg una sola por un día.
 - o B2: 16 individuos quienes recibieron Clopidogrel a una dosis de 75 mg en dosis única un solo día.

Tanto a los sujetos del grupo A como B (a las 24 horas del consumo del fármaco respectivo), en ayunas, previa asepsia de la zona se les extrajo 16 mL de sangre venosa antecubital, para ello se utilizó mariposas No 21 empleando la técnica de la doble jeringa para evitar la activación de las plaquetas.

La primera jeringa contenía 2,5 mL de sangre que fue dispensada en tubos de vidrio con EDTA para estudio de Hematología, recogiendo los datos concernientes a plaquetas y glóbulos blancos, empleando un contador automático de células BeckmanCoulter AC-T.

La segunda jeringa contenía 13,5 mL de sangre venosa, que se distribuyó como se describe a continuación:

1. 4,5 mL se dispensaron en un tubo plástico que contenía citrato de sodio al 3, 8% y se centrifugó a 800 rpm (180 g) durante 10 minutos a temperatura ambiente para obtener PRP; luego el remanente de cada muestra, se centrifugó a 4500 rpm durante 20 minutos, en centrifuga refrigerada (Sorvall), para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP). Para realizar la agregación plaquetaria (solo antes del tratamiento con el antiagregante), la concentración de plaquetas se ajustó a $250 \times 10^9/L$ con el PPP. La prueba de agregación en las muestras se realizó utilizando 0,45 mL del PRP y se le adicionó los siguientes inductores: ADP (Adenosina 5 Difosfato): $5 \times 10^{-6} M$ (concentración final: 2,14 $\mu g/mL$), Colágeno: $1,2 \times 10^{-2} M$ (concentración final:

3 µg/ml), Epinefrina: $0,6 \times 10^{-4}$ M (concentración final: 11 µg/mL), Ristocetina: $5,5 \times 10^{-4}$ M (concentración final: 1,2 µg/mL). La agregación se realizó según el método turbidimétrico de Born (24) empleando un agregómetro Chrono-log (Corp. Haverton, PA. USA). El resultado obtenido se expresó en porcentaje.

2. 9 mL de la muestra se colocaron en otro tubo plástico que contenía 1 ml de citrato de sodio al 3,8% y fueron sometidos a centrifugación, en centrífuga clínica a una velocidad de 1400 rpm por 7 minutos a 267 G y siguiendo la técnica de Anitua (18) para la obtención de PRP. Del volumen total obtenido en el PRP se extrajeron 0,5 mL que correspondió a Plasma Pobre en Plaquetas (PPP). El resto (PRP) se tomó con un pipeteado muy meticuloso y con una punta distinta, hasta la zona que se encuentra por encima de la fracción roja, 1 ml del volumen total del PRP se alicuotó para recuento de plaquetas y medición de FC. A 1 ml del PRP obtenido se le adicionó 50 µl de Cloruro de Calcio al 10 % (CaCl_2), se mezcló y se dejó reposar por 15-30 minutos para obtener el PRP gelificado, a este se le sometió a centrifugación a 2500-3000 rpm por 10 minutos, para obtener un exudado (Ex).

El PPP, PRP sin activar y el exudado del PRP gelificado, se distribuyeron en alícuotas y se almacenaron en tubos plásticos Eppendorf® a $-70\text{ }^\circ\text{C}$ en un ultracongelador vertical (Forma Scientific U95-18), lugar donde se conservaron hasta el análisis del FC, empleando la técnica de Inmunoensayo Enzimático (ELISA) (25).

Los niveles del factor de crecimiento PDGFBB se midieron en muestras y estándares empleando el método de ELISA cuyos kits fueron suministrados por Abcam (ABCAM INC, CAMBRIDGE, USA: 1 Kendall Square, Ste B2304 Cambridge, MA 02139-1517 USA) con número de lote: GR 85403-1, GR85404-1 y GR

56644-1, fueron ejecutados de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Valores Referenciales

Se consideraron los valores referenciales para plaquetas entre 150.000 a 450.000 $\times\text{ mm}^3$ en sangre periférica (26).

Para la tabulación y el análisis de los resultados que se obtuvieron, se utilizó la estadística respectiva. Los datos se muestran en tablas y gráficos (según se consideró) en valores absolutos y porcentajes, así como media +/- 1 desviación estándar. Para la comparación de las variables en estudio se utilizó la prueba t de student, se consideró $p < 0,05$ como la menor probabilidad y para el estudio de correlación se aplicó la prueba de Pearson (27).

A todos los sujetos se les requirió consentimiento informado por escrito antes de ser incluidos en el estudio, y se les identificó a través de números, se contó así mismo, con la aprobación del Comité de Ética de la institución (Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, LUZ) y se procedió de acuerdo a los principios de la declaración de Helsinki de 1975 (actualizada en el 2000), y las recomendaciones elaboradas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Medicas (CIOMS) en el 2002 (28).

Resultados

En la tabla 1 se muestran los valores promedio, desviación estándar y rango del recuento de plaquetas en sangre periférica y en el PRP de los sujetos sanos estudiados antes y después del tratamiento con antiagregantes plaquetarios. Se observa que el recuento plaquetario promedio en

Tabla 1. Valores promedio, desviación estándar y rango de las plaquetas antes y después del tratamiento con aspirina (AAS) y clopidogrel

Muestra	Promedio ± desviación estándar (rango)		
	Antes	AAS	CLO
Plaquetas $10^3 \times \text{mm}^3$ Sangre Periférica	272,28 ± 69,66 (150-379) n = 32	-	-
PRP $10^3 \times \text{mm}^3$	505,40 ± 140,83 (316 - 740) n = 32	566,86 ± 109,16 (405 - 784) n = 16	435,22 ± 108,48 (333 - 620) n = 16
p	^a < 0.0001 (t = 1.484)	^b NS (t = 0.2866)	^c < 0, 05 (t = 0.3277) ^d < 0, 001 (t = 0.8554)

n: numero de sujetos estudiados; a: plaquetas sangre periferica antes vs prp antes; b: prp antes vs prp con aas; c: prp antes vs prp con clopidogrel; d: prp con aas vs prp con clopidogrel.

sangre periférica se situó en $272,281 \pm 69,66 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$, el cual se encuentra dentro del rango referencial.

Por otro lado, los valores del conteo plaquetario en PRP antes del tratamiento respectivo ($505,40 \pm 140,83 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$) presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) cuando se comparan con las cifras de sangre periférica.

mm³) vs el grupo del Clopidogrel ($435,22 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$), se halló diferencias estadísticamente significativas a favor del AAS ($p < 0,001$).

La tabla 2 muestra una comparación de las concentraciones de PDGFBB en el PRP y sus subproductos antes y después del tratamiento con AAS/Clopidogrel. Los niveles basales de PDGFBB se situaron en promedio y desviación estándar en $10,68 \pm 1,9 \text{ ng/ml}$, $12,12 \pm 2,51 \text{ ng/ml}$ y $10,84 \pm 1,68 \text{ ng/ml}$ para el PPP, PRP y exudado respectivamente vs $8,96 \pm 1,4 \text{ ng/ml}$, $11,36 \pm 2,48 \text{ ng/ml}$ y $11,11 \pm 1,14 \text{ ng/ml}$ después del tratamiento con AAS. Encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) solo para el PPP, pero no para el PRP y el exudado. Además se observó una disminución de los niveles de PDGFBB en dos de los 3 productos plaquetarios 24 horas después del tratamiento.

Así mismo, se observa la comparación de las concentraciones de PDGFBB para el PRP y sus subproductos antes y después de la administración de Clopidogrel. Los niveles promedio y desviación estándar del factor de crecimiento medido luego del tratamiento se situaron en $8,53 \pm 0,59 \text{ ng/ml}$ (PPP), $9,65 \pm 1,17 \text{ ng/ml}$ (PRP) y $8,51 \pm 0,75 \text{ ng/ml}$ (exudado). Al comparar estos valores con los basales se notó una disminución estadísticamente significativa de los niveles de PDGFBB en todos los productos (PPP y exudado: $p < 0,0001$, PRP: $p < 0,0005$).

La tabla 3 muestra un cuadro comparativo de los niveles plasmáticos de PDGFBB en el PPP, PRP y Exudado de sujetos sanos después del tratamiento con AAS vs Clopidogrel. Se observa que los valores promedio y desviación estándar de PDGFBB en el grupo tratado con AAS vs Clopidogrel fueron de $8,96 \pm 1,4 \text{ ng/ml}$ y $8,53 \pm 0,59 \text{ ng/ml}$ para el PPP, de $11,36 \pm 2,48 \text{ ng/ml}$ y $9,65 \pm 1,17 \text{ ng/ml}$ para el PRP, y en cuanto al exudado fueron de $11,11 \pm 1,14 \text{ ng/ml}$ y $8,51 \pm 0,75 \text{ ng/ml}$ respectivamente. Al comparar los resultados por subproducto plaquetario, se encontró diferencias estadísticamente significativas para el PRP ($p < 0,005$) y el exudado ($p < 0,0001$). Se advierten niveles más elevados de PDGFBB en todos los productos plaquetarios luego de la administración de AAS que en los del Clopidogrel.

La tabla 4 muestra la correlación entre el recuento plaquetario de sangre periférica y PRP con respecto a los niveles de PDGFBB antes del tratamiento de los sujetos sanos analizados en este estudio. No se encontró correlación entre el número de plaquetas tanto en sangre periférica como en el PRP con los valores promedio de PDGFBB basales ($r = 0,07$ y $r = 0,008$ respectivamente).

Tabla 2. Concentración de PDGF en el PRP y sus subproductos en sujetos sanos, antes y después del tratamiento con AAS y Clopidogrel (C)

Muestra	PDGFBB (ng/ml) Promedio \pm Desviación Estándar (rango)	p
PPP Basal n= 32	$10,68 \pm 1,9$ (8,54-15,25)	
PPP con AAS n=16	$8,96 \pm 1,4^a$ (7,6-11,13)	<0,001
PPP con C n=16	$8,53 \pm 0,59^d$ (7,56-9,22)	< 0,0001
PRP Basal n= 32	$12,12 \pm 2,51$ (9,16-16,86)	
PRP con AAS n=16	$11,36 \pm 2,48^b$ (9,0-17,68)	NS
PRP con C n=16	$9,65 \pm 1,17^e$ (8,01-11,56)	< 0,0005
Ex Basal n= 32	$10,84 \pm 1,68$ (9,2-13,69)	
Ex con AAS n=16	$11,11 \pm 1,14^c$ (9,0-13,13)	NS
Ex con C n=16	$8,51 \pm 0,75^f$ (6,71-9,74)	< 0,0001

NS: No significativo; n: numero de sujetos estudiados; AAS: acido acetil salicilico; a: PPP basal vs PPP con AAS; b: PRP basal vs PRP con AAS; c: EX basal vs EX con AAS; d: PPP basal vs PPP con C; e: PRP basal vs PRP con C; f: EX basal vs EX con C.

Así mismo, se muestran las cifras de plaquetas en el PRP obtenido 24 horas después del tratamiento, encontrándose diferencias estadísticamente significativas para el grupo del Clopidogrel (C) frente al PRP basal ($566,86 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ AAS y $435,22 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ C), también se observa un aumento del conteo plaquetario en el grupo del AAS que resultó no significativo. Ahora cuando se comparó las cifras de plaquetas en el PRP del grupo del AAS ($566,86 \cdot 10^3 \times$

Tabla 3. Concentración de PDGFBB en el PRP y sus subproductos en sujetos sanos después del tratamiento con AAS y clopidogrel (C)

Muestra	PDGFBB (ng/ml) Promedio ± Desviación Estándar (rango)	p
PPP con AAS n=16	8,96± 1,4 ^a (7,6-11,13)	NS
PPP con C n=16	8,53 ± 0,59 (7,56-9,22)	
PRP con AAS n=16	11,36± 2,48 ^b (9,0-17,68)	< 0,005
PRP con C n=16	9,65 ± 1,17 (8,01-11,56)	
Ex con AAS n=16	11,11± 1,14 ^c (9,0-13,13)	< 0,0001
Ex con C n=16	8,51 ± 0,75 (6,71-9,74)	

n: Numero de sujetos estudiados; NS: no significativo;
a: PPP con AAS vs PPP con C; b: PRP con aas vs PRP con C, c: EX con AAS vs EX con C

Tabla 4. Correlación del recuento plaquetario en sangre periférica y PRP de los sujetos sanos estudiados con los niveles de PDGFBB antes del tratamiento

Plaquetas (10 ³ x mm ³)	Niveles promedio ± Desviación Estándar de PDGFBB (Basal)	Correlación (r)
272,28±69,66 Sangre Periférica n=32	12,12 ± 2,51	^a 0,07 (NS)
505,40 ± 140,83 PRP (Basal) n=32	12,12 ± 2,51	^b 0,008 (NS)

n: Numero de sujetos estudiados; NS: no significativo;
a: Plaquetas sangre periferica antes vs niveles de PDGF en PRP antes; b: plaquetas en PRP antes vs niveles de PDGF en PRP antes.

Discusión

El PRP contiene factores de crecimiento como el PDGFBB, EGF, VEGF, IGF-1, TGF-β1, entre otros, la mayor parte de ellos como resultado de la secreción de los gránulos α de las plaquetas durante su activación. El PDGFBB es uno de los mitógenos más potentes con acción efectiva sobre el tejido conectivo. Su secreción durante la agregación plaquetaria y la coagulación, puede llegar a estimular la quimiotaxis y la multiplicación celular, de allí su rol protagónico en la regeneración tisular (29).

En el presente estudio, en lo que a las cifras de recuento plaquetario en sangre periférica antes del tratamiento antiagregante plaquetario se refiere, se observa que se encuentran dentro del rango referencial (tabla 1) (26). Se nota que estos valores son similares a los obtenidos por otros autores, entre los cuales es importante mencionar, el estudio de Weibrich y col (2002), en el que se determinó los niveles de FC en el PRP obtenido mediante dos métodos comerciales y en el cual los valores promedio de recuento plaquetario en sangre periférica fueron de $260 \pm 57,5 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (30-36).

Así mismo, en lo que respecta a los valores promedio del conteo plaquetario en el PRP antes del tratamiento, estos se situaron en $505,40 \pm 140,83 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (C); encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) cuando se comparó con las cifras de sangre periférica, con respecto a la cual hubo un incremento en las cifras plaquetarias de 1,2 a 2,72 veces, dicho incremento se encuentra dentro de las cifras esperadas para el protocolo de una centrifugación de Anitua (18, 37) y de acuerdo con la definición de PRP enunciada en la literatura (5). Estos valores resultaron comparables con las cifras plaquetarias obtenidas por diversos autores empleando diferentes métodos de obtención del PRP; entre los cuales se encuentra el trabajo realizado por Castillo T y col (2011), quienes llevaron a cabo un estudio comparativo de los niveles de FC en PRP obtenido por diversos sistemas comerciales de separación, obteniendo conteos plaquetarios promedio con dos de estos sistemas de $566,2 \pm 292,6 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (método GPS) y $443,8 \pm 24,7 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ (método Magellan).(32, 33, 38).

En lo referente a las cifras de plaquetas obtenidas en el PRP luego de 24 horas del tratamiento con Clopidogrel, se encontró una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$), si se compara con los valores promedio antes del tratamiento. Este

comportamiento no se observó para la AAS, esto permitiría inferir que algunos fármacos antiagregantes como el AAS en dosis única (por una vez), no parecen afectar sensiblemente el número de plaquetas de los sujetos estudiados, lo cual es explicable, ya que se conoce que el recambio plaquetario en condiciones normales después de la administración de esta droga, es de aproximadamente 7 días (39).

Así mismo, cuando se contrastaron las cifras plaquetarias del PRP en el grupo del AAS vs C, se observa que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), con un aumento del conteo plaquetario en el grupo del AAS frente a una disminución para el grupo del Clopidogrel, tratados en dosis únicas para ambos medicamentos. Estos resultados permiten inferir que el C pareció afectar sensiblemente el recuento plaquetario, lo cual merece estudios posteriores con un mayor número de muestras. Estos hallazgos discrepan de los obtenidos por Hayasaka M y col en 2013, quienes realizaron un estudio comparativo de la afectación de los parámetros hematológicos en dos grupos de pacientes tratados por dos meses con aspirina + clopidogrel y aspirina solamente. Estos investigadores no hallaron diferencias significativas en lo que al conteo plaquetario (basal y post tratamiento) se refiere, pero sí para la cuenta roja, blanca hemoglobina y hematocrito (40).

Cuando se compararon las concentraciones de PDGFBB determinadas en el PRP y sus subproductos, antes y después del tratamiento con AAS/Clopidogrel (tabla 2), en lo que respecta al grupo del AAS, se halló diferencias significativas para el PPP ($p < 0,001$), no así para el PRP y exudado, prevaleciendo una sensible disminución de los niveles del FC en 2 de los 3 productos (PPP y PRP) derivados de las plaquetas analizados luego del tratamiento.

Los valores promedio de PDGFBB basales fueron más elevados en el subproducto PRP y no en el exudado como se esperaría, estos resultados se apoyan en aquellos obtenidos por Passaretti F y col en 2013, quienes compararon el aporte de FCs por parte del PRP y el PRF (Plaquetas ricas en Fibrina), encontrándose en el PRF (que es el equivalente al exudado de esta investigación), niveles de PDGF dos veces menor que en el PRP (41), posiblemente esto sucede porque el PRP es el producto derivado de las plaquetas donde existe la mayor concentración de estas células, y que a pesar que no se activo con Calcio su sometimiento a congelación profunda hizo que las plaquetas sufrieran activación, y la descongelación posterior (42) para analizar el FC provocó además la lisis completa de las mismas presentes en el PRP con la

consecuente secreción total de los FCs entre ellos el PDGF. A diferencia del exudado que es un suero que aporta el gel que se generó por la activación del PRP con Calcio; durante la formación del gel tanto plaquetas como una concentración indeterminada de FCs quedan atrapados, permaneciendo por tanto en el suero un remanente de los mismos al igual que un número muy limitado o escaso de plaquetas. Es importante resaltar, que estos datos se observan cercanos y son resultado de un trabajo experimental, sin embargo, no dejan de ser notables y se convierten en punto de partida para nuevos estudios con una data más numerosa.

Ahora en lo que respecta a los niveles de PDGF en el PPP antes del tratamiento, estos son elevados al compararlos con los reportados en la literatura; sin embargo, en este trabajo se siguió estrictamente el protocolo de Anitua de una sola centrifugación que contempla que los primeros 0,5 cc de la fase plasmática más superficial obtenida luego del procedimiento se considera PPP, y esta fue la analizada a pesar de que se corroboró que su recuento plaquetario promedio era de $375,14 \pm 112,6 \cdot 10^3 \times \text{mm}^3$ y por tanto no era tan pobre como se presume en la técnica original; por lo cual se desestimó que se haya provocado la activación plaquetaria durante la obtención del mismo y que esta sea responsable de los niveles elevados del FC.

Los niveles de PDGFBB obtenidos para el PRP, PPP y exudado basales, se compararon con aquellos hallados en otros estudios, y guardando las diferencias en lo que al método de obtención del PRP y marco metodológico de los trabajos reportados se refiere, se puede concluir que existen similitudes y aproximación entre los resultados aquí obtenidos y los reportados en otros estudios, como el de Weibrich y col. en el 2002. Estos autores determinaron los niveles de PDGFBB y otros FCs en PRP de donantes de sangre, obteniendo valores promedio de $10 \pm 8 \text{ ng/ml}$ para dicho factor (30-32, 34, 35, 38, 43, 44)

Lo anteriormente descrito sugiere que a pesar de que se aplicó la misma técnica para determinar el FC (ELISA), la falta de estandarización de los diferentes kits comerciales disponibles hace difícil la homologación de los resultados aun cuando se base en el mismo principio (45).

Los niveles promedio de PDGFBB en el PRP y sus subproductos antes y después de la administración de Clopidogrel (Tabla 2), arrojaron diferencias estadísticamente significativas para el PRP ($p < 0,0005$), PPP y Exudado ($p < 0,0001$); observándose valores más bajos que los hallados en estos especímenes luego de la administración de AAS. Estos resultados podrían

estar revelando un mayor nivel de afectación de la capacidad de producción de PDGF por parte de los subproductos plaquetarios de los sujetos tratados con Clopidogrel. Se mantuvo la constante de que las mayores concentraciones de PDGFBB se presentaron en el PRP tanto antes como después del tratamiento, además los niveles promedio de PDGFBB antes del tratamiento fueron similares a los reportados por otros investigadores cuyos valores oscilaron entre 2,3 y 37 ng/ml. Entre dichos estudios, vale la pena mencionar el realizado por Christgau M y col (2006), quienes evaluaron los niveles de FC y citocinas en concentrados plaquetarios de donantes de sangre estableciendo su correlación con la regeneración periodontal. En este estudio los niveles de PDGFBB se situaron en $15,8 \pm 7,9$ ng/ml, considerándose dichos niveles elevados (30, 31, 35, 43, 44).

Al comparar la concentración de PDGFBB en el PPP, PRP y exudado de los sujetos estudiados con tratamiento de AAS vs Clopidogrel (Tabla 3), se observa que para el PRP y exudado se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,005$ y $p < 0,0001$) y no para el PPP. Se nota que los niveles del FC son más elevados en los diferentes subproductos plaquetarios del grupo del AAS, en contraste con los del grupo de Clopidogrel. Lo que parece revelar un menor grado de afectación de los niveles de PDGFBB en las muestras de los sujetos tratados con AAS en comparación con el grupo del Clopidogrel. Se infiere que estas diferencias pueden deberse en parte al mecanismo de acción farmacológica específico que cada fármaco posee; siendo en el caso del AAS la inhibición selectiva e irreversible de la ciclooxigenasa (COX) mediante la acetilación de su centro activo, su efecto suele durar de 7 a 10 días.

En el PRP, el AAS puede bloquear completamente la agregación plaquetaria inducida por el Acido araquidónico (AA) y reducir en parte la activación plaquetaria inducida por colágeno, ADP, epinefrina y el Factor Activante plaquetario (PAF). Por otra parte, las tienopiridinas entre las cuales se encuentra el Clopidogrel, ejercen su función principal bloqueando el receptor de ADP conocido como P2Y, inhiben la secreción de los gránulos α que son ricos en FCs e interfieren con el receptor plaquetario del fibrinógeno: (gIIb-IIIa), impidiendo la vía de mayor amplificación de la agregación plaquetaria, lo cual pudo haber alterado la secreción de PDGF principalmente en el grupo de Clopidogrel (2, 39, 46, 47).

Es importante resaltar que en la literatura revisada, no se encontró trabajos científicos que hubiesen llevado a cabo las determinaciones de

PDGFBB posterior a los tratamientos aquí utilizados; por lo cual no se pudo establecer comparación alguna con otra experiencia similar. Esta observación hace inéditos los resultados obtenidos en la presente investigación.

No se encontró correlación entre el recuento plaquetario de sangre periférica y del PRP basal con respecto a los niveles promedio de PDGFBB antes del tratamiento (tabla 4). Estos resultados coinciden con los reportados por Weibrich y col., quienes afirman que este hecho es explicable por la alta variabilidad individual que existe en la producción celular y almacenamiento de los FCs en las plaquetas. El contenido de FCs en los individuos podría estar influenciado por otras células diferentes de las plaquetas como leucocitos, esto significa que cada individuo necesitaría diferentes concentraciones de plaquetas para lograr un efecto biológico comparable. De manera tal, que el conteo de plaquetas en sangre periférica o PRP no es un factor predictivo de los valores de FCs en el PRP (30, 34).

Otro reporte que coincide con los hallazgos que en este trabajo se describen, es el de Eppley B y col (2004) quienes realizaron la cuantificación de plaquetas y diversos FCs en el PRP de sujetos antes de cirugía plástica y que, al igual que el estudio que aquí se presenta, no encontró correlación alguna para ninguno de los FCs analizados (31).

Sin embargo, es importante acotar, que para analizar a profundidad una correlación más concluyente se necesitaría diseñar nuevos experimentos que permitiesen comparar el recuento plaquetario y los niveles de PDGF obtenidos a partir de diversos PRP provenientes de varios protocolos de centrifugación diferencial.

Finalmente se concluye que los cambios observados en el recuento plaquetario de los sujetos estudiados luego de la administración de los antiagregantes plaquetarios, y en particular en el grupo del Clopidogrel; no se situó por debajo de la media del rango referencial ($300 \times 10^3 \times \text{mm}^3$), lo cual permite inferir que esta variación no debería ser atribuible a la acción en dosis única del fármaco empleado, y si con mayor probabilidad se deba a variaciones fisiológicas de la población que se ubican dentro de los valores referenciales reportados para las plaquetas.

Por otro lado, con respecto a los niveles de PDGFBB obtenidos en los sujetos objeto de estudio, estos se hallaron en niveles considerablemente elevados antes del tratamiento y aunque experimentaron una disminución en algunos casos estadísticamente significativa luego de la

administración del antiagregante plaquetario y en particular luego del Clopidogrel, este descenso no fue pronunciado considerándose por tanto, que el empleo de una dosis única de estos fármacos no pareció afectar sensiblemente la secreción de este FC por parte de las plaquetas de los sujetos estudiados.

Es de hacer notar, que el empleo de otros protocolos de centrifugación diferencial que utilicen más de una centrifugación para obtener el PRP, pudieran contribuir a obtener PRP y subproductos del mismo más concentrados que a su vez podrían contener mayores niveles de los FCs.

Nuevos trabajos se necesitan para aclarar si un tratamiento prolongado con estos fármacos antiagregantes en una población más numerosa pudiese alterar marcadamente el recuento plaquetario y los niveles del FC en el PRP y sus subproductos, lo

cual podría afectar el empleo del PRP autólogo en tratamientos médicos diversos.

Agradecimiento

Esta investigación fue financiada por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES), a través del proyecto VAC-CONDES-CC-0019-12. Los autores agradecen la dotación de materiales reactivos y equipo necesario para la ejecución de este trabajo de investigación. Así mismo, se contó con la colaboración del Laboratorio de Hematología del Instituto de Investigaciones Clínicas Dr. Américo Negrette de la Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, en cuyos laboratorios se llevó a cabo el análisis de las muestras recolectadas.

Referencias

1. Freymiller EG. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62:1046. [\[PubMed\]](#)
2. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev* 2009; 23:177-89. [\[PubMed\]](#)
3. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med.* 2009; 37: 2259-72.. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
4. Anitua E, Sánchez M, Prado R, Orive G. Plasma rich in growth factors: The pioneering autologous technology for tissue regeneration. *J Biomed Mater Res A.* 2011; 15: 97:536. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
5. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 93-103. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
6. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification Growth Factors levels using a simplified method of Platelet Rich Plasma Gel Preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58: 297-300. [\[PubMed\]](#)[\[Google Scholar\]](#)
7. Fernández-Barbero JE, Galindo-Moreno P, Avila-Ortiz G, Caba O, Sánchez-Fernández E, Wang HL. Flow cytometric and morphological characterization of platelet rich plasma gel. *Clin Oral Implants Res.* 200;17: 687-93.. [\[PubMed\]](#)
8. Anitua E, Andía I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zalduendo M, de la Fuente M, Nurden P, Nurden AT. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005 ;23:281-6.. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
9. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials.* 2007; 28:4551-60. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
10. Im MJ, Kim YS, Edwards RJ, Hoopes JE, Fenselau A. The effect of bovine basic fibroblast growth factor on skin flap survival in rats. *Ann Plast Surg* 1992; 28: 242-5. [\[PubMed\]](#)
11. Whitman DH, Berry RL Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with application in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55: 1294-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
12. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan S, Dohan J, Mouhyi J. and Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: e45-50. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
13. Cannata JB, eds. Actualizaciones en metabolismo óseo. Madrid, España: Jarpvo Editores 1992.
14. Kawase T, Okuda K, Saito Y, Yoshie H. In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming factor-beta or platelet-derived growth factor. *Periodontol* 2005; 76: 760-7. [\[PubMed\]](#)
15. Antoniades HN. Human platelet-derived growth factor (PDGF): purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981; 78: 7314-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
16. González LJ. Plasma Rico en plaquetas. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac* 2006; 28: 89-99. [\[Google Scholar\]](#)
17. Beca T, Hernández G, Morante S, Bascones A. Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. *Av Periodon Implantol* 2007; 19: 39-52. [\[Google Scholar\]](#)
18. Anitua E. La utilización de los factores de crecimiento plasmáticos en cirugía oral, maxilofacial y periodoncia (PRGF). *RCOE* 2001; 6: 305-15. [\[Google Scholar\]](#)
19. Ackerman R H, Newman K L. Incomplete end-point effects in patients on aspirin compounds. *Ann Neurol* 1990; 28: 224.
20. Roth GJ, Stanford N, Majerus PW. Acetilation of prostaglandin synthetase by aspirin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3073-6. [\[PubMed\]](#) [\[Googla Scholar\]](#)
21. Defreyn G, Bernat A, Delebasse D, Maffrand JP. Pharmacology of ticlopidine: a review. *Semin Thromb Hemost* 1989; 15: 159-66. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
22. Féliste R, Delebassée D, Simon MF, Chap H, Defreyn G, Vallée E, Douste-Blazy L, Maffrand JP. Broad spectrum anti-platelet activity of ticlopidine and PCR 4099 involves the suppression of

- the effects of released ADP. *Thromb Res* 1987; 48: 403-15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Tamayo y Tamayo M. El proceso de la Investigación científica: incluye evaluación y administración de proyectos de investigación. Limusa Noriega Editores, Tercera Edición México, 2005. [[Google Scholar](#)]
 24. Born GV, Cross MJ. The aggregation of the blood platelets. *J Physiol* 1963; 168: 178-95. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 25. Engvall E, Perlman P. Immunosorbent Assay. *Immunochem* 1971; 8: 871-4. [[PubMed](#)]
 26. Beutler E, Lichtman M. Williams hematology. 5th ed. New York USA: McGraw-Hill, 1995.
 27. Daniel WW. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa. México, DF, 1991.
 28. Instituto Venezolano de Investigaciones Clínicas, IVIC. Consentimiento informado. Disponible en: www.ivic.gob.ve/bioetica Actualizado hasta 25 de Mayo 2012. Consultado el 26 Junio 2012.
 29. Ledent E, Wasteson A, Berlin G. Growth factor release during preparation and storage of platelet concentrates. *Vox Sang* 1995; 68:205-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 30. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factors levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex and platelet count. *J Cr Maxill F Surg* 2002; 30:97-102. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 31. Eppley BL, Woodwell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114:1502-8. [[PubMed](#)]
 32. Castillo TN, Pouliot MA, Kim HJ, Dragoo JL. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med* 2011; 39: 266-71. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 33. Okuda K, Kawase T, Momose M, Murata M, Saito Suzuki H, Wolff LF, Yoshie H. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor- β and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol* 2003; 74:849-57. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 34. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: Curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 184-90. [[PubMed](#)]
 35. Christgau M, Moder D, Hiller KA, Dada A, Schmitz G. Growth factors and cytokines in autologous platelet concentrate and their correlation to periodontal regeneration outcomes. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 837-45. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 36. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Wagner W. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Implants Res*. 2003; 14: 357-62. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 37. Lorente Pérez-Sierra A, Rodríguez Escudero F. ¿Conseguimos plasma concentrado rico en plaquetas de forma ambulatoria? *Cient Dent* 2005; 2: 73-8. [[Google Scholar](#)]
 38. Leitner GC, Gruber R, Neumüller J, Wagner A, Kloimstein P, Höcker P, Körmöczy GF, Buchta C. Platelet content and growth factors release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox Sang* 2006; 91:135-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 39. Molina V, Arruzazabala L, Carbajal D, Más R. Farmacología de los agentes antiagregantes plaquetarios. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 2005; 36: 3-12.
 40. Hayasaka M, Takahashi Y, Nishida Y, Yoshida Y, Hidaka S, Asai S. Comparative effect of clopidogrel plus aspirin and aspirin monotherapy on hematological parameters using propensity score matching. *Vasc Health Risk Manag* 2013; 9: 65-70. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 41. Passaretti F, Tia M, D'Esposito V, Pascale MD, Corso MD, Sepulveres R, Liguoro D, Valentino R, Beguinot F, Formisano P, Sammartino G. Growth-promoting action and growth factor release by different platelet derivatives. *Platelets*. 2013, 15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 42. Mateo de Acosta Andino DA, Porres Aguilar M, Vázquez Saldaña DG, Makipour Jr. J, Bedolla E. Actualización bibliográfica sobre el uso de preparaciones ricas en plaquetas en la cicatrización de heridas. *Cir. Plást. Ibero-latinoam*. 2010; 36:231-8. [[Google Scholar](#)]
 43. Schmidmaier G, Herrmann S, Green J, Weber T, Scharfenberger A, Haas NP, Wildemann B. Quantitative assessment of growth factors in reaming aspirate, celiac crest and platelet preparation *Bone* 2006; 39:1156-63. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 44. Zimmermann R, Jakubietz R, Jakubietz M, Strasser E, Schlegel A, Wiltfang J, Eckstein R. Different preparation methods to obtain platelet components as a source growth factors for local application. *Transfusion* 2001; 41: 1217-4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 45. Fahey JL, Aziz N, Spritzler J, Plaeger S, Nishanian P, Lathery JL, Seigel J, Landay AL, Kilarui R, Schmitz JL, White C, Wara DW, Akridge R, Cutilli J, Douglas SD, Reuben J, Shearer WT, Nokta M, Polland R, Schooley R, Asthana D, Mizrachi Y, Waxdal M. Need for an external proficiency testing program for cytokines, chemokines, and plasma markers of immune activation. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 540-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
 46. Altman R. ¿Tiene implicancias clínicas la resistencia a la aspirina y/o clopidogrel? *Rev Fed Arg Cardiol* 2010; 39:1-6. [[Google Scholar](#)]
 47. Schrör K. The basic pharmacology of ticlopidine and clopidogrel. *Platelets* 1993; 4:252-61 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar éste artículo:
 González M, Arteaga-Vizcaíno M, Ruiz A, Briceño O, Quintero M, Atencio R, Benito M, Benito M Flores R. Niveles del factor de crecimiento derivado de plaquetas en el plasma rico en plaquetas antes y despues de antiagregantes plaquetarios *Avan Biomed* 2013; 2: 127-36.



**Plataformas de expresión en plantas de péptidos humanos terapéuticos:
expresión transitoria y estable.
(In plant expression platforms of therapeutic human peptides:
transient and stable expression)**

Arnaldo Noguera¹✉, Gustavo Fermín¹.

¹ Laboratorio de Biodiversidad y Variabilidad Molecular, Instituto Jardín Botánico de Mérida, Facultad de Ciencias.
Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela.

[REVISIÓN]

Recibido: 16 de Mayo de 2013. Aceptado: 20 de Julio de 2013.

Resumen

Las plantas representan un sistema de expresión alternativo para la producción de proteínas heterólogas complejas tales como vacunas, antígenos, anticuerpos, eritropoyetina e insulina humana. Este sistema posee diversas ventajas sobre los sistemas de expresión tradicional basados en el cultivo de células de bacterias, levaduras, insectos y mamíferos, como su bajo costo de producción, menor tiempo para alcanzar la producción a gran escala, expresión, modificación y ensamblaje apropiado de la proteína recombinante y ausencia de riesgo de contaminación con patógenos humanos. En la última década la ingeniería genética de plantas ha utilizado ampliamente los sistemas de expresión estable basados en la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* y la expresión transitoria basada en los vectores virales de plantas para la obtención de compuestos beneficiosos para la salud y el bienestar del hombre. La introducción de estos elementos virales en los sistemas de producción de proteínas recombinantes ha simplificado la manipulación y el proceso de infección de las plantas con el gen quimérico. Aunado a esto, el entendimiento de la inmunogenicidad que poseen los glicanos de origen vegetal sobre la actividad de los péptidos heterólogos, ha permitido dilucidar cuales son las vías moleculares más convenientes para expresar, ensamblar, compartamentalizar e incrementar la acumulación de las proteínas de interés. Con la presente revisión se busca proporcionar al lector una información detallada acerca de las estrategias de expresión heterólogas que utilizan sistemas vegetales, los principales agentes terapéuticos desarrollados basados en estos sistemas y la importancia biológica de las modificaciones post-traduccionales de los péptidos recombinantes.

Palabras clave

Expresión transitoria y estable, proteínas recombinantes, modificaciones post-traduccionales, vectores virales.

Abstract

Plants represent an alternative expression system for the production of complex heterologous proteins such as vaccines, antigens, antibodies, erithropoietin and human insulin. These living systems offer many advantages over other traditional expression systems based on the cultivation of cells of bacterial, yeast, insect or mammal origin: low production costs, a reduced time to reach big scale production, as well as proper expression, modification and folding of the recombinant protein, along with a complete lack of contamination risks with human pathogens. In the last decade, genetic engineering of plants has made a wide use of the stable expression systems based on the phytopathogenic bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, besides the transient expression based on plant virus vectors aimed at producing beneficial compounds for the health and well being of humans. Use of these viral elements in the production systems of recombinant proteins has simplified both the manipulation and infection processes of plants with the chimeric gene. Furthermore, the analysis of immunogenicity displayed by plant glicans when present in heterologous peptides has allowed understanding which molecular pathways are more convenient to express, fold, compartmentalize and increase the accumulation of the protein of interest. With this short review we intend to provide the readers detailed information about the strategies of heterologous expression that make use of plant systems, the main therapeutic agents developed based on these systems and the biological importance of the post-translational modifications of the recombinant peptides.

Keywords

Transient and stable expression, recombinant proteins, post-translational modifications, viral vectors.

Sistemas de expresión de proteínas heterólogas

Progresos recientes en ingeniería genética y expresión de proteínas heterólogas han acelerado el desarrollo de compuestos biológicos importantes con aplicaciones médicas. Biofármacos tales como anticuerpos, sustitutos de productos sanguíneos, vacunas, hormonas, citokinas y una gran variedad de otros agentes terapéuticos, se han expresado a través de múltiples sistemas biológicos ideados para producir proteínas recombinantes biológicamente activas. Estos sistemas abarcan desde la expresión utilizando la bacteria *E. coli* para proteínas estructuralmente simples, hasta la producción de péptidos que presentan diversos niveles de complejidad estructural y funcional, los cuales se expresan en hospederos eucarióticos como células de levaduras, insectos, plantas y mamíferos. Los sistemas convencionales de expresión de proteínas basados en el cultivo de células bacterianas, insectos, levaduras y mamíferos presentan diversas desventajas en términos de costo, rendimiento, seguridad del producto y autenticidad estructural (Tabla 1).

Dentro de las desventajas más relevantes de estos sistemas se encuentran, ausencia de la maquinaria involucrada con la modificación post-traduccional en bacterias, por lo que su utilidad en la producción de proteínas multiméricas es limitada (1), los sistemas de expresión empleando células de levaduras con frecuencia generan proteínas hiperglicosiladas que pueden ver afectado su funcionamiento, el cultivo de células de insectos y mamíferos o el uso de animales transgénicos demandan complejas plataformas de expresión que requieren procedimientos costosos y con alto nivel de bioseguridad (2), aunado a la susceptibilidad de generar proteínas contaminadas con toxinas, priones o virus (3). No obstante, en los últimos diez años la agricultura molecular basada en plantas superiores ha surgido como una plataforma promisoriosa para producir a gran escala y eficientemente proteínas recombinantes farmacológicamente útiles (4). En este sentido, la posibilidad de producir biofármacos utilizando plantas ofrece soluciones para algunos de los problemas relacionados con los sistemas convencionales; por ejemplo, ausencia de riesgo de contaminación con patógenos animales, bajo costo (especialmente para la producción a gran escala), alto rendimiento de la proteína foránea (5), anticuerpos ensamblados apropiadamente o con un plegamiento proteico equivalente al encontrado en otros sistemas

eucarióticos, posibilidad de expresar anticuerpos humanizados (6), expresión de vacunas múltiples en un mismo órgano vegetal comestible (7), facilidad de manejo de plantas en invernadero, rápida distribución de plantas a escala mundial y posibilidad de producir vacunas comestibles para la vacunación masiva (8-10).

Con este propósito se desarrollaron inicialmente plantas transgénicas para expresar proteínas foráneas a través de la integración estable de genes heterólogos dentro del genoma nuclear o del genoma plastidial (3). No obstante, surgieron múltiples inconvenientes asociados a este sistema de expresión; entre ellos, bajo rendimiento de proteínas (11), costo de producción elevado en comparación con otros sistemas de expresión vegetal, expresión limitada a una especie de planta transgénica individual, máximo rendimiento obtenido luego de 1 a 3 años desde que se inicia la clonación del gen foráneo (12) y poca aceptación de los transgénicos por parte de algunos sectores de la comunidad mundial. Posteriormente se desarrolló un sistema que ha permitido producir una diversidad de compuestos con acción nutritiva y terapéutica, comúnmente llamados nutraceuticos, empleando los virus de plantas como vectores de expresión transitoria (13-19). Esta última estrategia basada en vectores virales ofrece como ventajas, alto rendimiento de proteínas libres o no fusionadas al virión quimérico, integración estable de la secuencia foránea dentro del genoma del virus pero no dentro del genoma vegetal (por lo que no es heredado), amplificación del gen foráneo por la replicasa viral, capacidad de replicación de los virus en un amplio rango de especies vegetales, máximo rendimiento alcanzado entre 1 y 3 meses una vez que la planta es inoculada con el virus quimérico, bajo costo de producción y gran aceptación como método de expresión transitoria sobre cualquier otro sistema que emplea plantas en un medio confinado (17).

Expresión de anticuerpos en plantas transgénicas

La expresión estable de proteínas recombinantes en muchos grupos de plantas, especialmente en dicotiledóneas como el tabaco, ha sido posible utilizando la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* o el bombardeo de partículas como métodos de modificación genética. Desde que se reportó por primera vez la expresión de anticuerpos procedentes de plantas (plantibodies) utilizando estas estrategias (20), diferentes

Tabla 1. Comparación de varios sistemas de expresión de proteínas farmacéuticas recombinantes.

Características	SISTEMA						
	Bacteria	Levadura	Cultivo de células de mamífero	Animales transgénicos	Cultivo de células de planta	Plantas transgénicas	Vectores de virus de plantas
Costo general de producción	Bajo-medio	Medio	Alto	Alto	Medio	Bajo	Bajo
Costo de almacenamiento	Moderado (20°C)	Moderado (20°C)	Costoso	Costoso	Moderado (18–25°C)	Moderado (25°C)	Moderado (–20 °C)
Capacidad de ampliación	Alta	Alta	Muy baja	Baja	Medio	Alta	Muy alta
Costo de ampliación	Alto ¹	Alto ¹	Alto ¹	Alto	Alto	Alto	Bajo
Escala de producción	Limitado	Limitado	Limitado	Limitado	Limitado	Mundial	Mundial
Tiempo para producción a gran escala	Bajo	Medio	Alto	Muy alto	Medio	Alto	Bajo
Distribución	Difícil	Difícil	Muy difícil	Difícil	Difícil	Fácil	Fácil
Propagación del sistema	Fácil	Fácil	Difícil	Factible	Fácil	Fácil	Fácil
Tamaño del gen	Desconocido	Desconocido	Limitado	Limitado	No limitado	No limitado	Limitado ²
Rendimiento del producto	Medio	Alto	Medio–alto	Alto	Alto	Alto	Muy alto
Calidad del producto	Bajo	Medio	Alto–muy alto	Alto–muy alto	Alto	Alto	Alto
Homogeneidad de la proteína	Bajo	Medio	Medio	Alto	Alto	Alto	Alto
Glicosilación	Ausente	Incorrecta	Correcta (diferencias menores)	Correcta (diferencias menores)	Correcta (diferencia de los glicanos añadidos)	Correcta (diferencia de los glicanos añadidos)	Correcta (diferencia de los glicanos añadidos)
Plegamiento proteico	Bajo	Medio	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto
Ensamblaje de proteínas triméricas	No	No	No	Sí	No	Sí	Sí
Seguridad	Baja	Alta	Baja Virus, priones y ADN oncogénico	Baja Virus, priones y ADN oncogénico	Alta	Alta	Alta
Riesgo terapéutico	Endotoxinas	Desconocido			Desconocido	Desconocido	Desconocido
Percepción pública del riesgo	Bajo	Medio	Medio	Alto	Alto	Alto	Alto

¹Fermentadores grandes y costosos. ²A medida que aumenta el tamaño del inserto es más probable que ocurra su delección (Referencia 88).
 Compilado de las referencias 3, 6 y 31.

anticuerpos y sus derivados se han producido en estos sistemas vegetales (Tabla 2). Este hallazgo demostró que las plantas pueden ensamblar glicoproteínas compuestas por diversas sub–unidades proteicas con una gran autenticidad funcional y estructural (3). Es por ello que el desarrollo de anticuerpos monoclonales empleando estos métodos ha resultado atractivo para muchas empresas farmacéuticas interesadas en encontrar alternativas de producción a gran escala que sean económicamente viables y operacionalmente seguras (21-25). En este sentido, diferentes tipos de inmunoglobulinas se han producido exitosamente en

plantas, incluyendo algunas subclases de IgG dirigidas contra la creatinkinasa humana, el éster fosfonato, el antígeno II de *Streptococcus mutans* o las glicoproteínas de la envoltura del virus del herpes simplex–2. Asimismo se han expresado fragmentos variables (scFv) de un idiotipo de IgG específico contra epítopes derivados de linfomas de células B murinas (26, 27), anticuerpos idiotípicos de la clase IgM con alta actividad anti–NP [(4–hidroxi–3–nitro–fenil) acetyl] con su hapteno correspondiente (28), inmunoglobulinas secretoras híbridas IgA/G específicas para la proteína de adhesión principal de *S. mutans*

(29) y un anticuerpo monoclonal neutralizante denominado 2F5, el cual se une al epítipo lineal altamente conservado ELDKWS sobre el extremo C-terminal de la gp41 del VIH-1 (30). Otro gran número de anticuerpos (31) cuyo uso ha sido propuesto no sólo en el diagnóstico y prevención, sino también en el tratamiento de enfermedades de diversas etiologías se han desarrollado empleando la transformación genética de plantas.

Aun cuando muchos anticuerpos y sus derivados se han producido en sistemas vegetales, sólo siete inmunoglobulinas farmacéuticas recombinantes derivadas de plantas han alcanzado un estatus comercial. Entre ellas, la IgA/G secretora *CaroRx*TM que es producida en plantas de tabaco transgénico mostró eficacia en el control del patógeno bucal *S. mutans*; por otro lado el anticuerpo monoclonal T84.66 y su derivado de simple cadena T84.66scFv que reconocen el antígeno carcinoembrionario (CEA), resultaron de gran utilidad en el inmunodiagnóstico *in vitro* y detección *in vivo* mediante imagenología de cánceres epiteliales (carcinoma) en humanos (32). Un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 que reconoce la glicoproteína B del virus del herpes humano 2 (HHV-2), una de las proteínas principales involucradas en la adherencia y fusión de la envoltura viral y la membrana plasmática (33, 34), fue expresada en soya transgénica. Los anticuerpos lograron prevenir la transmisión vaginal de HHV-2 en modelos murinos después de aplicación tópica (35). El anticuerpo monoclonal PIPP que reconoce la gonadotropina coriónica humana (hCG) fue producido en sus formas completa, scFv y diabody en plantas de tabaco transgénicas (36). Cada una de las formas del anticuerpo fue capaz de inhibir la producción de testosterona estimulada por hCG en cultivos celulares *in vitro*, además de bloquear el incremento de peso uterino inducido por hCG en ratas jóvenes. La IgG *Avicidin*TM que reconoce antígenos anti-EpCAM, mostró excelente actividad contra el cáncer colorectal. No obstante, esta molécula producida en maíz y primera inmunoglobulina derivada de plantas que se ha administrado a humanos, fue retirada del mercado por los fabricantes (NeoRx-Monsanto) a causa de la diarrea y a otros efectos secundarios que indujo en pacientes durante un ensayo de Fase II. Los fabricantes atribuyeron el efecto observado a la reacción cruzada entre epítopos relacionados en el epitelio intestinal.

Avances más recientes de esta tecnología incluyen la producción de anticuerpos humanizados

mediante la co-expresión en plantas transgénicas de las enzimas $\beta(1,4)$ -galactosiltransferasa y sialiltransferasa (6), incorporación del hexapéptido "SE(H/K)DEL" en el extremo C-terminal de la proteína heteróloga para su retención en el lumen del retículo endoplasmático (RE) y así evitar modificaciones post-traduccionales propias de células vegetales (4), eliminación de sitios específicos de *N*-glicosilación sobre la secuencia (NXS/T) de los anticuerpos, siempre que su actividad no se vea afectada (37, 38), además se puede implementar la inhibición de la expresión de las glicosiltransferasas involucradas en la $\beta(1,2)$ -xilosisilación y $\alpha(1,3)$ -fucosilación en plantas (39) y la producción de anticuerpos asociados con proteínas de almacenamiento para mejorar su estabilidad y acumulación como cuerpos proteicos u oleosos en compartimientos sub-celulares adecuados (40, 41).

Formas de anticuerpos recombinantes expresados en plantas

Las plantas se han utilizado para expresar muchas formas diferentes de anticuerpos, desde completamente murinos a enteramente humanizados, anticuerpos compuestos sólo por el dominio variable o aquellas formas en las que se combinan en diferentes proporciones regiones de los dominios variables o constantes de las inmunoglobulinas. La elección de la secuencia y la estructura a expresar depende básicamente de las aplicaciones terapéuticas o de inmunodiagnóstico que se esté proponiendo para la molécula. Por ejemplo, cuando la aplicación del anticuerpo requiere de una interacción ligando receptor lo más específica posible, como ocurre cuando se desean neutralizar toxinas o virus, los derivados de anticuerpos más recomendables son aquellos que carecen del dominio Fc. Por el contrario, si se desea identificar antígenos de patógenos, inhibir infecciones o inducir una respuesta inmune efectora con un mecanismo terapéutico que implique el reclutamiento de células asesinas naturales (NK) y macrófagos, se recomienda entonces expresar anticuerpos completos que induzcan un mecanismo de respuesta inmune dependiente de Fc como la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Esta última forma de anticuerpo presenta una estructura típica constituida por dos polipéptidos distintos, dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas, por lo que se pueden concebir dos estrategias de inserción diferentes para su expresión y ensamblaje. En la primera estrategia se realiza la inserción de un constructo de ADN individual

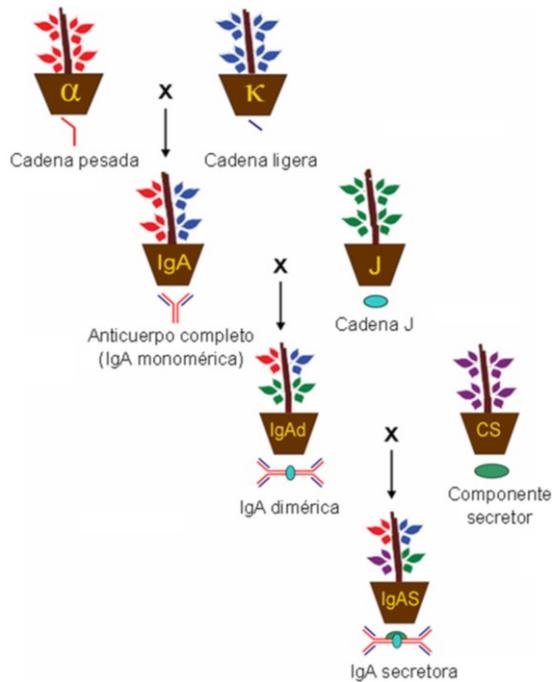


Figura 1. Representación esquemática de los cruzamientos sucesivos necesarios para producir una IgA secretora a partir de cuatro parentales transgénicos. Nótese que cada parental expresa de manera individual la secuencia codificante de las cadenas pesadas (α), ligeras (κ), la proteína de unión (cadena J) o el componente secretor (CS) y posteriormente, a través de polinización cruzada, los polipéptidos se van agrupando en parentales transgénicos híbridos (Adaptado de la referencia 42).

(usualmente un ADN-T) portando las secuencias codificantes tanto de la cadena pesada como la ligera, o bien se pueden ejecutar dos eventos de inserción independientes. Para esta última estrategia se han desarrollado dos métodos: 1) se desarrollan plantas independientes de una misma línea, cada una conteniendo un transgén (constructo para la cadena pesada o para la cadena ligera) y posteriormente se agrupan en un único parental transgénico híbrido obtenido por polinización cruzada (Figura 1), ó 2) se realiza la transformación simultánea de una misma planta con ambos constructos de ADN, pero en plásmidos diferentes (39, 42, 43).

Una variación de esta estrategia la representa la producción de los anticuerpos de cadena pesada denominados camélidos, en los cuales el componente de cadena ligera está ausente (44), por lo

que pueden ser expresados como un transgén individual. Otras formas de anticuerpos recombinantes obtenidos a partir de la inserción de secuencias parciales de las cadenas pesadas y ligeras, incluyen: fragmentos Fab, fragmentos variables de simple cadena (por su acrónimo en inglés scFv), scFv biespecíficos, minibodies, diabodies, cadenas pesadas individuales y formas más complejas de anticuerpos fusionados con proteínas, como ocurre con la IgA secretora (Figura 2), que requiere no sólo de las secuencias que codifican las cadenas pesadas y ligeras, sino también de las secuencias codificantes de la proteína de unión (cadena J) y del componente secretor (CS).

Expresión de vacunas en plantas transgénicas

La biotecnología de plantas no solamente ha permitido la producción a gran escala y económicamente factible de anticuerpos; también ha funcionado como una plataforma de fabricación de drogas importantes, vacunas y otros compuestos biofarmacéuticos de origen bacteriano, fúngico o viral, especialmente diseñados para combatir un gran número de enfermedades infecciosas en humanos y animales (Tabla 2). La variedad de agentes terapéuticos derivados de plantas también incluye productos sanguíneos como albúmina sérica humana, para la cual hay una demanda anual de 500 toneladas (3), citocinas, hormona de crecimiento humano (somatotropina), enzimas (glucocerebrosidasa y fosfatasa alcalina), aprotinina humana, α -1-antitripsina, eritropoyetina, hemoglobina humana, interleukinas (IL), interferones (IFN) (31, 45) y proteínas constituyentes del sistema del complemento (46). Recientemente, esta plataforma de expresión vegetal se ha explorado para desarrollar vacunas contra algunos antígenos de parásitos humanos como *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium vivax* y *P. falciparum* (47, 48). Por ejemplo, el antígeno-1 de membrana apical (PfAMA1) y el péptido de superficie del merozoíto (PvMSP1) de *Plasmodium* fueron expresados en plantas transgénicas de *Brassica napus* y analizados como vacunas contra la fase asexual sanguínea de este parásito (49, 50). Los resultados demostraron una inducción de IgG1 específica de antígeno e incremento de la producción de las citocinas IL-12, TNF e IFN- γ en ratones inmunizados sub-cutánea y oralmente.

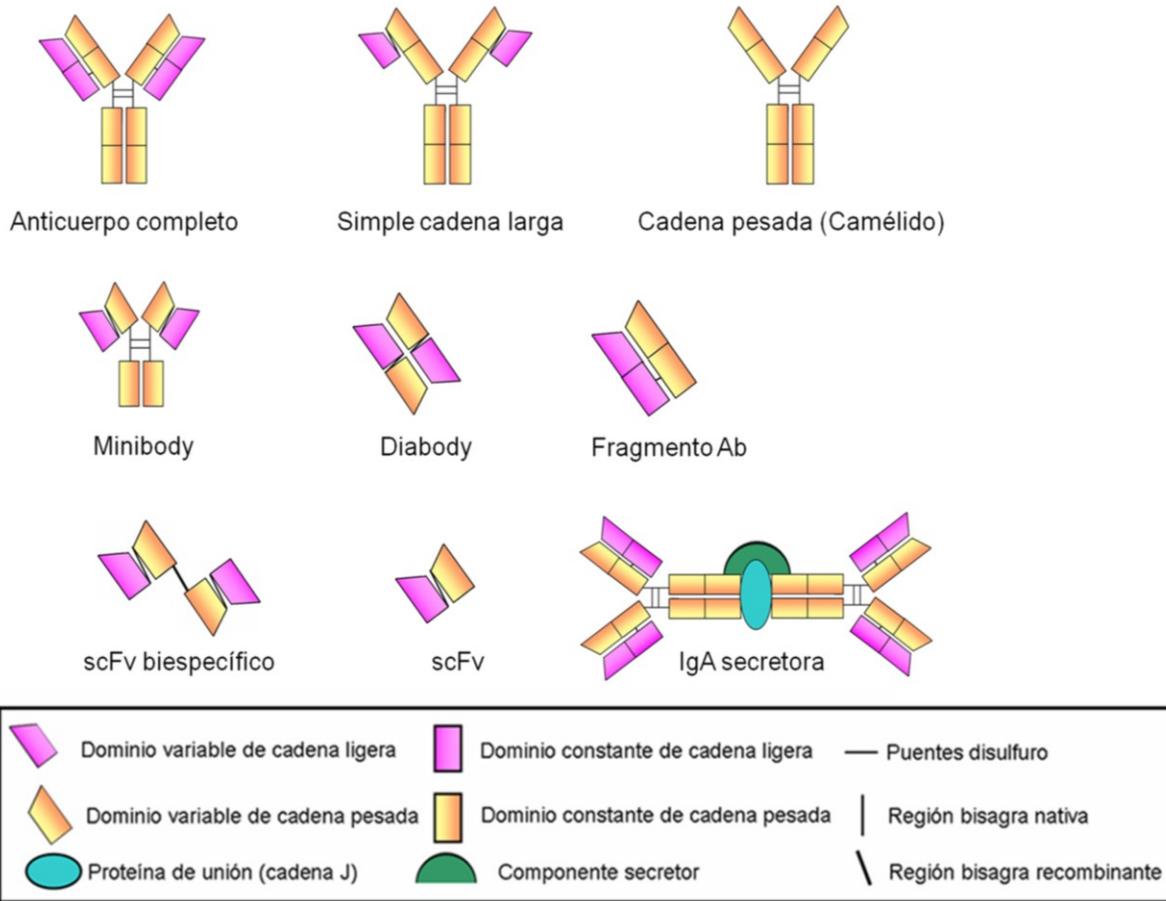


Figura 2. Formas de anticuerpos recombinantes expresados en plantas. scFv: acrónimo proveniente del inglés para designar a los fragmentos variables de simple cadena, Minibody/Diabody: convencionalmente se definen como diabody a los pequeños anticuerpos constituidos únicamente por los dominios variables de cadenas pesadas y ligeras, y minibody, a los pequeños anticuerpos compuestos por dominios variables de cadenas pesadas y ligeras cuando se encuentran unidos a través de la “región bisagra” a dos dominios constantes de cadena pesada.

De igual forma esta estrategia de desarrollo de vacunas derivadas de plantas ha explotado el uso de diferentes especies vegetales como tabaco, papa, tomate, soya, alfalfa, lechuga, banana, melón, caupí, maíz y *Arabidopsis thaliana*, para la producción de antígenos de diversos patógenos causantes de enfermedades infecciosas. Dentro de ellos destacan la producción de la hemaglutinina (HA) del virus de la influenza aviar subtipo H5N1 (51) y la proteína estructural E2 del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) (52), por la capacidad de inducir anticuerpos neutralizantes específicos. También se ha reportado la producción simultánea de antígenos de superficie de las proteínas S, M y L del virus de la hepatitis B (VHB) como un prototipo de vacuna oral tri-componente anti-VHB (53), la expresión de epítopes de la glicoproteína transmembranal gp41 del VIH, la

producción de las proteínas no estructurales E6 y E7 del virus del papiloma humano (VPH), la proteína VP2 del parvovirus canino (PVC) (54) y otro gran número de antígenos provenientes de bacterias patógenas como la proteína TcpA de *Vibrio cholerae*, la cual ha funcionado como un potente inductor de anticuerpos protectivos, y la proteína estafilokinasa que ha mostrado funcionar como un activador del plasminógeno específico de fibrina y como un factor trombolítico promisorio, especialmente ocasionando la trombólisis de coágulos ricos en trombocitos y eritrocitos (55).

Expresión de anticuerpos y vacunas en plantas utilizando vectores virales

Los vectores virales son sistemas de expresión no clásicos que utilizan la asociación entre plantas y

virus de plantas para producir proteínas farmacéuticas recombinantes. Estos sistemas híbridos, considerados modelos para la agricultura molecular, han sido ampliamente utilizados como herramientas para la producción y administración de un gran número de antígenos y anticuerpos de importancia médica (Tabla 2) (2, 7, 14- 19).

El primer intento en el desarrollo de vectores virales de plantas incluyó el uso de virus con genomas de ADN; sin embargo, la complejidad de los ciclos de replicación de esta clase de virus los hace incompatible para alcanzar altos niveles de expresión de la proteína foránea (5). Por tal motivo, la mayoría de los vectores virales emplea virus que poseen genomas de ARN bicatenario o monocatenario con polaridad positiva. En este sentido, la expresión de proteínas a través de este sistema aprovecha la fácil manipulación de los clones de ADNc de virus vegetales con genomas de ARN monocatenario (5, 17) y la capacidad que poseen los transcritos virales modificados para ser traducidos directamente en células vegetales aisladas o en plantas completas. Hasta ahora se han reportado dos sistemas básicos de expresión basados en vectores virales, el primero de ellos denominado "*sistema de expresión de polipéptidos*", a través del cual se expresa una proteína recombinante completa no fusionada que se acumula dentro de la planta (5) y el segundo conocido como "*sistema de presentación de epítopes*", en el cual el vector viral es diseñado de forma tal que un péptido antigénico corto es fusionado a la cubierta proteica del virión (Figura 3) y posteriormente es desplegado sobre la partícula del virión ensamblado (13-15). Dentro de los vectores virales más utilizados hasta el presente se encuentran aquellos basados en los virus del mosaico del caupí, virus del mosaico del pepino, virus del mosaico de la alfalfa, virus arbustivo enanizante del tomate, virus de la viruela del ciruelo, virus x de la papa, virus del mosaico del tabaco, virus de la necrosis del tabaco, virus del mosaico amarillo del calabacín, y más recientemente, el virus de la tristeza de los cítricos (Figura 4a) que infecta plantas leñosas (54, 56).

A través de este sistema se han producido péptidos terapéuticos para muchas enfermedades infecciosas ocasionadas por agentes virales, entre ellos el epítipo lineal conservado de la glicoproteína gp41 (12), epítipes del lazo V3 de la gp120 (14), la proteína auxiliar-regulatoria *Tat* (57) y las proteínas

estructurales p17 y p24 (7), todas determinantes en el establecimiento y progresión de la infección del VIH. También se han expresado la proteína de la cápside L1 del VPH-16 (58), la proteína de la envoltura E del virus dengue serotipo 2 (59), epítipes de las proteínas estructurales M2 y NP del virus de la influenza A (60) y la proteína estructural VP1 del FMDV (61). Asimismo se han logrado ensamblar mediante esta estrategia anticuerpos completos y sus derivados para tratar enfermedades crónicas como el cáncer. Algunos ejemplos de esta estrategia son el anticuerpo monoclonal CO17-1A, dirigido contra antígenos asociados a cáncer colorectal (2) y un anticuerpo idiotípico scFv desarrollado contra el linfoma folicular de células B, el cual ya ha sido evaluado en humanos con resultados muy promisorios (62).

Expresión de anticuerpos y vacunas en plantas a través de agroinfiltración

Otra estrategia que puede ser utilizada para expresar transitoriamente proteínas farmacéuticas a escala comercial es la denominada agroinfiltración o agroinyección, la cual utiliza la familia de vectores binarios construidos a partir del plásmido Ti de la bacteria patógena de plantas *A. tumefaciens* (63, 64). Este sistema consiste de dos componentes, un primer vector que contiene el ADN-T delimitado por las secuencias de los bordes derecho e izquierdo, secuencias correspondientes a múltiples sitios de clonación, un gen marcador de selección para células de plantas transformadas y un gen reportero. El segundo componente está representado por las secuencias estructurales propias del vector, en el que se ubican sitios de replicación para *A. tumefaciens* y *Escherichia coli*, genes marcadores de selección para las bacterias y un conjunto de genes denominados *vir*, codificantes de un grupo de proteínas relacionadas con la transferencia del ADN-T (17,64).

Algunas ventajas obvias de la expresión basada en *Agrobacterium* son la simplicidad del sistema y el corto tiempo requerido para expresar el gen de interés una vez que las hojas han sido agroinfiltradas. El procedimiento experimental no demanda suministros ni equipos costosos, ya que las hojas de plantas cultivadas en invernadero pueden ser infiltradas utilizando una jeringa sin aguja, infiltración por vacío o un método de agroaspersión.

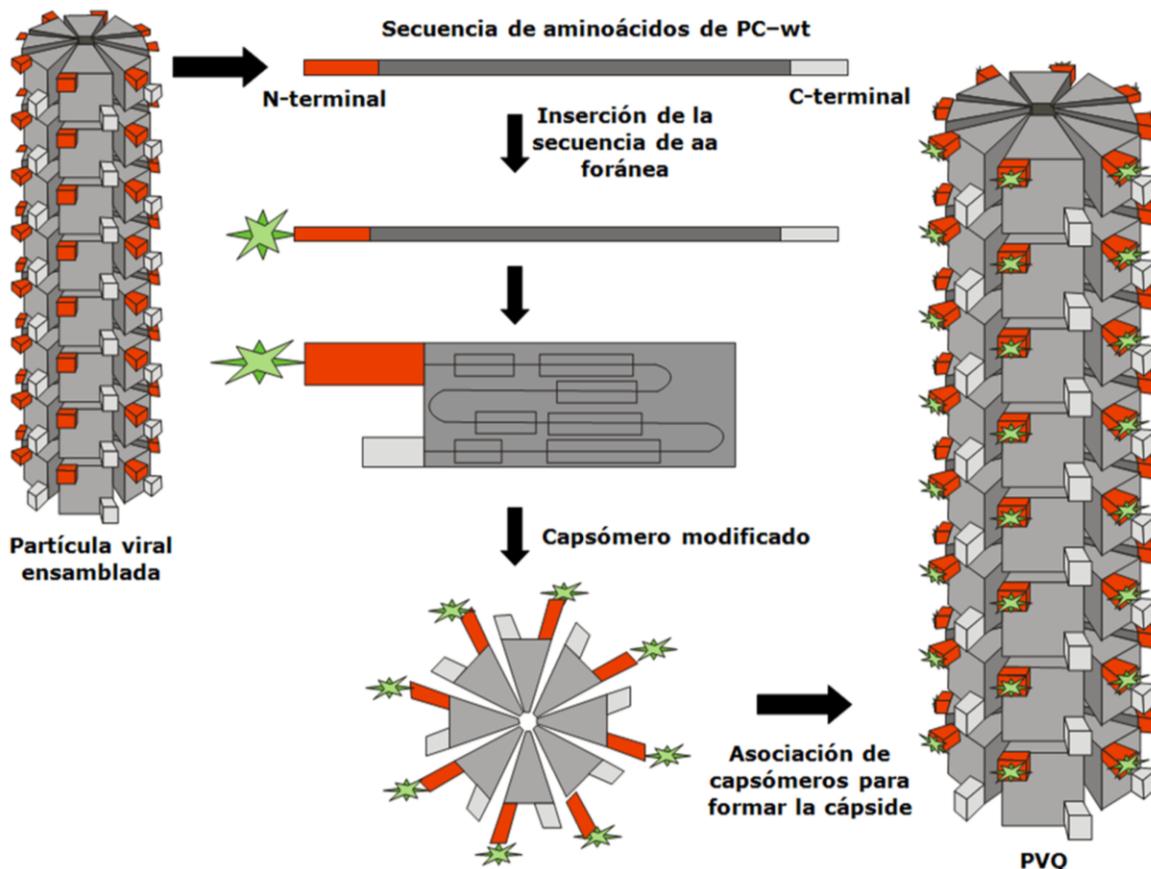


Figura 3. Sistema de presentación de epítopos basado en los vectores virales de plantas. El vector viral se diseña fusionando un péptido antigénico corto (estrella amarilla) a la cubierta proteica del virión en sus extremos N-terminal o C-terminal y posteriormente este es desplegado sobre la partícula del virus ensamblado. *PC-wt*: proteína de cápside wild type; *aa*: aminoácido; *PVQ*: Partícula viral quimérica (Adaptado de Touriño-Fenández, INIA-Madrid, no publicado).

Una variación de la estrategia de expresión transitoria basada en *A. tumefaciens* utiliza un sistema híbrido con los vectores virales. Este último sistema conocido como MagnICON™ (Icon Genetics, Halle, Germany) emplea módulos separados conformados por el genoma de un vector de expresión viral deconstruido (Figura 4b), los cuales son transferidos y ensamblados dentro de la célula vegetal utilizando la información genética y la maquinaria metabólica de *Agrobacterium* (54, 65). Los formatos de vectores virales deconstruidos que son entregados a las plantas vía agroinfección generan un replicón viral funcional y permiten expresar la proteína foránea a niveles bastante aceptables. Actualmente se encuentran disponibles versiones deconstruidas para algunos virus de ARN, entre ellos el virus del mosaico del tabaco, el virus X de la papa, el ARN-2 del virus del mosaico del caupí y el virus causante del enrollado apical de la remolacha *Curtovirus* (*Geminiviridae*). Muchas

proteínas biofarmacéuticas se han expresado a través del sistema MagnICON con un rendimiento exitoso y una autenticidad funcional y estructural similar a la de su contraparte mamífero.

Modificaciones post-traduccionales de proteínas en plantas. Relevancia biológica de las modificaciones post-traduccionales

Las proteínas requieren de un adecuado ensamblaje para preservar su conformación nativa, biológica y fisiológicamente activa. Además, los péptidos maduros requieren de señales o grupos funcionales específicos que les permitan modular la interacción proteína-proteína, proteína-ácido nucleico, determinar su actividad enzimática, papel estructural o incluso definir la localización sub-celular en la que deben ser almacenados o van a realizar su función (37, 66). En sistemas celulares eucarióticos estas características son logradas a través de una

compleja red de modificaciones post-traduccionales (MPT) que incluyen: clivaje, fosforilación, glicosilación, miristoilación, metilación, acetilación, ubiquitinización,

sumoilación y establecimiento de puentes disulfuros.

Estos sistemas de MPT de proteínas están

Tabla 2. Ejemplos de anticuerpos, antígenos y péptidos terapéuticos expresados en plantas a través de diferentes estrategias.

Anticuerpo	Isotipo	Planta hospedera	Sistema de expresión	Rendimiento de la proteína purificada	Condición contra la cual fue desarrollada	Ensayo biológico	Ref
CO17-1A	m ¹ IgG2a	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Transitoria (VV-TMV)	nd ²	Inmunoterapia dirigida contra el cáncer colorectal	nr ³	2
6D4	mIgG1	<i>Nicotiana tabacum</i>	Estable (TMA)	1,3% PST, ensamblaje de 95%	Tratamiento de desórdenes asociados con el metabolismo del calcio (formación de huesos)	nr	20
PhR3	IgG1	<i>N. tabacum</i>	Estable (TMA)	0,25% PST	Terapia contra el carcinoma de células escamosas	Progresión del ciclo celular (línea celular H125), estudios de farmacocinética y biodistribución en ratas, actividad anti-tumoral en ratones	38
CarLA	scFv	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Estable (TMA)	0,25–0,9% PSTS	Inmunización pasiva para tratar enfermedad parasitaria intestinal en caprinos (nematelmintos)	Inmunofluorescencia de larvas infectivas, (estado L3) de <i>Trichostrongylus colubriformis</i>	41
H10	hIgG1λ	<i>N. tabacum</i> <i>N. benthamiana</i>	Estable (TMA) Transitoria (AGR)	0,6–1,1 mg/kg de peso fresco/ 50–100 mg/kg de peso fresco	Diagnóstico y terapia de tumores en tejido adulto experimentando neoplasia	Inmunohistoquímica de formaciones tumorosas provenientes de ratones BALB/c inoculadas con células de glioblastoma U87	76
Nef VIH-1		<i>N. tabacum</i>	Estable	0,7% PST	Tratamiento de la infección causada por VIH	nr	1
Pr55Gag p17/p24,p24		<i>N. tabacum</i>	Estable (TMA) Transitoria (AGR), (VV-TMV)	Variable según el péptido expresado y la estrategia utilizada**	Diagnóstico de la infección causada por VIH	Producción de anticuerpo específico de epítipo y análisis de IFN-γ ELISPOT a partir de ratones BALB/c inoculados	7
gp41 (7aa)		<i>N. benthamiana</i>	Transitoria (VV-PVX)	nd	Tratamiento de la infección causada por VIH	Evaluación de la actividad neutralizante de suero obtenido a partir de ratones hu-PBL-SCID (ensayo de inhibición de sincitio)	14

Tabla 2. Ejemplos de anticuerpos, antígenos y péptidos terapéuticos expresados en plantas a través de diferentes estrategias.

Continuación

Anticuerpo	Isotipo	Planta hospedera	Sistema de expresión	Rendimiento de la proteína purificada	Condición contra la cual fue desarrollada	Ensayo biológico	Ref
PvMSP-1		<i>Brassica napus</i>	Estable (TMA)	nd	Diagnóstico de <i>P. vivax</i> en estado sanguíneo y celular temprano	Producción de anticuerpos específicos de epítoto (IgG1) y de citokina IL-12, TNF- α e IFN- γ .	50
SAK		<i>Solanum tuberosum</i>	Estable (TMA)	nd	Tratamiento de miocarditis aguda	nr	55
gp120 (13aa)		<i>N. benthamiana</i>	Transitoria (VV-TBSV)	nd	Tratamiento de la infección causada por VIH	Detección de anticuerpo específico para V3 a partir de suero obtenido de pacientes VIH+ y de ratones inoculados con PVQ.	87

¹m: murino; ²nd: no determinado; ³nr: no realizado; AGR: agroinfiltración; hu-PBL-SCID: ratones con inmunodeficiencia combinada severa reconstituida con linfocitos de sangre periférica humana (acrónimo traducido al español); PST: Proteína soluble total; PSTS: PST de semillas; PVQ: partícula viral quimérica; PVX: Potato virus x; TBSV: Tomato bushy stunt virus; TMA: transformación mediada por *Agrobacterium*; TMV: Tobacco mosaic virus; VV: vector viral.

**para mayor detalle se recomienda consultar la bibliografía citada.

involucrados en actividades regulatorias celulares que modulan una extensa cantidad de procesos biológicos incluyendo síntesis y reparación de ADN, control del ciclo celular, transcripción, traducción, transducción de señales, biogénesis de organelos y control de calidad de las proteínas en el retículo endoplasmático. A diferencia de lo que ocurre en los sistemas de expresión procarióticos, en los sistemas eucarióticos vegetales las proteínas heterólogas expresadas son modificadas y ensambladas adecuadamente y acumuladas en compartimientos celulares apropiados.

La producción de polipéptidos funcionales requiere principalmente de la formación de puentes disulfuro y de glicosilación. En plantas, el retículo endoplasmático, el cual es el compartimiento subcelular que funciona como puerta de entrada a la vía secretora (67), es el lugar de mayor importancia para que ocurran estas reacciones y se produzca el ensamblaje apropiado de las proteínas (68).

La razón por la cual la vía secretora de plantas ha sido ampliamente explotada para la producción de proteínas farmacéuticas importantes, radica en la mayor estabilidad que posee la proteína heteróloga cuando es almacenada en compartimientos subcelulares donde predomina un ambiente oxidativo, pocas proteasas y baja actividad hidrolítica, características propias del RE (6, 67). Además, este compartimiento puede tolerar alta acumulación de proteínas solubles sin comprometer el funcionamiento celular (69). No obstante, aun cuando el plegamiento que puedan sufrir las proteínas en el RE ha evolucionado para favorecer su estabilidad y actividad biológica (67), la retención en el lumen del RE de polipéptidos que naturalmente residen en el citosol puede cambiar su plegamiento y tener efectos adversos sobre su funcionamiento. Esta consecuencia deriva básicamente de la diferencia existente entre los patrones de glicosilación de estos compartimientos.

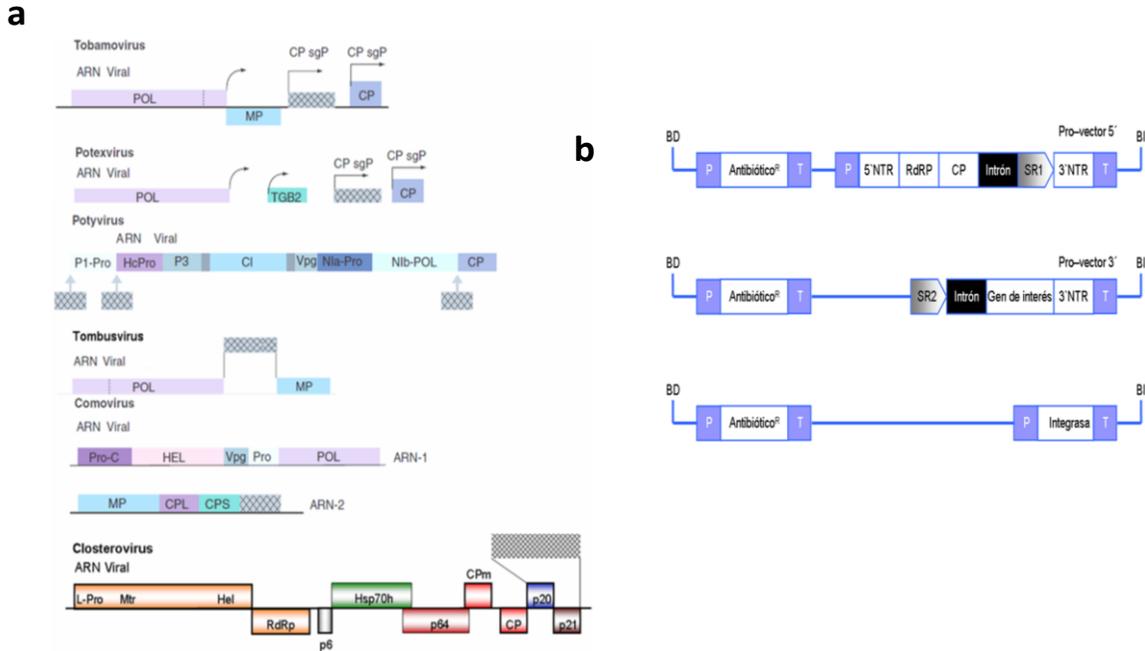


Figura 4. 4a. Organización genómica de los virus de plantas utilizados para expresar proteínas recombinantes. Las posiciones donde se insertan los genes de interés se identifican con cajas de líneas entrecruzadas. Las funciones de algunos genes se detallan a continuación. *POL/RdRp*: ARN polimerasa dependiente de ARN; *MP*: proteína de movimiento; *CP*: proteína de cápside; *sgP*: promotor sub-genómico; *TGB*: bloque triple de genes; *P1-Pro*: proteasa P1; *HcPro*: componente auxiliar de la proteasa; *CI/HEL*: helicasa; *VPg*: proteína viral de anclaje/cebadora; *Pro*: proteasa; *Pro-C*: cofactor de proteasa; *CPL*: proteína de cápside grande; *CPS*: proteína de cápside pequeña; *L-Pro*: secuencia líder de la proteasa; *Mtr*: metiltransferasa; *Hsp*: homólogo de proteína de choque térmico; *CPm*: proteína menor de cápside (Adaptado de las referencias 17 y 34). **4b** Representación esquemática del sistema de expresión basado en el genoma de vectores virales deconstruidos. Se muestran las regiones del ADN-T de los módulos del sistema de expresión. Cada uno de los pro-vectores porta un sitio de recombinación (SR). Cuando son co-expresados con un tercer vector codificante de una integrasa sitio específica, los dos módulos de los pro-vectores se recombinan *in vivo* para crear un genoma viral completo modificado. *P*: promotor; *T*: terminador; *NTR*: región no traducida; *RdRp*: ARN polimerasa dependiente de ARN; *CP*: proteína de cápside; *BD*: borde derecho; *BI*: borde izquierdo (Adaptado de la referencia 85).

Diversos trabajos han mostrado especial interés acerca de la divergencia en los pasos de glicosilación que ocurren en el Golgi medio y *trans* entre células de plantas y mamíferos (6, 70). Aun cuando el patrón de glicosilación que ocurre en residuos específicos de asparaginas (NXS/T) durante su paso por el lumen del RE y el Golgi *cis* es bastante conservado entre estos dos tipos celulares (39), el uso en humanos de muchas glicoproteínas de importancia terapéutica derivadas de plantas ha tenido aplicaciones limitadas. La desventaja principal de esta clase de proteínas recombinantes está asociado con el tipo de *N*-glicanos propios de células vegetales [$\beta(1,2)$ -xilosa y $\alpha(1,3)$ -fucosa] que son añadidos a la estructura de las proteínas durante su desplazamiento por los compartimientos del Golgi medio y *trans* (figura 5). Esto se debe básicamente a que los residuos de xilosil y fucosil sobre los complejos *N*-glicanos de

plantas han demostrado ser el epítipo clave responsable de la alergenicidad en humanos de este tipo de glicoproteínas (71).

Aunque estas diferencias hasta ahora no han mostrado afectar la actividad biológica de las proteínas recombinantes, otras propiedades físico-químicas tales como plegamiento, estabilidad, solubilidad, susceptibilidad a proteasas, farmacocinética, tasa de eliminación sistémica (*CL*) y antigenicidad, pueden ser profundamente afectadas (37,70, 71). Contrariamente, y a pesar de las diferencias significativas de la *O*-glicosilación entre plantas y animales, la ingeniería genética vegetal ha estado enfocada en estrategias que utilizan deliberadamente los *O*-glicanos específicos de plantas sobre péptidos recombinantes (37). Este tipo de modificación consiste en la adición de oligosacáridos al oxígeno del grupo hidroxilo sobre

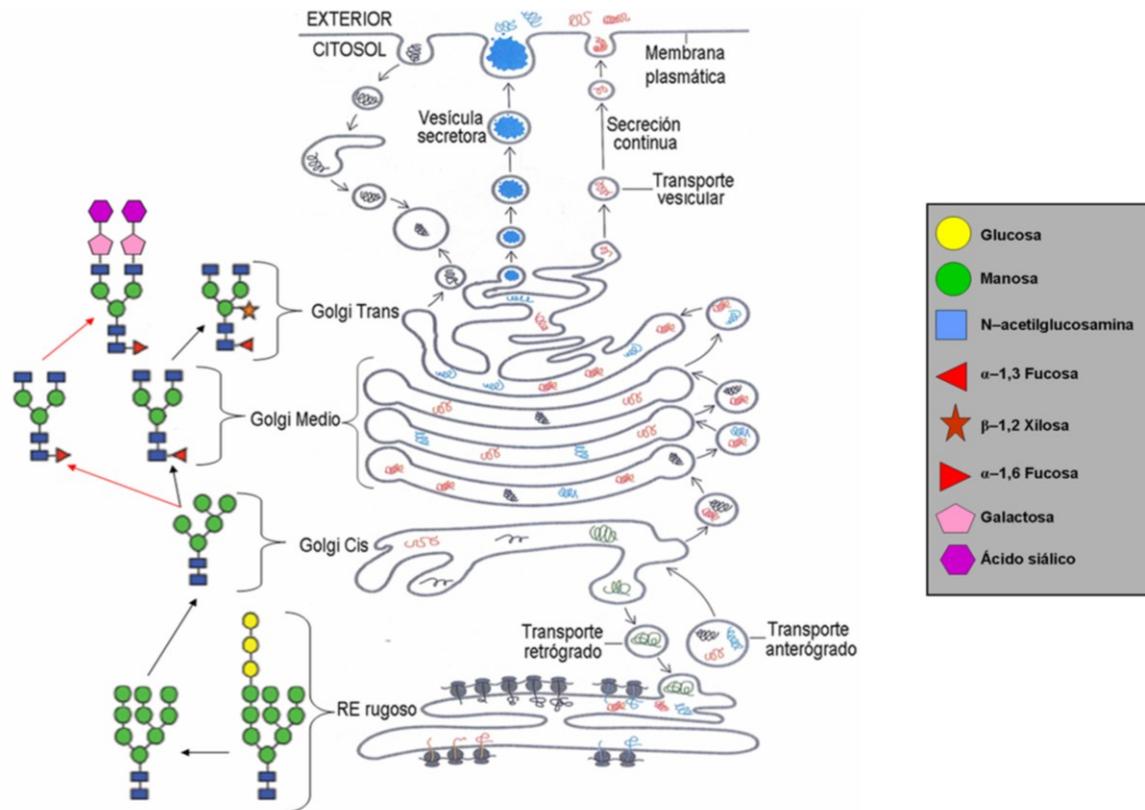


Figura 5. Patrón de glicosilación de proteínas en plantas y animales. Las proteínas recombinantes expresadas en plantas experimentan la adición de N-glicanos propios de células vegetales [$\alpha(1,3)$ -fucosa y $\beta(1,2)$ -xilosa], los cuales son añadidos a su estructura durante el desplazamiento por los compartimientos del Golgi medio y *trans*. Nótese que las modificaciones post-traduccionales entre ambos tipos de células son iguales hasta el Golgi *cis*. La ruta de glicosilación en células animales se indica con flechas rojas. Los polipéptidos destinados a permanecer en el lumen del retículo endoplasmático (RE) son marcados con la secuencia del tetrapéptido señal KDEL antes de ser exportados por primera vez desde el RE hacia el Golgi *cis* (transporte anterógrado), lo cual permite que estos péptidos sean recuperados y devueltos al RE a través del transporte retrógrado (Adaptado de las referencias 75 y 86).

la cadena lateral de los aminoácidos serina, treonina, hidroxilisina o hidroxiprolina, y su empleo se debe al amplio rango de características estructurales y funcionales que estos conjugados son capaces de afectar. En este sentido, diversos trabajos han propuesto que la *O*-glicosilación puede aumentar la estabilidad, el rendimiento y el comportamiento fármaco-cinético de muchas proteínas que tienen un tiempo de vida media muy corto (72-74).

Algunas estrategias para evitar la formación de glicanos inmunogénicos de plantas, incluyen: retención de la glicoproteína recombinante en el lumen del RE para prevenir las glicosilaciones tardías específicas de células vegetales, humanización de la maquinaria de glicosilación a través de la expresión de las enzimas $\beta(1,4)$ -galactosiltransferasa y sialiltransferasa (6), silenciamiento de la expresión de las glicosiltransferasas propias de plantas a través del

uso de ARN interferente (75) y expresión de dominios o epítopos no glicosilados de las proteínas de interés.

Esta estrategia de expresión de proteínas heterólogas glicosiladas en plantas se ha utilizado para producir mediante agroinfiltración anticuerpos monoclonales completos contra antígenos tumorales (76) y contra antígenos asociados a cáncer colorectal, estos últimos producidos empleando el sistema de vectores de virus de plantas (2). De igual forma se ha utilizado el sistema de vectores virales para expresar en plantas algunos dominios del lazo V3 de la proteína estructural de membrana gp120 del VIH-1 (13), la cual está altamente glicosilada (33).

Adicionalmente, se ha reportado la ocurrencia en plantas de otros tipos de modificaciones post-traduccionales que incluyen sulfatación de residuos de tirosinas, hidroxilación de prolina y lisinas,

arabinosilación de hidroxiprolinas e hidroxilisinas y lipidación (37, 77). Este grupo de modificaciones, que hasta la fecha no se han reportado por interferir en el plegamiento y estabilidad de proteínas heterólogas, son comunes en péptidos secretados que cumplen funciones de señalización en diversos aspectos de la biología de la planta como el crecimiento, la diferenciación y la defensa.

Péptidos señal en la modificación post-traduccional de proteínas recombinantes

En muchos casos cuando se requiere que las proteínas heterólogas sean retenidas en el lumen del RE se añade a su extremo C-terminal la secuencia del hexapéptido "SE(H/K)DEL" (4) o la secuencia de la prolamina "γ-zein" del maíz, la cual permite formar cuerpos proteicos y acumularlos en altas cantidades en este compartimiento celular (67). Una estrategia alternativa desarrollada para moléculas que requieren del ambiente citosólico, consiste en anclar los polipéptidos a la cara citosólica del RE utilizando una isoforma del citocromo *b5* de mamífero. Por el contrario, si la proteína foránea debe ser redirigida a algún compartimiento sub-celular específico donde sólo ocurre la formación de puentes disulfuro (6), como sucede en el apoplasto (29), la vacuola (78) o los cloroplastos, se fusiona al extremo N-terminal de la proteína de interés la secuencia de algún péptido señal como el de la proteína PR1 del tabaco (1), la secuencia de la disulfuro isomerasa de la alfalfa (4), la proteína de almacenamiento vacuolar phaseolin de las leguminosas (78) o el péptido de tránsito plastidial "TPSS" de la sub-unidad pequeña de la enzima plastidial Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO) (79). Otros péptidos frecuentemente utilizados en la compartimentalización de las proteínas recombinantes son la esporamina de la papa, la quitinasa de *A. thaliana* y la secuencia de la α-amilasa de los cereales, la cual mejora la acumulación y la estabilidad de los polipéptidos en las semillas (43).

Eficacia inmunológica de vacunas, anticuerpos y antígenos derivados de plantas

Todas las proteínas farmacéuticas recombinantes producidas a través de la agricultura molecular de plantas, para las cuales se pretenda una aplicación potencial en inmunoterapia y/o inmunodiagnóstico, deben presentar algunas características básicas. Dentro de estos requisitos se encuentran: alto rendimiento de la proteína

heteróloga, fácil administración de los antígenos expresados (bien sea purificados o como extracto foliar crudo), producción de un polipéptido farmacológicamente activo con capacidad para inducir una respuesta inmunitaria celular y/o humoral efectiva, alta especificidad para tratar la condición contra la cual fue desarrollada y baja toxicidad comparada con las drogas existentes en el mercado.

En términos generales, los anticuerpos expresados en plantas han mostrado una actividad biológica similar a la de su contraparte mamífero; por ejemplo, se han desarrollado diferentes plantibodies con la capacidad de interactuar específicamente con antígenos asociados a trastornos neoplásicos (76), interrumpir la cascada de transducción de señales propias de afecciones cancerígenas (2, 38) o inducir un mecanismo de respuesta inmune basado en CCDa (80). Asimismo, se han expresado diferentes formatos de anticuerpos que han permitido contrarrestar patógenos causantes de enfermedades infecciosas como el VIH (30, 81, 82), VHB (83), VHC, virus del herpes simplex (35), distintos tipos de influenza virus y el virus causante de la rabia (84).

Igualmente ha sido posible inducir la producción de anticuerpos neutralizantes contra la proteína estructural gp41 del VIH (14), la hemaglutinina del virus de la influenza aviar (51) y la proteína estructural E2 del virus causante de la diarrea viral bovina (52). También se lograron desarrollar anticuerpos idiotípicos personalizados (específicos de pacientes) contra enfermedades crónicas como el linfoma no Hodgkin (62). La administración de esta última vacuna permitió que los pacientes en estudio desarrollaran un mecanismo de respuesta inmune celular y humoral, así como una respuesta específica de antígeno. Otros mecanismos de repuestas observados en modelos murinos, a partir de la inoculación de proteínas recombinantes derivadas de plantas, han sido la producción incrementada de las citokinas IL-12, TNF e IFN-γ (50) y la amplificación de la respuesta inmune dependiente de células T, esta última inducida por las proteínas estructurales p17/p24 del VIH (7).

Perspectivas

En los últimos años los avances de la ingeniería genética y de otras herramientas moleculares han permitido la producción a bajo costo y a gran escala de muchas proteínas recombinantes

derivadas de plantas. Aun cuando los sistemas vegetales son considerados seguros para la expresión de péptidos heterólogos, debido a la incapacidad que poseen de replicar virus humanos; la ausencia de la maquinaria de MPT propia de células animales ha limitado la utilización de ciertos péptidos de importancia médica. Sin embargo, el número de vacunas, antígenos y anticuerpos derivados de plantas ha incrementado en la última década. Esto ha sido posible gracias al entendimiento de la función biológica que ejercen los glicanos de origen vegetal en la actividad, estabilidad, solubilidad e inmunogenicidad de los péptidos recombinantes. De esta manera se espera que en un futuro próximo se desarrollen mayor número de plantas que expresen de manera estable o

transitoria péptidos con buena tolerancia oral, ensamblados apropiadamente, sin riesgos de efectos secundarios y con una alta eficacia para controlar las principales enfermedades que nos afectan a nivel mundial.

Agradecimientos

Este artículo forma parte de un proyecto de investigación acerca de la expresión en sistemas vegetales de la proteína auxiliar Nef del VIH-1, financiado por el Fondo Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación (FONACIT), proyecto PEI N° 2012001279.

Referencias

1. Marusic C, Nuttall J, Buriani G, Lico Ch, Lombardi R, Baschieri S, Benvenuto E, Frigerio L. Expression, intracellular targeting and purification of HIV Nef variants in tobacco cells. *Biomed Central Biotechnol* 2007;7:1–12. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Verch T, Yusibov V, Koprowski H. Expression and assembly of a full-length monoclonal antibody in plants using a plant virus vector. *J Immunol Methods* 1998;220:69–75. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Ma JKC, Drake PMW, Christou P. The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nat Rev Genet* 2003;4:794–805. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Badri M, Rivard D, Coenen K, Michaud D. Unintended molecular interactions in transgenic plants expressing clinically useful proteins: The case of bovine aprotinin traveling the potato leaf cell secretory pathway. *Proteomics* 2009;9:746–56. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Cañizares MC, Nicholson L, Lomonosoff GP. Use of viral vector for vaccine production in plants. *Immunol Cell Biol* 2005; 83:263–70. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Ko K, Koprowski H. Plant biopharming of monoclonal antibodies. *Virus Res* 2005; 111:93–100. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Meyers A, Chakauya E, Shephard E, Tanzer FL, Maclean J, Lynch A, Williamson AL, Rybicki EP. Expression of HIV-1 antigens in plants as potential subunit vaccines. *Biomed Central Biotechnol* 2008;8:53–67. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Gómez E, Zoth SC, Berstein A. Plant-based vaccine for potential human application: a review. *Hum Vaccin* 2009;5:738–44. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Hefferon KL. The mucosal immune response to plant-derived vaccine. *Pharm Res* 2010;27:2040–2. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Rybicki EP. Plant-made vaccine for human and animals. *Plant Biotechnol* 2010;8:620–37. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. O'Brien GJ, Bryant CJ, Charlotte V, Greenberg HB, Gardner RC, Bellamy AR. Rotavirus VP6 expressed by PVX vectors in *Nicotiana benthamiana* coats PVX rods and also assembles into virus like particules. *Virology* 2000;270:444–53. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Koprowski H, Yusibov V. The green revolution: plants as heterologous expression vectors. *Vaccine* 2001;19:2735–41. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
13. Yusibov V, Modelska A, Steplewski K, Agadjanyan M, Weiner D, Hooper DC, Koprowski H. Antigens produced in plants by infection with chimeric plant viruses immunize against rabies viruses and HIV-1. *PNAS* 1997;94:5784–88. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
14. Marusic C, Rizza P, Lattanzi L, Mancini C, Spada M, Belardelli F, Benvenuto E, Capone I. Chimeric plant virus particles as immunogens for inducing murine and human immune responses against Human Immunodeficiency Virus Type 1. *J Virol* 2001;75:8434–39. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Donini M, Lico Ch, Baschieri S, Conti S, Magliani W, Polonelli L, Benvenuto E. Production of an engineered killer peptide in *Nicotiana benthamiana* by using a Potato Virus X expression system. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:6360–7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Vitti A, Piazzolla G, Condelli V, Nuzzaci M, Lanorte MT, Boscia D, De Stradis A, Antonaci S, Piazzolla P, Tortorella C. Cucumber mosaic virus as the expression system for a potential vaccine against Alzheimer's disease. *J Virol Methods* 2010;169:332–40. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Komarova TV, Baschieri S, Donini M, Marusic C, Benvenuto E, Dorokhov YL. Transient expression systems for plant-derived biopharmaceuticals. *Expert Rev Vaccines* 2010;9:859–76. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Zhou B, Zhang Y, Wang X, Dong J, Wang B, Han C, Yu J, Li D. Oral administration of plant-based rotavirus VP6 induces antigen-specific IgAs, IgGs and passive

- protection mice. Vaccine 2010;28:6021–7. [PubMed] [Google Scholar]
19. Uhde–Holzem K, Schlösser V, Viazov S, Fischer R, Commandeur U. Immunogenic properties of chimeric potato virus X particles displaying the hepatitis C virus hypervariable region I peptide R9. J Virol Methods 2010;166:12–20. [PubMed] [Google Scholar]
 20. Hiatt A, Cafferkey R, Bowdish K. Production of antibodies in transgenic plants. Nature 1989;342:76–8. [PubMed] [Google Scholar]
 21. Agrenvec. Molecular farming: Fully active, recombinant proteins and clean antibodies for any R & D need [internet]. 2013 [cited 2013 Jan 16]. Available at: <http://agrenvec.com>.
 22. Pharma–Planta, EU–funded project manufactures plant–derived anti–HIV antibody safe for humans [internet]. 2013 [cited 2013 Jan 16]. Available at: http://pharma-planta.org/resources_documents/PP_exec_2008.pdf
 23. Planet Bitechology, Secretary IgA monoclonal antibodies from plants [internet]. 2013 [cited 2013 Jan 18]. Available at: <http://planetbitechology.com/index.html>
 24. Meristem therapeutics, Production of therapeutic recombinant protein in corn and tobacco [internet]. 2013 [cited 2013 Jan 18]. Available at: <http://bioportfolio.com/corporate/company/27952/Meristem-Therapeutics-Llc.html>
 25. Synthon, LEX SystemSM: a technological platforms based on the cultures of Lemna minor (duckweed) to development of pharmaceutical proteins [internet]. 2013 [cited 2013 Feb 15]. Available at: <http://synthon.com/en/nieuwsarchieff/synthon-acquires-lex-systemsm-from-bioalex-therapeutics.aspx>
 26. McCormick AA, Kumagai MH, Hanley K, Turpen TH, Hakim I, Grill LK, Tusé D, Levy S, Levy R. Rapid production of specific vaccines for lymphoma by expression of the tumor–derived single–chain Fv epitopes in tobacco plants. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:703–8. [PubMed] [Google Scholar]
 27. Giddings G, Allison G, Brooks D, Carter A. Transgenic plants as factory for biopharmaceuticals. Nat Biotechnol 2000;18:1151–55. [PubMed] [Google Scholar]
 28. Düring K, Hippe S, Kreuzaler F, Schell J. Synthesis and self–assembly of a functional monoclonal antibody in transgenic Nicotiana tabacum. Plant Mol Biol 1990; 15:281–93. [PubMed] [Google Scholar]
 29. Ma JKC, Hiatt A, Hein M, Vine ND, Wang F, Stabila P, van Dolleweerd C, Mostov K, Lehner T. Generation and assembly of secretory antibodies in plants. Science 1995;268:716–9. [PubMed] [Google Scholar]
 30. Floss DM, Sack M, Stadimann J, Rademacher T, Scheller J, Stöger E, Fischer R, Conrad U. Biochemical and functional characterization of anti–HIV antibody–ELP fusion proteins from transgenic plant. Plant Biotechnol J 2008;6:379–91. [PubMed] [Google Scholar]
 31. Goldstein D, Thomas J. Biopharmaceuticals derived from genetically modified plants. QJM 2004;97:705–16. [PubMed] [Google Scholar]
 32. Perrin Y, Vaquero C, Gerrard I, Sack M, Drossard J, Stöger E, Christou P, Fischer R. Transgenic pea seeds as bioreactors for the production of a single–chain Fv fragment (scFv) antibody used in cancer diagnosis and therapy. Mol Breeding 2000;6:345–52. [Google Scholar]
 33. Carter JB, Saunders VA. Virology: Principles and Applications. UK: John Wiley & Sons Ltd, 2007.
 34. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. Virus taxonomy, eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, California: Elsevier Academic Press. 2005.
 35. Zeitlin L, Olmsted SS, Moench TR, Co MS, Martinell BJ, Paradkar VM, Russell DR, Queen C, Con RA, Whaley KJ. A humanized monoclonal antibody produced in transgenic plants for immunoprotection of the vagina against genital herpes. Nature Biotechnol 1998;16:1361–4. [PubMed] [Google Scholar]
 36. Kathuria S, Sriraman R, Nath R, Sack M, Pal R, Artsaenko O, Talwar GP, Fischer R, Finnern R. Efficacy of plant–produced recombinant antibodies against HCG. Hum Reprod 2002;17:2054–61. [PubMed] [Google Scholar]
 37. Webster DE, Thomas MC. Post–translational modification of plant–made foreign proteins; glycosylation and beyond. Biotechnol Adv 2012;30:410–418. [PubMed] [Google Scholar]
 38. Rodríguez M, Pérez L, Gavilondo J, Garrido G, Beuqte–Romero m, Hernández I, Huerta V, Cabrera G, Pérez O, Leyva R, León M, Ramos P, Triguero A, Hernández A, Sánchez B, Ayala M, Soto J, González E, Mendoz O, tiel K, Pujol M. Comparative *in vitro* and experimental *in vivo* studies of the anti–epidermal growth factor receptor antibody nimotuzumab and its aglycosylated form produced in transgenic tobacco plants. Plant Biotechnol J 2013;11:53–65. [PubMed] [Google Scholar]
 39. Ko K, Brodzik R, Steplewski Z. Production of antibodies in plants: approaches and perspectives. Curr Top Microbiol Immunol 2009;332:55–78. [PubMed] [Google Scholar]
 40. de Virgilio M, De Marchis F, Bellucci M, Mainieri D, Rossi M, Benvenuto E, Arcioni S, Vitale A. The human immunodeficiency virus antigen Nef forms protein bodies in leaves of transgenic tobacco when fused to zeolin. J Exp Bot 2008;59:2815–29. [PubMed] [Google Scholar]
 41. Winichayakul S, Pernthaner A, Livingston S, Cookson R, Scott R, Roberto N. Production of active single–chain antibodies in seeds using trimeric polyoleosin fusión. J Biotechnol 2012;161:407–13. [PubMed] [Google Scholar]
 42. Wycoff KL. Secretary IgA antibodies from plants. Curr Pharm Design 2004;10:1–9. [PubMed] [Google Scholar]
 43. De Muynck B, Navarre C, Boutry M. Production of antibodies in plants: status after twenty years. Plant Biotechnol J 2010;8:529–63. [PubMed] [Google Scholar]

44. Herrera A. Las inmunoglobulinas G de los camélidos y sus aplicaciones. *Sirivs* 2011;1:2–8. [[Google Scholar](#)]
45. Matveeva NA, Kudriavets I, Likhova AA, Shakhovskii AM, Bezdenezhnykh NA, Kvasko Elu. Antiviral activity of extracts of transgenic chicory and lettuce plants with the human interferon alpha-2b gene. *Tsitol Genet* 2012;46:28–35. [[PubMed](#)]
46. Nausch H, Mischofsky H, Koslowski R, Meyer U, Broer I, Huckauf J. Expression and subcellular targeting of human complement factor C5a in *Nicotiana* species. *PLOS ONE* 2012;7:1–13. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
47. Clemente M, Corigliano MG. Overview of plant-made vaccine antigens against malaria. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:206918 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
48. Kumar CS, Deepesh G, Mahavir Y, Archana T. Edible vaccine: a new platform for the development of malaria vaccine. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2012;22:243–8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
49. Davoodi-Semiromi A, Schreiber M, Nalapalli S, Dheeraj V, Singh ND, Banks RK, Chakrabarti D, Daniell H. Chloroplast-derived vaccine antigens confer dual immunity against cholera and malaria by oral or injectable delivery. *Plant Biotechnol J* 2010;8:223–42. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
50. Lee C, Kim HH, Choi KM, Chung KW, Choi YK, Jang MJ, Kim TS, Chung NJ, Rhie HG, Lee HS, Shon Y, Kim H, Lee SJ, Lee HW. Murine immune responses to a *Plasmodium vivax*-derived chimeric recombinant protein expressed in *Brassica napus*. *Malaria J* 2011;10:1–8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
51. Phan HT, Pohl J, Floss DM, Rabenstein F, Veits J, Le BT, Chu HH, Hause G, Mettenleiter T, Conrad U. ELPylated haemagglutinins produced in tobacco plants induce potentially neutralizing antibodies against H5N1 viruses in mice. *Plant Biotechnol J* 2013; DOI 10.1111/pbi.121049. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
52. Aguirreburualde MS, Gómez MC, Ostachuk A, Wolman F, Albanesi G, Pecora A, Odeon A, Ardila F, Escribano JM Santos MJ, Wigdorovitz A. Efficacy of a BVDV subunit vaccine produced in alfalfa transgenic plants. *Vet Immunol Immunopathol* 2013;151:315–24. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
53. Pniewski T, Kapusta J, Bociąg P, Kostrzak A, Fedorowicz–Strońska O, Czyż M, Gdula M, Krajewski P, Wolko B, Plucienniczak A. Plant expression, lyophilisation and storage of HBV medium and large surface antigens for a prototype oral vaccine formulation. *Plant Cell Rep* 2012;31:585–95. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Lico Ch, Santi L, Twyman RM, Pezzotti M, Avesani L. The use of plants for the production of therapeutic human peptides. *Plant Cell Rep* 2012; 31:439–51. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
55. Gerszberg A, Wiktoket–Smagur A, Hnatuszko–Konka K, Luchniak P, Kononowicz AK. Expression of recombinant staphylokinase, a fibrin-specific plasminogen activator of bacterial origin, in potato (*Solanum tuberosum* L.) plants. *World J Microbiol Biotechnol* 2012;28:1115–23. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
56. Folimonov A, Folimonova S, Bar–Joseph M, Dawson W. A stable RNA virus-based or citrus trees. *Virology* 2007;368:205–16. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
57. Karasev AV, Foulke S, Wellens C, Rich A, Shon KJ, Zwierzynski I, Hone D, Koprowski H, Reitz M. Plant based HIV–1 vaccine candidate: Tat protein produced in spinach. *Vaccine* 2005;23:1875–80. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
58. Varsani A, Williamson AL, Stewart D, Rybicki EP. Transient expression of human papillomavirus type 16 L1 protein in *Nicotiana benthamiana* using an infectious tobamovirus vector. *Virus Res* 2006;120:91–6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Saejung W, Fujiyama K, Takasaki T, Ito M, Hori K, Malasit P, Watanabe Y, Kurane I, Seki T. Production of dengue 2 envelope domain III in plant using TMV-based vector system. *Vaccine* 2007;25:6646–54. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Meshcheriakova IuA, El`darov MA, Migunov AI, Stepanova LA, Repko IA, Kiselev OI, Lomonosov DP, Skriabin KG. Cowpea mosaic virus chimeric particles bearing ectodomain of matrix protein 2 (M2E) of the influenza A virus: production and characteristics. *Mol Biol* 2009;43:741–50. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
61. Zhang Y, Li J, Pu H, Zhang X, Chen M, Wang B, Han C, Yu J, Li D. Development of Tobacco necrosis virus A as a vector for efficient and stable expression of FMDV VP1 peptides. *Plant Biotechnol J* 2010;8:506–23. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
62. McCormick AA, Reddy S, Reinl SJ, Cameron TI, Czerwinski DK, Voidani F, Hanley KM, Garer SJ, White EL, Novak J, Barrett J, Holtz RB, Tuse D. Plant-produced idiotype vaccines for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: Safety and immunogenicity in a phase I clinical study. *PNAS* 2008;105:10131–6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
63. Hooykaas PJJ, Schilperoort RA. Agrobacterium and plant genetic engineering. *Plant Mol Biol* 1992;19:15–38. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
64. Valderrama Fonseca AM, Isaza RA, Kafuri LA. Transformación de plantas mediada por *Agrobacterium*: “Ingeniería genética natural aplicada”. *Rev Fac Nal Agr Medellín* 2005;58:2569–85. [[Google Scholar](#)]
65. Hefferon KL. Plant virus expression vectors set the stage as production platforms for biopharmaceuticals proteins. *Virology* 2012;433:1–6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
66. Albert JR, Beuzón–López CR, Bejarano ER, Proteasas de SUMO como proteínas de virulencia de bacterias fitopatógenas [internet]. 2012 [cited 2012 Feb 27]. Available at: http://www.genetica.uma.es/detalle_slineas.php?linea=36
67. Marusic C, Vitale A, Pedrazzini E, Donini M, Frigerio L, Block R, Dix Ph, McCabe M, Bellucci M, Benvenuto E. Plant-based strategies aimed at

- expressing HIV antigens and neutralizing antibodies at high levels. Nef as a case study. *Transgenic Res* 2009; 18:499–512. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
68. Heleinus A, Aebi M. Intracellular functions of N-linked glycans. *Science* 2001;291:2364–9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
69. Wandelt C, Khan M, Craig S, Schroeder H, Spencer D, Higgins T. Vicilin with carboxy-terminal KDEL is retained in the endoplasmic reticulum and accumulates to high level in the leaves of transgenic plants. *Plant J* 1992;2:181–92. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
70. Hellwig S, Drossard J, Twyman R, Fischer R. Plant cell cultures for the production of recombinant proteins. *Nat Biotechnol* 2004;22:1415–22. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
71. Doran PM. Foreign protein production in plant tissue cultures. *Curr Opin Biotechnol* 2000;11:199–204. [[PubMed](#)]
72. Xu J, Tan L, Goodrum KJ, Kieliszewski MJ. High-yields and extended serum half-life of human interferon $\alpha 2b$ expressed in tobacco cells as arabinogalactan-protein fusions. *Biotechnol Bioeng* 2007;97:997–1008. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
73. Xu J, Lampport DT, Showalter AM, Kieliszewski MJ. The O-Hyp glycosylation code in tobacco and Arabidopsis and a proposed role of Hyp-glycans in secretion. *Phytochemistry* 2008;69:1631–40. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
74. Tan L, Varnai P, Lampport DT, Yuan C, Xu J, Qiu F, Kieliszewski MJ. Plant O-hydroxyproline arabinogalactans are composed of repeating trigalactosyl subunits with short bifurcated side chains. *J Biol Chem* 2010;285:24575–83. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
75. Beck A, Reichert JM. Marketing approval of mogamulizumab: a triumph for glyco-engineering. *mAbs* 2012;4:1-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]-
76. Villani ME, Morgun B, Brunetti P, Marusic C, Lombardi R, Pisoni I, Bacci C, Desiderio A, Benvenuto E, Donini M. Plant pharming of a full-sized, tumour-targeting antibody using different expression strategies. *Plant Biotechnol J* 2008 DOI 10.1111/j.1467-7652.2008.00371.x. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
77. Matsubayashi Y. Small post-translationally modified peptide signals in Arabidopsis. *Am Soc Plant Biologists* 2011; DOI 10.1199/tab.0150. [[PubMed](#)]
78. Mainieri D, Rossi M, Archinti M, Bellucci M, De Marchis F, Vavassori S, Pompa A, Arcioni S, Vitale A. Zeolin a new recombinant storage protein constructed using maize γ -zein and bean phaseolin. *Plant Physiol* 2004;136:3447–56. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
79. Richter LJ, Thanavala Y, Arntzen CJ, Mason HS. Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nat Biotechnol* 2000;18:1167–71. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
80. Brodzik R, Glogowska M, Bandurska K, Okulicz M, Deka D, Ko K, van der Linden J, Leusen JH, Pogrebnyak N, Golovkin M, Steplewski Z, Koprowski H. Plant-derived anti-Lewis Y mAb exhibits biological activities for efficient immunotherapy against human cancer cells. *PNAS* 2006;103:8804–9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
81. Sack M, Paetz A, Kunert R, Bomble M, Hesse F, Stiegler G, Fischer R, Katinger H, Stoeger E, Rademacher T. Functional analysis of the broadly neutralizing human anti-HIV-1 antibody 2F5 produced in transgenic BY-2 suspension cultures. *FASEB J* 2007;21:1655–64. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
82. Rademacher T, Sack M, Arcalis E, Stadlmann J, Balzer S, Altmann F, Quendler H, Stiegler G, Kunert R, Fischer R, Stoeger E. Recombinant antibody 2G12 produced in maize endosperm efficiently neutralizes HIV-1 and contains predominantly single-GlcNAc N-glycans. *Plant Biotechnol J* 2008;6:189–201. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
83. Ramírez N, Rodríguez M, Ayala M, Cremata J, Pérez M, Martínez A, Linares M, Hevia Y, Páez R, Valdés R, Gavilondo JV, Selman-Housein G. Expression and characterization of an anti-(hepatitis B surface antigen) glycosylated mouse antibody in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants and its use in the immunopurification of its target antigen. *Biotechnol Appl Biochem* 2003;38:223-30. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
84. Girard LS, Fabis MJ, Bastin M, Courtois D, Pétiard V, Koprowski H. Expression of a human anti-rabies virus monoclonal antibody in tobacco cell culture. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;345:602–7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
85. Garabagi F, McLean MD, Hall JC. *Antibody engineering: methods and protocols*, 2nd Ed. Springer Sc, 2012.
86. Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipurski SL, Matsudaira P, Darnell J. *Molecular Cell Biology*, 3rd Ed. New York: Scientific American Books, 1996.
87. Joelson T, Åkerblom L, Oxelfelt P, Strandberg B, Tomenius K, Morris TJ. Presentation of a foreign peptide on the surface of tomato bushy stunt virus. *J Gen Virol* 1997; 78:1213–17. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
88. Avesani L, Marconi G, Morandini F, Albertini E, Bruschetta M, Bortesi L, Pezzoti M, Porceddu A. Stability of Potato virus X expression vectors is related to insert size: implications for replication models and risk assessment. *Transgenic Res* 2007;16:587–97. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo: Noguera A, Fermín G, Plataformas de expresión en plantas de péptidos humanos terapéuticos: expresión transitoria y estable. *Avan Biomed* 2013; 2: 137-53.



Síndrome de Brugada durante el embarazo (Brugada syndrome during pregnancy)

Eduardo Reyna-Villasmil¹✉, Duly Torres-Cepeda¹, Joel Santos-Bolívar¹, Juan Perozo Romero¹.

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

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 31 de Diciembre de 2012. Aceptado: 25 de Abril de 2013.

Resumen

El síndrome de Brugada es una causa común de muerte súbita de origen cardíaco. Los cambios electrocardiográficos característicos del síndrome están relacionados con las alteraciones de los canales de sodio. Las características clínicas y moleculares del síndrome han progresado rápidamente desde la descripción inicial. Existen escasos reportes de esta enfermedad en el embarazo. Se describe un caso de síndrome de Brugada durante el embarazo en una mujer joven que se presentó con síncope y taquicardia ventricular.

Palabras clave

Síndrome de Brugada, Embarazo, Canales de Sodio.

Abstract

Brugada syndrome is a common cause of cardiac-origin sudden death. The characteristic electrocardiographic changes of the syndrome are linked to sodium channel alterations. Clinical and molecular characterization of the syndrome has progressed rapidly since its initial description. There are few reports of this disease in pregnancy. We describe a case of revelation of Brugada syndrome during pregnancy in a young woman who presented syncope and ventricular tachycardia.

Keywords

Brugada syndrome, Pregnancy, Sodium channel.

Introducción

El síndrome de Brugada (SB) es un desorden heredado de los canales de sodio. Se caracteriza por un patrón electrocardiográfico de bloqueo de la rama cardíaca derecha y elevación ST en las derivaciones precordiales derechas en ausencia de enfermedad cardíaca estructural (1,2). La principal preocupación es la tendencia a desarrollar taquiarritmias ventriculares y muerte súbita. Se sospecha que es responsable del 40-60% de los casos de "fibrilación ventricular idiopática" (3). Se presenta el caso de una paciente con SB sintomático desencadenado por el embarazo.

Caso Clínico

Se trata de paciente de 19 años, primigesta, con embarazo de 34 semanas, quien acude a la emergencia por presentar episodio de síncope, sin presencia de convulsiones. A la llegada a la emergencia la paciente estaba alerta y no recordaba el episodio. Además negaba la presencia de taquicardia, palpitaciones o dolor torácico. De igual forma, los familiares de la paciente refirieron que la paciente no consumía ningún tipo de fármaco diferentes a la vitaminoterapia. Entre sus antecedentes familiares estaba la muerte súbita de la madre a los 40 años sin diagnóstico establecido.



Figura 1. Hallazgos electrocardiográficos al ingreso de la paciente.

El examen físico de ingreso fue: presión arterial 112/65 mmHg, frecuencia cardíaca 85 latidos por minuto y frecuencia respiratoria de 17 respiraciones por minuto. Los ruidos cardiacos eran rítmicos sin soplos y no se escuchaban agregados en los campos pulmonares. Los exámenes de laboratorio (incluyendo electrolitos y creatinina) no mostraron alteraciones. El electrocardiograma reveló ritmo sinusal, una ligera elevación (> 2 milímetros) en el segmento ST y ondas T negativas en las derivaciones V1-V2 similar a bloqueo de la rama derecha compatible con un patrón electrocardiográfico de Brugada tipo I (Figura 1).

La paciente es hospitalizada presentando nuevamente episodio de síncope a los 3 días, se le realiza un nuevo electrocardiograma encontrando la presencia de taquicardia ventricular polimórfica, procediéndose a la administración de magnesio y a la cardioversión. El ecocardiograma no mostró enfermedad cardíaca estructural. Se decide interrumpir el embarazo por vía abdominal obteniéndose recién nacido de 2.900 gramos en buenas condiciones generales. Se repitió el electrocardiograma con 12 derivaciones a la semana del ingreso, observándose reversión del patrón Brugada hasta la normalidad. Durante el estudio electrofisiológico, no se observaron arritmias ventriculares, sin embargo, la prueba con procainamida (10 mg/Kg) produjo la aparición dinámica de un patrón electrocardiográfico similar al previamente descrito. En vista de estos hallazgos, los antecedentes personales de síncope y los familiares de

muerte súbita, a los 3 meses, la paciente fue operada para implantarle un cardiovertor.

Discusión

El síndrome fue descrito por Pedro y Joseph Brugada en 1992 y está caracterizado por un patrón electrocardiográfico consistente en una elevación del segmento ST en las derivaciones precordiales V1-V3 y una morfología similar al bloqueo de la rama derecha lo que lleva al posible desarrollo de una taquiarritmia ventricular (3). Cualquier condición o medicamento que incremente la salida o disminuya la entrada de sodio puede revelar el síndrome. Se ha demostrado que el mecanismo iónico responsable del SB es dependiente de la temperatura (1).

Se han propuesto otros factores como el tono vagal, ciertos alimentos, algunas drogas anti-arrítmicas y estados hormonales también pueden influir sobre el patrón electrocardiográfico en la aparición del síndrome. Los efectos de las hormonas sexuales sobre la cinética de los canales iónicos se han examinado con los efectos de la progesterona. En condiciones basales, la progesterona potencia los canales sin cambios aparentes en la dependencia del voltaje y en el tiempo de activación-desactivación. La progesterona revierte el cambio dependiente del voltaje hacia la dirección despolarizada. Los efectos de la progesterona sobre los canales iónicos pueden ser reproducidos con gran precisión solo cambiando los parámetros de conductancia (4).

La mayor prevalencia de la enfermedad es en hombres y en algunas regiones, como el Sudeste asiático, la relación de hombre a mujer es de 8:1 (5,6). Se han descrito varias mutaciones en el gen *SCN5A* en el cromosoma 3 implicadas en el SB de origen genético. Las mutaciones en el *SNC5A16* llevan a una pérdida de la función de los canales de sodio por diferentes mecanismos, siendo el genotipo más común encontrado en estos pacientes (alrededor del 20% de los casos). Hasta la fecha, casi 300 mutaciones del *SCN5A* han sido descritas en asociación con el SB (7). Las mutaciones en el gen 1 de la deshidrogenasa glicerol 3 fosfato (*GPDL1*) causa tráfico anormal en los canales de sodio cardiacos en la superficie celular y una reducción de aproximadamente 50% en la entrada de sodio. Las mutaciones en los genes que codifican las subunidades alfa1 y beta2b de los canales de calcio tipo L lleva a una disminución de la corriente de sodio (8). Otros genes recientemente reportados relacionados al síndrome son el *SNC1B*, que modifican la función de las sub-unidades de los canales de calcio, llevando a una disminución de la corriente de sodio afectando el tráfico del ion. El *SNC•B* que codifica las subunidades beta3 de los canales de calcio y lleva a la pérdida de la función de los canales de sodio cardiacos (7,8).

Existen 2 teorías principales para explicar el mecanismo fisiopatológico responsable del SB: las teorías de repolarización y despolarización. La teoría de repolarización es apoyada por estudios en modelos animales al igual que en humanos (3). Aquellos que apoyan esta teoría explican que las manifestaciones electrocardiográficas del SB y el incremento en el riesgo de arritmias ventriculares son consecuencia directa en el cambio del balance en las corrientes iónicas activas durante el final de la fase 1 del potencial de acción (3); la disminución de las corrientes positiva de ingreso y/o aumento de las corrientes positivas de egreso, produciendo un aumento en la hendidura del potencial de acción, llevando a elevación del segmento ST (4,7). Con respecto a la teoría de despolarización, se ha propuesto que el retardo de la conducción es el principal evento fisiopatológicos del SB, lo cual es evidente en algunas electrocardiografías basales (intervalo PR largo, bloqueo completo de rama derecha, etc.). También se propone que mínimas anomalías estructurales son una parte del síndrome, lo cual podría explicar los potenciales tardíos y también puede explicar las anomalías en la conducción (7). La

controversia continua, debido a que existen evidencias que apoyan ambas teorías, lo cual podrían no ser mutuamente excluyentes.

La presentación típica del SB es el síncope, convulsiones o la muerte súbita, dependiendo de la duración de la taquicardia ventricular. Si esta es persistente, degenera en fibrilación ventricular y muerte súbita. Si la taquicardia ventricular es autolimitada y de corta duración produce el síncope (2). Cerca del 10% de los pacientes tienen taquicardia ventricular polimórfica o fibrilación ventricular (9,10). También son importantes los antecedentes familiares de muerte súbita de algún miembro antes de los 45 años y presencia de alteraciones electrocardiográficas tipo I en miembros de la familia (9). Debido a la naturaleza silenciosa e intermitente de los signos electrocardiográficos, el diagnóstico puede ser difícil (10).

En el presente caso, y en ausencia de otra condición, el embarazo desencadenó la presencia de un patrón electrocardiográfico similar al síndrome con presencia de taquicardia ventricular. Las alteraciones electrocardiográficas persistieron después de la cesárea. Aunque el embarazo es una causa común de síncope benigno y de hipotensión postural, en las pacientes que desarrollan el síndrome puede estar asociado a taquiarritmias ventriculares malignas (1). La muerte súbita en los pacientes con el SB generalmente ocurre durante el sueño, particularmente en las primeras horas de la mañana, en pacientes durante la tercera o cuarta década de la vida, aunque se han descrito casos en pacientes de 1 año al igual que en pacientes de 77 años (5,6).

La mortalidad en el síndrome es aproximadamente de 30% en los 2 años siguientes al diagnóstico. El tratamiento del síndrome es difícil debido a que los agentes farmacológicos no son efectivos (3). El abordaje terapéutico debe enfocarse en resolver la patología subyacente y la eventual implantación de un cardiovertor (11).

El SB es una causa prevenible de muerte súbita, y su aparición durante el embarazo, puede llevar a fallos en el diagnóstico que producirían una alta mortalidad. El diagnóstico temprano puede reducir la frecuencia de taquicardias ventriculares y mejorar el diagnóstico de las pacientes.

Referencias

1. Shalev A, Zeller L, Galante O, Shimony A, Gilutz H, Illia R. Symptomatic Brugada unmasked by fever. *Isr Med Assoc J*. 2008;10:548-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Mattu A, Rogers RL, Kim H, Perron AD, Brady WJ. The Brugada syndrome. *Am J Emerg Med*. 2003;21:146-51. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Aksay E, Okan T, Yanturali S. Brugada syndrome, manifested by propafenone induced ST segment elevation. *Emerg Med J*. 2005;22:748-50. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Kurokawa J, Furukawa T. Non-genomic action of sex steroid hormones and cardiac repolarization. *Biol Pharm Bull*. 2013;36:8-12. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Sarkozy A, Chierchia GB, Paparella G, Boussy T, De Asmundis C, Roos M, Henkens S, Kaufman L, Buyl R, Brugada R, Brugada J, Brugada P. Inferior and lateral electrocardiographic repolarization abnormalities in Brugada syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2009;2:154-61. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Bernal O, Moro C. Cardiac arrhythmias in women. *Rev Esp Cardiol*. 2006; 59: 609-18. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Antzelevitch C, Brugada P, Borggrefe M, Brugada J, Brugada R, Corrado D, Gussak I, LeMarec H, Nademanee K, Perez Riera AR, Shimizu W, Schulze-Bahr E, Tan H, Wilde A. Brugada syndrome: report of the second consensus conference. *Circulation* 2005;111:659-70. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Petitprez S, Jespersen T, Pruvot E, Keller DI, Corbaz C, Schläpfer J, Abriel H, Kucera JP. Analyses of a novel SCN5A mutation (C1850S): conduction vs. repolarization disorder hypotheses in the Brugada syndrome. *Cardiovasc Res*. 2008;78: 494-504. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Brugada J, Brugada R, Brugada P. Right bundle-branch block and ST-segment elevation in leads V1 through V3: a marker for sudden death in patients without demonstrable structural heart disease. *Circulation*. 1998;97:457-60. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Schimpf R, Giustetto C, Eckardt L, Veltmann C, Wolpert C, Gaita F, Breithardt G, Borggrefe M. Prevalence of supraventricular tachyarrhythmias in a cohort of 115 patients with Brugada syndrome. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2008;13:266-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Gallahue FE, Uzgiris R, Burke R, Abrahams W. Brugada syndrome presenting as an "acute myocardial infarction". *J Emerg Med*. 2009;37:15-20. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo: Reyna-Villasmil E, Torres-Cepeda D, Santos-Bolívar J, Perozo-Romero J. Síndrome de Brugada durante el embarazo. *Avan Biomed* 2013;2: 154-7

Rotura Uterina Espontánea en embarazo de segundo trimestre: presentación de un caso y revisión de la literatura

(Spontaneous Uterine Rupture in Second Trimester of Pregnancy: Case report and Literature review)

Airam Amoroso Gil ¹✉, Cristian Pino ¹, Carmen Salas¹, Diana Izurieta², Camilo González³, Glennis Márquez⁴, Francis Márquez⁴

¹Residente Asistencial Programado del IVSS, Mérida. ²Residente Asistencial Hospital II del Vigía, Mérida. ³Médico Especialista en Cirugía General Adjunto al Servicio de Cirugía General del IVSS, Mérida ⁴Médico Especialista en Ginecología y Obstetricia Adjunto al Servicio de Ginecología y Obstetricia del IVSS, Mérida. Venezuela.

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 27 de Mayo de 2013. Aceptado: 13 de Octubre de 2013.

Resumen

La rotura uterina se define como la solución de continuidad de la pared uterina. Es una complicación obstétrica poco frecuente y potencialmente letal para la madre y el feto, que ocurre generalmente durante el segundo o tercer trimestre de gestación, y que está asociada principalmente a la cirugía uterina previa, constituyendo así un desafío médico por su difícil diagnóstico diferencial y controversial manejo. Se presenta el caso de una paciente de 26 años de edad, con rotura espontánea de útero grávido de 18 semanas de gestación y antecedente de cicatriz uterina. Se realiza laparotomía exploradora obteniendo como hallazgo placenta y cordón umbilical unido a feto sin vida en cavidad abdominal, lo que confirma diagnóstico intraoperatorio.

Palabras clave

Rotura uterina, Embarazo segundo trimestre, Mortalidad perinatal. Dehiscencia de cicatriz uterina.

Abstract

Uterine rupture is a solution of continuity of the uterine wall. It is an uncommon and potentially lethal obstetric complication, for both mother and fetus, that mainly occurs during the second or third trimester of pregnancy, and that is mainly associated to previous uterine surgery, thus forming a medical challenge for its difficult differential diagnosis and controversial management. We report the case of a 26 years old patient with a spontaneous gravid uterine rupture, 18 weeks of gestation and cesarean scar background. Laparotomy is conducted finding both placenta and umbilical cord attached to no-living fetus in the abdominal cavity, which confirms intraoperative diagnosis.

Keywords

Uterine rupture, second trimester pregnancy, Perinatal mortality, Uterine scar dehiscence.

Introducción

La rotura uterina (RU) es una de las complicaciones más serias del embarazo y del parto. La primera descripción de este accidente fue hecha por el cirujano francés Jacques Guillemeau a fines del siglo XV (1). Durante el embarazo la RU es un evento poco común que generalmente resulta en compromiso del bienestar materno-fetal.

Por definición, la RU incompleta, oculta o simple dehiscencia se trata de esa lesión que no afecta

a todo el espesor del miometrio y su cubierta peritoneal permanece intacta (2). En la RU completa se afecta a todo el espesor de la pared, incluida la serosa, y deja en comunicación la cavidad uterina con la abdominal; se asocia con un sangrado profuso y evidente sufrimiento fetal, expulsión o protrusión fetal y placentaria hacia la cavidad abdominal (3) que hacen necesarias histerorráfia, cesárea e incluso histerectomía (4).

Su incidencia a nivel mundial es muy variable, afectando aproximadamente a 1 de cada 6673 partos

(4) y en la literatura no se describen datos epidemiológicos o genéticos que predispongan al desarrollo de la RU espontánea pero si factores que aumentan el riesgo como cicatriz uterina previa por cesárea, miomectomía o salpingectomía, taquisistolia, sobredistensión uterina, placenta percreta o parto obstruido (5).

Dada la gravedad del proceso y en vista de que su diagnóstico temprano y tratamiento inmediato son importantes factores pronósticos, tanto para la madre como para el feto presentamos un caso clínico de rotura uterina espontánea en una mujer de 26 años de edad que desconocía estado de gravidez y que acude a la emergencia del Hospital "Dr. Tulio Carnevalli Salvatierra" del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales (IVSS) por presentar dolor abdominal de fuerte intensidad y sangrado a través de genitales.

Caso clínico

Paciente: Femenino de 26 años de edad, natural y procedente de la localidad, quien refiere enfermedad actual de dos días de evolución, caracterizado por dolor abdominal de fuerte intensidad de inicio en región periumbilical y posteriormente irradiado a ambas fosas ilíacas, sin acalmia con el uso de analgésicos de uso común. Concomitantemente presenta diarrea y náuseas. Antecedentes Personales: asmática, última crisis en Junio de 2009, grupo sanguíneo: A Rh (+), niega alergias a medicamentos, niega cualquier otra patología crónica degenerativa. Antecedentes Familiares: Niega de importancia. Antecedentes gineco-obstétricos: menarquía: 13 años; ciclos menstruales: irregulares de 4 a 5 días de duración; sexarquía: 15 años; anticonceptivos orales: niega; cesárea segmentaria en el 2009 por desproporción céfalo-pélvica. Fecha de última menstruación: incierta.

Al examen funcional la paciente refiere dolor abdominal de fuerte intensidad a predominio de ambas fosas ilíacas, náuseas, anorexia, evacuaciones líquidas y sangrado leve a través de genitales en escasa cantidad de un día de evolución que concuerda con el comienzo de su menstruación. Al examen físico: tensión arterial dentro de parámetros normales, taquicárdica, taquipneica, afebril, hidratada, pupilas normo-reactivas, mucosa oral húmeda, abdomen globoso a expensas de panículo adiposo; ruidos hidroaéreos presentes y doloroso a la palpación profunda; signos de Blumberg, Mc Burney, Rovsing y puño percusión derecha positivos, mientras que los del Psoas, Obturador, Dunphy y puntos ureterales

(superiores y medios) están ausentes; genitales externos no explorados, miembros eutróficos sin edema, neurológico conservado vigil activa y con un Glasgow de 15/15.

En vista de clínica de irritación peritoneal, es valorada por el servicio de Cirugía General, quienes indican realizar paraclínicos y mantener en área de observación ante la sospecha de un abdomen agudo infeccioso para confirmación de impresión diagnóstica. No se realiza prueba monoclonal ni examen físico ginecológico, ya que expone inicio de período menstrual el día anterior. Se solicita eco abdominal, pero la institución no contaba con el recurso en ése momento. Es ingresada bajo el diagnóstico de: Abdomen Agudo Quirúrgico Infeccioso: Apendicitis Aguda. Debido a descompensación hemodinámica FC: 106 x minuto, TA: 100/60 mmHg. FR: 22 x minuto es revalorada y se decide llevar a mesa operatoria para realizar laparotomía exploratoria media infraumbilical, de la cual se halla: 300cc de sangre y placenta libres en cavidad abdominal, esta última con cotiledones completos de 10 por 15 cm, no adherida a órganos intraabdominales; el cordón umbilical con sus tres elementos uniendo a placenta, feto sin vida en bolsa amniótica de aproximadamente 18 semanas de gestación; peso: 455 gr, talla: 32 cm; (Fig. Nº 1); segmento inferior con pérdida de continuidad en su cara anterior de aproximadamente 6 X 4 cm que compromete el espesor del miometrio y la serosa (Fig. Nº 2)



Figura 1. Feto sin vida de 455g de peso en bolsa amniocoreal unido a placenta.

Ante hallazgos se solicita la intervención del obstetra de guardia, quien posterior a la evaluación de la zona de rotura procede a la limpieza quirúrgica de la cavidad uterina con cureta cortante, extrayéndose moderados restos placentarios y posterior

histerorráfia con sutura crómico número uno. Se comprueba hemostasia y el servicio de cirugía se encarga de la síntesis por planos de la cavidad abdominal hasta piel. Egresada de sala operatoria con diagnóstico de: postoperatorio de laparotomía exploradora media infraumbilical por abdomen agudo quirúrgico: rotura uterina espontánea. La paciente es asumida por ambos servicios y es egresada luego de las 48 horas de hospitalización, no hace falta la transfusión de hemocomplementos en vista de la hemoglobina de la paciente se mantuvo en 11 mg/dl. Y las condiciones clínicas de la paciente mejoraron significativamente.

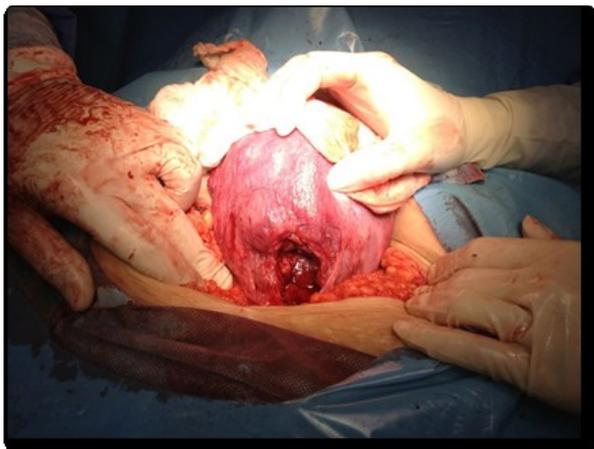


Figura 2. Solución de continuidad de 6x4cm aproximadamente en segmento inferior uterino

Discusión

En los comienzos de este siglo la mortalidad materna por RU era de aproximadamente el 50%. Desde entonces se ha logrado una progresiva disminución, habiéndose llegado en años recientes a alrededor del 5%. Este cambio es el resultado de un diagnóstico temprano basado en la identificación de factores de riesgo, de un tratamiento más efectivo, con disponibilidad de sangre y hemoderivados y los progresos en la técnica quirúrgica (6).

Según Esteban Castro y Cols., la causa más frecuente de la RU es la cicatriz uterina previa por intervenciones quirúrgicas anteriores como cesárea, miomectomías, salpingectomías, perforaciones uterinas o placenta percretas (7), pero en la paciente este factor de riesgo no fue tomado en cuenta en vista de negar conocimiento de gestación actual, y referir inicio de la menstruación el día anterior. Sin embargo, según Hlibczuk V., más de 80% de las roturas uterinas son espontáneas y sin ninguna explicación obvia (8),

por lo cual se hace imperioso identificar los signos clínicos de la RU para poder lograr un buen diagnóstico diferencial ya que su clínica va a depender de muchos factores, tales como: el origen, momento de rotura, grado de extensión, entre otras según lo establecido por la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO)(9).

Los síntomas y signos clínicos pueden ser graduales o abruptos. Se han descrito los síntomas premonitores de rotura uterina en útero sin cicatriz previa como: hiperdinamia, estado de ansiedad, distensión y abombamiento del segmento inferior junto con su localización supraumbilical. En la amenaza de rotura de la cicatriz de cesárea previa, los síntomas son menos llamativos, manifestándose de forma irregular, mayor sensibilidad suprapúbica, eventual hemorragia vaginal y alteración de la frecuencia cardíaca fetal (9). Es por ello muy sencillo confundirla con otros cuadros clínicos como abdomen agudo quirúrgico, apendicitis, desprendimiento prematuro de placenta, etc., teniendo éstas como signo cardinal el dolor abdominal agudo. En el caso descrito, el dolor abdominal de fuerte intensidad, la presencia de vómitos y diarrea y los signos apendiculares positivos, llevan a la impresión diagnóstica de apendicitis aguda.

Durante la RU el dolor abdominal agudo suele aparecer en el acmé una contracción uterina intensa, que se describe como sensación de desgarro y que se irradia a todo el abdomen e incluso al hombro por irritación peritoneal, cese brusco de las contracciones y palpación abdominal de partes fetales debajo de la pared con mayor facilidad (si hay expulsión fetal) y un útero duro, contraído, por encima del segmento inferior; la FCF presenta un patrón patológico (DIPS II), que progresivamente pasará a ser una bradicardia grave y posteriormente se hará negativa. La hemorragia vaginal de diverso grado, que puede estar ausente, y en muchos casos no explica el estado hemodinámico de la paciente. El progresivo deterioro del estado general con signos de anemia aguda, entrando en un estado de shock hemorrágico (sangrado) y neurogénico (irritación peritoneal) (9). La paciente del caso llegó a la sala de emergencia iniciándose ya los signos de la RU y fue por la inestabilidad hemodinámica que se lleva a mesa operatoria.

En el estudio ecográfico para el diagnóstico de RU generalmente evidencia útero lateralizado y feto en situación transversa en cavidad abdominal con o sin latido cardíaco (3) pero en este caso no se contó con dicho recurso.

La rápida repuesta ante los hallazgos clínicos e imagenológicos actualmente han permitido reducir la mortalidad fetal del 65 al 6% (12). La extracción inmediata del feto, si se produce antes de 10-30 min después de la rotura, puede evitar la muerte fetal o complicaciones como sufrimiento fetal (10). En caso de extrusión del feto o la placenta a través de la pared uterina, el daño fetal irreversible se produce en menos tiempo (3).

Existen tres factores importantes para mejorar el pronóstico de este cuadro:

- Pensar en la posibilidad de una rotura uterina, lo que implica conocer sus causas y formas anatómicas.
- Reconocer los síntomas y establecer un diagnóstico precoz sustentado en hallazgos imagenológicos.
- Realizar un tratamiento inmediato, que incluye laparotomía, medidas de soporte y profilaxis antibiótica (9).

Referencias

1. Castro Anaya E, Díaz Infante A. Hace 55 años. Rotura Uterina. *Ginecol Obstet Mex* 2010; 78:254-8. [[Google Scholar](#)]
2. Martínez-Garza PA, Robles-Landa LPA, Roca Cabrera M, Visag-Castillo VJ, Reyes-Espejel L, García-Vivanco D. Rotura uterina espontánea: reporte de dos casos. *Cir Cir.* 2012; 80: 81-5. [[Google Scholar](#)]
3. Cabrero L, Saldívar D. Operatoria Obstétrica. Una visión actual. Editorial Panamericana. 2009 p: 263-9.
4. O'Driscoll K. Catastrophes in labour. Rupture of the uterus. *Proc R Soc Med.* 1966; 59: 65-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Barton JR, Sibai, BM. Sepsis severa y choque séptico durante el embarazo. *Obstet Gynecol* 2012; 120: 689-706. [[Google Scholar](#)]
6. Castellà Domenecha A, Carabias Meseguera P, Tresserra Casasb F, Barri Soldevilaa P. Uterine rupture. Diagnosis and repercussions at 30 weeks of pregnancy. *Progres Obstet Ginecol.* 2010; 53: 69-71. [[Google Scholar](#)]
7. García Ildefonso JE; Molina Vílchez R. Rotura uterina: frecuencia, factores de riesgo y conducta quirúrgica. *Gac Méd Caracas* 2001; 109:361-6 [[Google Scholar](#)]
8. Passini Júnior R, Knobel R, Barini R, Marussi E. Placenta percreta with silent rupture of the uterus. *Sao Paulo Med J.* 1996; 114: 1270-3 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Zapardiel I, De la Fuente J, Bajo J. Guía Práctica de Urgencia en Obstetricia y Ginecología (acorde a los protocolos de la SEGO). Habe. Madrid, España. 2008.
10. Hlibczuk V. Spontaneous uterine rupture as an unusual cause of abdominal pain in the early second trimester of pregnancy. *J Emerg Med.* 2004;27: 143-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Nahum GG, Pham KQ, Cowan BD. Uterine rupture in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2005; 106 (5 Pt 2): 1150-2. [[PubMed](#)]
12. Lydon-Rochelle M, Holt VL, Easterling TR, Martin DP. Risk of uterine rupture during labor among women with a prior cesarean delivery. *N Engl J Med.* 2001; 345: 3-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo: Airam Amoroso Gil, Cristian Pino, Carmen Salas, Diana Izurieta, Camilo González, Glennis Márquez, Francis Márquez, Rotura Uterina Espontánea en embarazo de segundo trimestre: presentación de un caso y revisión de la literatura. *Avan Biomed* 2013;2: 158-61.

Mutación de novo en el gen BTK en agammaglobulinemia ligada a X. Reporte de un caso del estado Mérida, Venezuela

(De novo mutation in BTK gene in X-linked agammaglobulinaemia. A case report in Mérida, Venezuela)

Liliana Aboutaif Aboutaif¹, Lubna Nasr El Nimer¹, Maritza Navas², Lerida Borges², José Angel Cova², Silvia Danelian³, Morella Bouchard² ✉

¹ Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. ² Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. ³ Servicio de Inmunología, Hospital de Pediatría Dr. "Juan P. Garrahan", Buenos Aires, Argentina

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 11 de Abril de 2013. Aceptado: 1 de Agosto de 2013.

Resumen

Las inmunodeficiencias primarias (IDPs) son un conjunto de enfermedades caracterizadas por defectos en el desarrollo y/o función del sistema inmune debido a anomalías genéticas en cualquiera de sus componentes. Las deficiencias de anticuerpos son las IDPs más comunes y dentro de estas la agammaglobulinemia congénita representa el 10%, siendo un 85% ligada al cromosoma X, existiendo también formas autosómicas recesivas. La agammaglobulinemia ligada a X (ALX) consiste en la ausencia casi absoluta de linfocitos B, ocasionando incapacidad de sintetizar anticuerpos y una alta susceptibilidad a la adquisición de infecciones, con respuesta a vacunas disminuida o ausente. Se presenta el caso de un escolar masculino de 8 años de edad quien desde los 5 meses presentó infecciones a repetición principalmente por bacterias extracelulares encapsuladas. Estudios paraclínicos revelaron hipogammaglobulinemia persistente con subpoblación de linfocitos B muy disminuida y conservación de linfocitos T en sangre periférica. El estudio molecular reportó la mutación R525X en el exón 16 del gen TirosinKinasa de Bruton (BTK) en el paciente y su madre, más no en la abuela, lo que confirmó el diagnóstico de ALX y permitió concluir que se trataba de una mutación de novo en la madre. Actualmente recibe tratamiento con Inmunoglobulina por vía endovenosa, disminuyendo la frecuencia y severidad de episodios infecciosos. El diagnóstico precoz a través del reconocimiento de las señales de alarma de las IDPs, junto al tratamiento adecuado y vigilancia constante constituyen la mejor herramienta para el adecuado manejo de los pacientes con IDPs, logrando una disminución de los procesos infecciosos e inflamatorios y sus secuelas, así como también mejorar la calidad de vida y supervivencia.

Palabras clave

Inmunodeficiencia humoral, ALX, Tirosin-Kinasa de Bruton, Inmunoglobulinas.

Abstract

The Primary Immunodeficiencies (PIDs) are a group of diseases characterized by defects in the development or function of the immune system due to genetic abnormalities in any of its components. Humoral immunodeficiencies are the most common PIDs and the congenital agammaglobulinemia represents 10%, and 85% linked to the X chromosome. Also there exist autosomal recessive forms. X-Linked agammaglobulinemia (XLA) is characterized by almost a total absence of B-lymphocytes, causing inability to produce antibodies and a high susceptibility to infection and diminished or absent response to vaccine. We reported an 8 year-old male child who presented repeatedly infection by extracellular encapsulated bacteria since 5 months of life. The laboratory studies revealed persistent hipogammaglobulinemia with diminished B-lymphocytes subpopulation and normal T-lymphocytes cell in peripheral blood. The molecular study showed a mutation R525X in the 16-exon of Bruton's tyrosine kinase (BTK) gene in both child and mother, but not in grandmother, thus confirming the XLA diagnostic and allowing to conclude that a de novo mutation had occurred in mother. Actually, the patient receives intravenous immunoglobulin treatment and the infections have diminished in both frequency and severity. Early diagnostic through recognition of the warning signs of PIDs next to the appropriate treatment and monitoring is the best tool for the proper management of patients with PIDs, achieving a reduction of that inflammatory process, infections and damage as well as a better quality of life and survival.

Keywords

Humoral Immunodeficiency, XLA, Bruton's Tyrosin-Kinase, Immunoglobulins.

Introducción

Las inmunodeficiencias primarias (IDPs) son un conjunto de enfermedades caracterizadas por defectos en el desarrollo y/o función del sistema inmune debido a una o varias anomalías genéticas en cualquiera de sus componentes como células fagocíticas, células T, células B, y proteínas del complemento.

Estos trastornos son principalmente hereditarios pero pueden surgir como mutaciones de novo que luego se heredan. En su mayoría se detectan en edades pediátricas y su prevalencia varía de acuerdo a la IDP que se considere, siendo de 1:500 para el déficit de IgA, la más común aunque generalmente asintomática, o de 1:100.000 para la inmunodeficiencia combinada severa, síndromes de disregulación inmune y déficits de complemento, menos frecuentes pero de mayor severidad (1, 2).

Las deficiencias de anticuerpos son las IDPs más comunes. Existen varios tipos de enfermedades de severidad variable, siendo las infecciones recurrentes la manifestación clínica principal. En este grupo se describen el déficit selectivo de IgA, la hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, la agammaglobulinemia congénita, los defectos en la recombinación de cambio de clase (síndromes de hiper-IgM), la inmunodeficiencia variable común, el déficit de subclases de IgG y el déficit de anticuerpos específicos (3).

La agammaglobulinemia congénita se caracteriza por la ausencia casi absoluta de linfocitos B, lo que determina la incapacidad de sintetizar anticuerpos, generando una susceptibilidad aumentada a la adquisición de infecciones bacterianas y virales, con respuesta a vacunas disminuida o ausente.

Es transmitida por un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X, por lo que los varones son los afectados y las madres son las portadoras. Sin embargo, sólo el 50% de los pacientes con cuadro clínico tienen antecedentes familiares del fenotipo clínico, ya que el trastorno genético se mantiene en la población por nuevas mutaciones (de novo) en el gen BTK (4).

Se presenta el caso de un niño diagnosticado a los 7 meses con agammaglobulinemia donde el estudio genético familiar demostró la presencia de una mutación de novo.

Caso clínico

Escolar masculino de 8 años, quien a los 5 meses de edad presentó otitis media y episodios de diarreas acompañadas de fiebre. A los 6 meses fue hospitalizado durante 9 días, por una infección del sistema nervioso central (meningitis) y bronconeumonía, que mejoraron hasta su resolución con antibioticoterapia. A los 7 meses de edad el paciente fue evaluado en nuestra institución encontrándose: linfocitosis en la cuenta y fórmula diferencial blanca (64,5%), anemia leve y una hipogammaglobulinemia persistente, por lo que se establece el diagnóstico de Inmunodeficiencia Primaria de tipo Humoral (tabla 1). Así mismo se realizó subpoblación linfocitaria evidenciándose en el paciente una marcada disminución de linfocitos B CD19+ (8,24% versus 0,58%) cuando se comparó con un sujeto sano de la misma edad. La subpoblación de células TCD3+ mostró valores normales en número pero con una inversión de la relación CD4/CD8 de 0,71.

A los 8 meses, posterior a traumatismo craneal, presenta hematoma subgaleal en región temporo-parietal izquierda que luego de varios días se infecta y amerita nueva hospitalización para recibir antibióticos y drenaje del hematoma. El paciente permanece asintomático y no vuelve al control hasta los 14 meses de edad cuando presenta nuevamente una infección respiratoria baja, requiriendo otra hospitalización y el uso de antibióticos. Desde esta última hospitalización el paciente presenta amigdalitis frecuentes y síndromes gripales sin complicaciones. Reingresa a la consulta y se inicia tratamiento con Inmunoglobulinas (Igs) por vía endovenosa (vev). Se le ha realizado seguimiento por 7 años y actualmente recibe cada 21 días Igs vev a dosis de 400 mg/Kg y antibioticoterapia profiláctica, disminuyendo la frecuencia y severidad de sus episodios infecciosos, caracterizados principalmente por bronquitis, en número de 3 por año y diarrea causada por *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*.

Para confirmar el diagnóstico de Agammaglobulinemia ligada a X se realizó el estudio molecular para la búsqueda de mutaciones en el niño, la madre y la abuela. El análisis de las mutaciones en el gen BTK fue realizado en el ADN genómico identificando los patrones de migración anormal de los productos amplificados por PCR-SSCP (Polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism), utilizando oligonucleótidos que

flanquean cada uno de los 19 exones, incluyendo los sitios de empalme.

que se trataba de una mutación de novo en la madre (Figura 1).

Tabla 1. Resultados de exámenes de laboratorio al momento del diagnóstico.

Exámenes	Resultados	Valores normales
Laboratorio general	Al 10/05/2005	
Glóbulos blancos	10.200 células/ μ L	5.000-10.000 células/ μ L
Segmentados	29,8%	
Linfocitos	64,5%	
Monocitos	5,7%	
Hemoglobina	10.5 g/dL	12 – 16 g/dL
Plaquetas	292.000 células/ μ L	150.000-450.000 células/ μ L
Inmunoglobulinas (mg/dL)	PRE tto lgs vev (10/05/2005)	VR según edad
IgG	< 230	220-900
IgA	0	4-90
IgM	<23	32-125
Inmunoglobulinas (mg/dL)	POST tto lgs vev (15/05/2005)	VR según edad
IgG	864	650-1600
IgA	49,4	35-200
IgM	21,5	45-200
Subpoblación linfocitaria	Células/mL (%)	Células/mL (%)
CD3+	3415 (93)	1700-3600 (58-67)
CD4+	1359 (37)	1700-2800 (38-50)
CD8+	1909 (52)	800-1200 (18-25)
CD19+	37 (1)	500-1500 (19-31)
Diagnóstico molecular		
Mutación en gen BTK	R525x	

Tto lgs vev: tratamiento de Inmunoglobulinas via endovenosa, VR: valores de referencia.

Se identificó un amplicon migrando diferente de los amplicones BTK “normales” el cual fue sometido a secuenciación utilizando terminadores de cadena estándar con el ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing system en el Secuenciador automático ABI 310, PE Applied Biosystems (5). Se identificó la mutación R525X en el exón 16 en el paciente y su madre, más no en la abuela, por lo cual se concluyó

Discusión

Las agammaglobulinemias constituyen el 10% de las IDPs, estando representada un 85 % por la agammaglobulinemia ligada a X (ALX) (6). Ésta consiste en un defecto localizado en el brazo largo del

cromosoma X, producto de una mutación de la Tirosina Kinasa de Bruton (BTK).

de los valores protectores, como en el caso descrito en este artículo. Entre las infecciones más frecuentes se

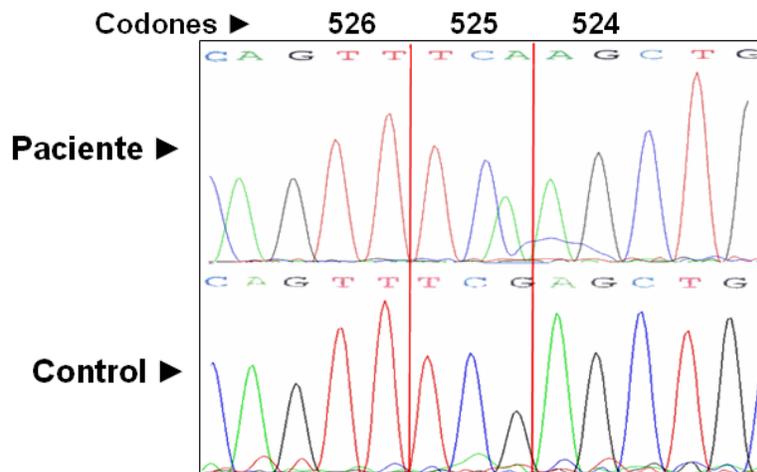


Figura 1. Electroferograma parcial correspondiente a la secuenciación reversa del exón 16 de BTK. En la parte superior se observa la imagen del paciente y en la parte inferior la de un control. Las líneas rojas verticales delimitan el codón 525 en el cual se encuentra la sustitución puntual 1573C>T, que se traduce como CGA(R)525TGA(X).

La proteína BTK forma parte de una familia de proteínas tirosina kinasa citoplasmáticas, que cumplen el rol de transductores de señalización intracelular permitiendo el adecuado funcionamiento del receptor de células B (BCR) (6). Al existir mutación en el gen que codifica para la proteína se produce un bloqueo temprano en el desarrollo de las células B en médula ósea, lo que determina su ausencia en sangre periférica y tejidos linfoides (7). Aproximadamente en un tercio de los pacientes estas mutaciones son de nueva aparición (de novo) (8). Han sido identificadas 450 mutaciones BTK diferentes y en el caso de la R525X, descrita en nuestro paciente, han sido reportados 6 casos (<http://bioinf.uta.fi/BTKbase/>), la misma corresponde a una mutación sin sentido en el exón 16 que conduce a un codón de finalización en el dominio TK (tirosinkinasa).

En esta enfermedad la subpoblación de células T y pro B están conservadas, con ausencia de células B maduras y de anticuerpos, lo que la cataloga como una inmunodeficiencia humoral, condicionando una alta susceptibilidad a la aparición de enfermedades producidas por patógenos extracelulares encapsulados y predisposición a enfermedades autoinmunes y linfomas (9).

Las manifestaciones clínicas aparecen por lo general después de los 6 meses de edad cuando el aporte de anticuerpos maternos adquiridos in útero y a través de la lactancia materna declinan por debajo

encuentran las que involucran vías respiratorias altas y bajas, que pueden conducir a bronquiectasias. Otras menos comunes son la conjuntivitis, gastroenteritis, artritis, meningitis, encefalitis, osteomielitis, septicemia, infecciones por hongos y tuberculosis (1, 7, 9, 10).

El diagnóstico se establece mediante las manifestaciones clínicas del paciente, el examen físico que evidencia disminución del tamaño de nódulos linfáticos cervicales, amígdalas palatinas, bazo y retardo en el crecimiento (7), estudios paraclínicos como la cuantificación de los isotipos de inmunoglobulinas, las cuales van a estar marcadamente disminuidas especialmente la IgG, con una respuesta notablemente deprimida de anticuerpos ante diferentes tipos de antígenos. Otra prueba que orienta hacia el diagnóstico es la existencia de una subpoblación de linfocitos B ausentes o muy disminuidos, con celularidad T conservada. El diagnóstico certero se realiza con el análisis genético en donde se determina una alteración en la Tirosina kinasa de Bruton (7, 9, 10). Todos estos criterios diagnósticos fueron completados en el caso descrito en este artículo.

Se debe realizar diagnóstico diferencial con patologías más frecuentes como la hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia que es una enfermedad común y benigna, que se presenta hacia el cuarto o quinto mes de vida debido a una disminución en la concentración de IgG sérica que

puede persistir hasta los 18 a 24 meses, por lo que es de carácter transitorio, en ella esta conservada la subpoblación de linfocitos B circulantes con adecuada respuesta de anticuerpos específicos ante antígenos proteicos. Otro diagnóstico diferencial es la inmunodeficiencia variable común donde hay hipogammaglobulinemia de 2 isotipos con celularidad T conservada. La inmunodeficiencia con hiper-IgM es otra inmunodeficiencia humoral que presenta la misma clínica con disminución de los niveles sérico de IgG, IgA e IgE con la diferencia de que la IgM se encontrará elevada y la celularidad B esta conservada. Existen otras enfermedades que es importante tenerlas presentes al momento de realizar el diagnóstico diferencial como el síndrome linfoproliferativo ligado al X, entre otras (2, 9, 11).

El tratamiento consiste en el remplazo de Igs que reduce la frecuencia de aparición de enfermedades infecciosas principalmente neumonías, teniendo siempre presente la importancia del uso de antibioticoterapia potente en el tratamiento de

infecciones bacterianas. Los avances en la biología molecular y la genética, aunado al descubrimiento de la alteración genética que causa la ALX colocan a la terapia génica como una alternativa de tratamiento a futuro (2, 7, 9, 10).

Por último se debe destacar la importancia del diagnóstico precoz de las IDPs ya que el diagnóstico y tratamiento correctos conducen a una disminución de las infecciones y secuelas, un control de las manifestaciones inflamatorias y una mejor calidad de vida. El primer paso para el diagnóstico es la sospecha clínica y en este orden de ideas se han identificado diversas señales llamadas de alarma que alertan al médico de la existencia de esta patología como lo son: 4 o más infecciones de oído por año, 2 o más neumonías en un año, infecciones recurrentes en piel, abscesos profundos, aftas persistentes en boca, infecciones profundas a repetición, talla y peso bajos, necesidad de antibioticoterapia profiláctica y antecedentes familiares de inmunodeficiencias primarias (3, 12, 13).

Referencias

1. Pessach IM, Notarangelo LD. Gene therapy for primary immunodeficiencies: looking ahead, toward gene correction. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127: 1344-50. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. de Vries E, Driessen G. Educational paper: Primary immunodeficiencies in children: a diagnostic challenge. *Eur J Pediatr.* 2011; 170: 169-77. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Fischer A, Franco JL, Geha RS, Hammarström L, Nonoyama S, Notarangelo LD, Ochs HD, Puck JM, Roifman CM, Seger R, Tang ML. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency. *Front Immunol.* 2011; 2: 54. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Conley ME, Dobbs AK, Farmer DM, Kilic S, Paris K, Grigoriadou S, Coustan-Smith E, Howard V, Campana D. Primary B cell immunodeficiencies: comparisons and contrasts. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27: 199-227. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Danielian S, El-Hakeh J, Basílico G, Oleastro M, Rosenzweig S, Feldman G, Berozdnik L, Galicchio M, Gallardo A, Giraudi V, Liberatore D, Rivas EM, Zelazko M. Bruton tyrosine kinase gene mutations in Argentina. *Hum Mutat.* 2003; 21:451. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Arnaldez F, Danelian S, Bezrodnik L.. Diagnóstico y portación de agammaglobulinemia ligada al cromosoma X en una familia. *Arch Argent Pediatr.* 2006; 104: 39-43. [[Google Scholar](#)]
7. Moise A, Nedelcu FD, Toader MA, Sora SM, Tica A, Ferastraoaru DE, Constantinescu I. Primary immunodeficiencies of the B lymphocyte. *J Med Life.* 2010; 3: 60-3. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Havlicekova Z, Jesenak M, Freiburger T, Banovcin P. X-linked agammaglobulinemia caused by new mutation in BTK gene: A case report. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2013; doi: 10.5507/bp.2013.011. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Fernandez D, Juri MC, Paolini MV, Malbran A. Inmunodeficiencias humorales un estudio en tres centros de inmunología clínica de adultos en la ciudad de buenos aires. *Medicina.* 2011; 71: 350-56 [[Google Scholar](#)]
10. Ballow M. Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 109: 581-91. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Driessen G, van der Burg M. Educational paper: primary antibody deficiencies. *Eur J Pediatr.* 2011; 170: 693-702. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Román MG, Yamazaki MA, Blancas L. Evolución satisfactoria de un paciente diagnosticado en la infancia con enfermedad de Bruton. *Rev Alergia Méx.* 2010; 57: 164-70 [[Google Scholar](#)]
13. Arkwright PD, Gennery AR. Ten warning signs of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. *Ann N Y Acad Sci.* 2011; 1238: 7-14. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo: Aboultaif Aboultaif L, Nasr El Nimer L, Navas M, Borges L, Cova JA, Danielian S, Bouchard M. Mutación de novo en el gen BTK en agammaglobulinemia ligada a X. Reporte de un caso del estado Mérida, Venezuela. *Avan Biomed.* 2013; 2: 162-6

Instrucciones a los autores

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

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

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

Tipos de publicación y distribución:

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

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

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

Referencias:

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

Revistas:

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

Libros:

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

Sitio web:

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

Declaración de los autores y transferencia de derechos

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

Sistema de arbitraje

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

Instructions for authors

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

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

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

Types of publication and distribution:

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

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

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

References:

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

Journals:

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

Books:

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

Web site:

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

Author's declaration and Copyright transfer

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

Arbitrage system

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

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

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

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

De conformidad con estas normas:

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

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

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

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

Publication Ethics & Malpractice Statement

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

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

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

In accordance with these rules:

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

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

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

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



Tabla de contenido

EDITORIAL

- 112-113 **El preciso definir de la salud.**

Fadlalla Bahsas Bahsas

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 114-120 **Modificaciones hemodinámicas y metabólicas maternas secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal**

Hemodynamical and metabolic modifications secondary to betamethasone use for fetal lung maturity

Keibis Jiménez-Castillejo, Yolima Ruiz-Lopez, Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Jhoan Aragón-Charris, Jorly Mejía-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil

- 121-126 **Hallazgos citogenéticos en los pacientes de la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela**

Cytogenetic findings in the patients of the Unit of Medical Genetics University of Los Andes, in Mérida, Venezuela

Dionora Araque, Francisco Cammarata-Scalisi, María Angelina Lacruz-Rengel, Fabiola López

- 127-136 **Niveles del factor de crecimiento derivado de plaquetas en el plasma rico en plaquetas antes y después de antiagregantes plaquetarios**

PDGF levels in platelet-rich plasma before and after anti platelets drugs

Maczy González, Melvis Arteaga-Vizcaíno, Ana Ruiz, Olga Briceño, Maribel Quintero, Ricardo Atencio, Mariluz Benito, Marisol Benito, Richard Flores.

REVISIONES Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

- 137-153 **Plataformas de expresión en plantas de péptidos humanos terapéuticos: expresión transitoria y estable.**

In plant expression platforms of therapeutic human peptides: transient and stable expression

Arnaldo Noguera, Gustavo Fermín.

CASOS CLÍNICOS

- 154-157 **Síndrome de Brugada durante el embarazo**

Brugada syndrome during pregnancy

Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Juan Perozo Romero

- 158-161 **Rotura Uterina Espontánea en embarazo de segundo trimestre: presentación de un caso y revisión de la literatura**

Spontaneous Uterine Rupture in Second Trimester of Pregnancy: Case report and Literature review



Avances en Biomedicina
Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica
Mérida-Venezuela
Volumen 2(3), Sep-Dic 2013
Copyright: © ULA 2013
Depósito Legal: PPI201102ME3935
ISSN: 2244-7881

Airam Amoroso Gil, Cristian Pino, Carmen Salas, Diana Izurieta, Camilo González, Glennis Márquez, Francis Márquez

162-166 **Mutación de novo en el gen BTK en agammaglobulinemia ligada a X. Reporte de un caso del estado Mérida, Venezuela**

De novo mutation in BTK gene in X-linked agammaglobulinaemia. A case report in Mérida, Venezuela

Liliana Aboultaif Aboultaif, Lubna Nasr El Nimer, Maritza Navas , Lerida Borges, José Angel Cova, Silvia Danelian, Morella Bouchard

167 **INSTRUCCIONES A LOS AUTORES**

168 **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**

169-170 **ÉTICA DE LAS PUBLICACIONES & DECLARACIÓN DE MALA PRAXIS/ PUBLICATION ETHICS & MALPRACTICE STATEMENT**