

ARCHIVOS

de la Facultad de

MEDICINA

de Zaragoza

Volumen 43

Núm. 1

Abril 2003

Revisiones

- In illo tempore (Aguja para navegar ingenuos)
- 50 años de anestesiología española (1953-2003)

Originales

- Características clínicas de una serie de 134 pacientes con infarto lacunar
- Acupuntura en relación al dolor, actividad física y la necesidad del apoyo para la marcha, en el posoperatorio de las quirurgías artroscópicas en la rodilla

Casos clínicos

- Inhalación ocupacional de gases de cloruro de polivinilo (PVC) sobrecalentado. Revisión de la literatura
- Carcinoma adenoide quístico: un tumor de mama infrecuente
- Respuesta inmune en niños con infección intestinal por *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* y *Enterobius vermicularis*
- Artrogriposis múltiple congénita. Comunicación de un caso y revisión de los aspectos actuales de mayor interés
- Crisis convulsiva asociada a Mefloquina

DIRECTORA

Begoña Martínez Jarreta

SECRETARIA

Milagros Bernal Pérez

COMITE EDITORIAL

Arturo Vera Gil

Fco. José Carapeto Márquez de Prado
José Miguel Morales Asín
Enrique Martínez Ballarín
Jorge Albareda Albareda
Jesús Escanero Marcén
Fco. Javier Suárez Pinilla
Ignacio Querol Nasarre
Adjuntos al Decano para Estudiantes

Por la Diputación General de Aragón:

Alfonso Vicente Barra
Director Gerente del Servicio Aragonés de la Salud

CONSEJO DE REDACCION

María Dolores Abós Olivares
Carlos Aibar Remón
Julia Aisa Fernández
Octavio Alda Torrubia
Juan Antonio Amiguet García
María Jesús Azanza Ruiz
Félix Barro Comps
Máximo Bartolomé Rodríguez
Carlos Baselga Asensio
Luisa Bernad Pérez
María Milagros Bernal Pérez
Julia Blasco Oquendo
José Bueno Gómez
Manuel Bueno Sánchez
Fco. J. Carapeto Márquez de Prado
Francisco Javier Castillo García
Jesús Cebollada Muro
Pedro Cía Gómez
Antonio Clavel Parilla
Francisco Conget López
Javier Deus Fombellida
Fernando Dolado Arnal
Jesús Fernando Escanero Marcén

Asunción Escolar Castellón
Juan de Dios Escolar Castellón
Ernesto Fabre González
Ignacio Ferreira Montero
Jesús M^º Garragori Otero
Felicito García-Alvarez Alvarez
Ana Isabel García Felipe
Juan Carlos Giménez Morales
Armando Giner Soria
Virginia Gómez Aracil
Luis Ignacio Gómez López
Rafael Gómez Lus
Manuel González González
Matilde Grasa Jordán
Miguel Ángel de Gregorio Ariza
Gabriel Guillén Martínez
Martín Gutiérrez Martín
Araceli Hernández Vitoria
Francisco Honrubia López
Concepción Junquera Escribano
Francisco Javier Lanuza Giménez
Jesús Lázaro Pérez
Antonio Lobo Satué

Ricardo Lozano Mantecón
Guillermo Marcos Aragües
Enrique Martínez Ballarín
Carmen Martínez Ciriano
Mariano Martínez Díez
Begoña Martínez Jarreta
Diana Martínez Tello
Tomás Martínez Terrer
Mariano Mateo Arrizabalaga
José M^º Miguelena Bobadilla
Antonio Millastre Benito
Consuelo Miqueo Miqueo
Francisco Morales Asín
Carlos Morales Blánquez
María José Morandeira García
José Luis Nieto Amada
José Luis Olivares López
Fco. J. Ortego Fernández de Retana
Daniel Palanca Martín
José María Pérez González
María Pilar Pérez Hiraldo
Ignacio Querol Nasarre
Feliciano Ramos Fuertes
Juan Antonio Redondo Marco

Alfonso del Río Ligorit
Luis Angel Rioja Sanz
Soledad Romero Colás
Fco. J. Romero Fernández
Emilio Rubio Calvo
María Carmen Rubio Calvo
Miguel Rubio Nacher
Ricardo Sáinz Samitier
José Carlos Salinas Payer
René Sarrat Torreguitart
Antonio Sarriá Chueca
Fernando Seral Iñigo
Dolores Serrat Moré
Blanca Sinués Porta
Francisco Javier Suárez Pinilla
Miguel Angel Suárez Pinilla
Ana Torres del Puerto
Alejandro Tres Sánchez
José Gabriel Valdivia Uría
Héctor Vallés Varela
Javier Villagrasa Compaired
José Lucio Villavieja Atance
Jaime White Orozco

Publicación cuatrimestral
Copyright © Facultad de Medicina
I. S. S. N.: 0558-6291
Depósito legal: Z-44-1958

Preimpresión e impresión:
Navarro & Navarro Impresores

Archivos de la Facultad
de Medicina de Zaragoza se
distribuye exclusivamente entre
los profesionales de la Medicina

Publicación autorizada
por el Ministerio de Sanidad,
como soporte válido
Ref. 88020-R

ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA



SUMARIO

VOLUMEN 43, NUMERO 1, ABRIL DE 2003

REVISIONES

In illo tempore (Aguja para navegar ingenuos)

J.F. Escanero

50 años de anestesiología española (1953-2003)

F.J. Lafuente, J.A. Tobajas, M.T. Rosell, M.C. Alagón, P. Pérez, A.C. Marín

ORIGINALES

Características clínicas de una serie de 134 pacientes con infarto lacunar

S. Santos, T. Casadevall, C. Tejero, C. Pérez, M. Garcés, O. Fabre

Acupuntura en relación al dolor, actividad física y la necesidad del apoyo para la marcha, en el posoperatorio de las quirurgías artroscópicas en la rodilla

R. Saidah, A. Gomes, W. Abou, N.R. Basso, J.B. Guerreiro, L. Piccart, F. Schiavo

CASOS CLÍNICOS

Inhalación ocupacional de gases de cloruro de polivinilo (PVC) sobrecalentado.

Revisión de la literatura

M.T. Tovar, J. Azúa-Romeo, A. Ros, T. Rubio

Carcinoma adenoide quístico: un tumor de mama infrecuente

E. Tobajas, R. Juan, M.J. Ondiviela, P. Torralba

Respuesta inmune en niños con infección intestinal por *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* y *Enterobius vermicularis*

J.L. Olivares, R. Fernández, J. Fleita, M. Vázquez, A. Clavel.

Artrogriposis múltiple congénita. Comunicación de un caso y revisión de los aspectos actuales de mayor interés

I. Echeverría, M.T. Jiménez, E. García, O. García, A. Sáez, J. López, A. Marco, V. Rebage

Crisis convulsiva asociada a Mefloquina

M^a.V. Palacios, J. Callao, M. Romeo, F. González

Esta revista está subvencionada por:

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA



S U M M A R Y

VOLUME 43, NUMBER 1, APRIL 2003

REVISIONS

In illo tempore (Needle for naive browsing)

J.F. Escanero

50 years of spanish anaesthesiology (1953-2003)

F.J. Lafuente, J.A. Tobajas, M.T. Rosell, M.C. Alagón, P. Pérez, A.C. Marín

ARTICLES

Clinical characteristics of a serie of 134 patients with lacunar infarct

S. Santos, T. Casadevall, C. Tejero, C. Pérez, M. Garcés, O. Fabre

Acupuncture related to pain, physical activity and the need for gait support, in postoperative processes of arthroscopic knee surgery.

R. Saidah, A. Gomes, W. Abou, N.R. Basso, J.B. Guerreiro, L. Piccart, F. Schiavo

CLINICAL CASES

Occupational inhalation of overheated polyvynil chloride gases (PVC).

Review of literature.

M.T. Tovar, J. Azúa-Romeo, A. Ros, T. Rubio

Adenoid cystic carcinoma: a rare breast tumor

E. Tobajas, R. Juan, M.J. Ondiviela, P. Torralba

Immune response in children with intestinal parasitic infection for *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* and *Enterobius vermicularis*

J.L. Olivares, R. Fernández, J. Fleta, M. Vázquez, A. Clavel.

Congenital multiple arthrogryposis. Report of a case and review of the most interesting clinical features

I. Echeverría, M.T. Jiménez, E. García, O. García, A. Sáez, J. López, A. Marco, V. Rebage

Neurological seizures after Mefloquine treatment

M^a.V. Palacios, J. Callao, M. Romeo, F. González

All correspondence regarding the journal should be addressed to:

Dra. Begoña Martínez Jarreta
University of Zaragoza
Faculty of Medicine
Zaragoza 50009. Spain
Tel. 976 76 16 65
Fax. 976 76 17 45

I. S. S. N.: 0558-6291
Copyright © by Facultad de Medicina
de Zaragoza

REVISIÓN

In illo tempore (Aguja para navegar ingenuos)*

In illo tempore (Needle for naive browsing)*

J.F. Escanero

*Catedrático de Fisiología. Departamento de Farmacología y Fisiología.
Presidente de la Sociedad Aragonesa de Educación Médica.
Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.*

RESUMEN

En este documento se presentan las principales líneas de actuación acometidas en la Facultad de Medicina de Zaragoza durante el período de febrero de 1986 a mayo de 1988. Se han desglosado en dos apartados: a) las relacionadas con el mundo sanitario y b) las más estrictamente relacionadas con la actividad docente. Asimismo se introducen algunas claves para poder interpretar la vida en la Facultad durante aquel período.

PALABRAS CLAVE

Facultad de Medicina, INSALUD, docencia teórica y práctica, conciertos.

SUMMARY

In this document the main activities performed in the Faculty of Medicine of Zaragoza since February of 1986 to May of 1988 are presented. The activities are shown in two chapters: a) those related to the medical world and b) those related to the academic world. In order to be able to interpret the life in the Faculty during this referred period some additional information is given.

KEY WORDS

Faculty of Medicine, INSALUD, theoretical and practical teaching, agreements.

*. Carta respuesta a un artículo de OPINIÓN (Arch. Fac. Med. Zaragoza, 41(2), 61-67, 20019 que vió la luz debido, en opinión del autor, a la carencia de criterios evaluadores y del más elemental sentido de convivencia.

«La estrechez de miras de este mundo está marcada por la inminente calcificación cerebral y por el presentimiento del propio entierro».

Imre Kertész

Premio Nóbel de Literatura, 2002

*Yo, el otro. Crónica del cambio.
(Acantilado. Barcelona, 2002.)*

Hubo un tiempo en la Facultad de Medicina que ha marcado nuestra época más de lo que muchos quisieran y algunos empeñados, más empeñados en echar tierra de lo que sus fuerzas y la tozudez de los hechos les permite, desearan. Se trata del período que va de febrero de 1986 a mayo de 1988, en el que fui Decano de la misma, primer Decano de los «nuevos tiempos», elegido por un cuerpo electoral que no había salido de las «listas» sino de todo el colectivo del profesorado (única candidatura abierta por centro).

En aquel tiempo («in illo tempore») ocurrieron algunos hechos que, sucintamente, para recuerdo de ingenuos y con ánimo clarificador, quisiera remarcar. Aunque se trata de una división de la que siempre he huído, me referiré, en primer lugar, a los más directamente relacionados con las instituciones sanitarias y, en segundo, a los más genéricos que afectaron a la Facultad de Medicina.

I. INSTITUCIONES SANITARIAS

1. Desacreditación del Hospital Clínico Universitario «Lozano Blesa» (HCU). Unos días después de mi toma de posesión, nuestro HCU fue desacreditado para la docencia de postgrado (formación de especialistas) por no cumplir los siguientes requisitos:

- a). Un número determinado de autopsias,
- b). Un fichero para historias clínicas y
- c). La existencia de comisiones.

El comité de acreditación de centros para enseñanza de postgrado (Ministerio de Sanidad) solamente procedía a suspender la acreditación de un centro cuando no cumplía con más de dos requisitos, de entre una serie de los mismos, que se habían establecido necesarios para la enseñanza MIR.

El ambiente de enfrentamiento con lo que representaba la Institución Sanitaria, a la que se había entregado el hospital por parte de las autoridades educativas –la célebre cesión demanial, demonial para algunos– era lo más llamativo de aquel tiempo y situación. Consecuentemente, el escaso ánimo colaborador del profesorado era la norma.

Con el doctor Carlos Martín, por aquel entonces gerente del HCU, se trabajó codo con codo para confeccionar comisiones y buscar soluciones a los otros dos puntos. El trabajo fue compensado unos meses más tarde cuando se consiguió la reacreditación. No fue hace tanto tiempo de aquel tiempo de desidia en el que algunos profesores cuando aceptaban formar parte de las comisiones me pretendían hacer ver con su aceptación que me hacían un enorme favor personal.

Hoy las cosas y la mentalidad han dado un giro copernicano y nadie pone en tela de juicio la necesidad de que nuestra institución a través de sus hospitales participe en la formación de especialistas.

2. Conclusión de la reforma –obras– de consultas. Las obras de las consultas, en aquel tiempo sitas en las plantas bajas del único edificio existente del HCU, llevaban meses y meses en parada técnica por falta de liquidez. Probablemente derivada de los problemas de titularidad del centro a causa de la

cesión demanial. Paredes y tabiques sin lavar o a medio hacer dejando ver ladrillos por doquier, generando incomodidades y dando una impresión de dejadez, abandono y desidia que ni la Facultad ni la Institución Hospitalaria se deberían haber permitido, pensando en que tales consultas eran utilizadas por unos profesionales que allí prestaban sus servicios, unos alumnos que allí deberían estar aprendiendo y unos ciudadanos (pacientes/usuarios) que allí acudían para encontrar remedios a sus problemas y dolencias. Es probable que alguno de ustedes haya olvidado como concluyó esta parte de la historia. Tras diferentes gestiones el Rector Camarena, la Universidad en suma, transfirió veintitantos millones de pesetas al HCU por la utilización de sus servicios para la enseñanza de pregrado de Medicina.

Quien lo diría, la cuestionada Universidad dando el dinero para acabar las obras en las consultas del HCU. ¡Qué tiempos aquellos!, la Universidad apostando por la Facultad de Medicina.

3. Nuevo edificio de consultas externas. En aquel tiempo se hicieron las gestiones para trueques de terrenos y se elaboraron los primeros diseños y planos del nuevo edificio de consultas. Recuerdan donde lo tenía diseñado el equipo rectoral de aquel entonces: entre Magisterio y el HCU y se prolongaba por donde se ubicaba y sigue ubicándose el animalario, ocupando la mitad del parking existente entre el mencionado HCU y el edificio A de la Facultad de Medicina.

El por entonces Director Provincial de Sanidad, doctor José Luis Ortega, y el equipo decanal apostaron fuerte por la ubicación actual. Tal postura no fue compartida por muchos universitarios de entonces. Nuestra línea de actuación era clara y estaba meridianamente definida: las ganancias del Hospital Universitario eran ganancias de la Universidad y, en este caso concreto, con una repercusión directa sobre la ciudadanía aragonesa. Este pensamiento y manera de proceder no es hoy día compartido por todos y afirmaciones como que la Facultad de Medicina mejor para INSALUD o SALUD han sido utilizadas por vicerrectores del ramo como gracia, insolencia o amenaza.

Convencimientos aparte, no somos tan ilusos de pensar en la importancia de nuestras gestiones, seguramente fueron unas más, probablemente no las más decisivas, pero sirvan de ejemplo y testimonio de cómo, en ningún punto que pudiera afectarle, la Facultad de Medicina mostró tibieza, carencia de criterios o falta de posturas activas.

4. Dirección Médica del HCU. El primer director médico del HCU que ostentó la condición de profesor titular de la Facultad de Medicina se nombró en aquel entonces¹. Hace tiempo que ni en uno ni en otro de los hospitales (Lozano Blesa y Miguel Servet) universitarios, los directores médicos se nombran preferentemente entre profesores universitarios, ni se tiene en cuenta la opinión de la Facultad de Medicina, ni siquiera existe comunicación al respecto. El primer director médico, profesor titular de Clínica y Patología Médicas, fue don Antonio Millastres.

Algunos profesores se alarmaban (y reclamaban prensa y taquígrafos) por que estas negociaciones se llevaran con la discreción y el tacto requeridos para su éxito. Son justamente los que ahora guardan abominable silencio ante estos y otros más inenarrables atropellos.

5. Docencia en el Hospital Universitario Miguel Servet. Hubo un tiempo (curso 1987-88), durante el periodo mencionado, en que los alumnos de Medicina hicieron prácticas en el Hospital Universitario Miguel Servet y se nombraron profesores asociados médicos (PAM) para tal efecto, a los que con mi dimisión –pura confluencia, no consecuencia– se les acabó la docencia y nombramiento. Época y tiempo, nombramientos y sueldos de escamoteo, sobre los que será preciso un día volver para clarificar ante la Historia porque se cerró aquel capítulo y señalar claramente las causas y los culpables del mismo. Es cierto que la capacidad para gestionar concluye con la incapacidad para abrir caminos que aporten dinero. El dinero, Madrid,... ¡qué fáciles excusas para los incapaces!

Dos anécdotas de esta acción. En el salón de actos del Miguel Servet tuve la ocasión de dirigir unas palabras como Decano a profesores y alumnos allí reunidos y mis palabras se hicieron recuer-

1. Ciertamente que tuvo un nombramiento provisional y que una serie de cuestiones legales impidieron el que llegase a tener un nombramiento definitivo.

do y alegría por conseguir que lo que en mi época de estudiante era motivo de manifestaciones y protestas (prácticas en el Miguel Servet) en esta otra fuese palpitable realidad. Se trataba de una romántica manera de comenzar. La siguiente es más prosaica. A otro profesor de la Facultad de Medicina y a mi mismo se nos había invitado por el entonces Director General de Enseñanza del Ministerio del Ejército a asistir a los cursos que sobre la reforma de la enseñanza de los estudios militares se debatía en el palacio de la Magdalena (Santander). Uno de los ponentes era el entonces Subdirector General de Enseñanzas del Ministerio de Educación y Ciencia, profesor Javier de la Vallina, a quién tomando un café después de su intervención solicité la concesión de un presupuesto extraordinario para pagar a aquellos profesores PAM del Miguel Servet. La sintonía de aquel decanato con los Ministerios de Educación y Sanidad era absolutamente total y la respuesta evidentemente fue afirmativa. Cuando me marché del decanato, en este punto en concreto, quedaba pendiente la plasmación del acuerdo. Como no lo estaba, ahí quedaron los profesores, los sueños y la primera realidad de enseñanza práctica en el Miguel Servet.

Hoy en día el Hospital Miguel Servet es Universitario de denominación. El camino para que lo sea de hecho todavía es largo y la falta de sintonía entre las Instituciones Sanitarias y Educativas lo pueden llegar a hacer tortuoso.

6. Concierto entre Universidad-Instituciones Sanitarias. El celeberrimo R.D. 1558 establecía la necesidad de concertación entre las Universidades y el Insalud y daba desde su publicación el plazo de un año para desarrollar los conciertos. La concertación se entendía debía realizarse como indicaba la Ley General de Sanidad con todas las Instituciones Sanitarias. En este sentido, se llevaron parejas dos comisiones: una, con INSALUD y, otra, con el Hospital Provincial de Zaragoza (Diputación Provincial de Zaragoza). La primera se elaboró en un concierto que no llegó a publicarse en BOE y que, sin embargo, se firmó públicamente en Madrid (Insalud Central) y en una apertura de curso en nuestra Universidad. Muchos profesores no estaban de acuerdo con aquel preconcierto que difería en bien poco del que posteriormente se publicó y cuya mala aplicación, con manifiesta

deja de los representantes universitarios, ha permitido conculcar principios constitucionales y ha servido, y todavía sirve, de flagelo contra la planificación y calidad de la enseñanza y la motivación, amén de instrumento para la realización de tropelías y disparates sin cuento.

Las reuniones con el Hospital Provincial llevaron un ritmo más lento, que tras mi partida cesó. En la actualidad, dicho Hospital, todavía no ha entrado en la rueda de la enseñanza.

7. Prácticas de verano en el medio rural. Estas prácticas respondían a un proyecto elaborado y realizado en su integridad por la Delegación de Alumnos. Históricamente, surgió la idea como respuesta de las inquietudes estudiantiles ante la deficiente (por escasa, desincentivante e incompleta) formación práctica que ofrecía el HCU. Los estudiantes, siguiendo una historia de reivindicaciones por la enseñanza práctica, se orientaron en esta ocasión por la salida del ámbito universitario. En el curso 1979-80 se promovió la organización de una primera comisión con objeto de canalizar estas ideas y llevarlas a la práctica. En el curso siguiente 1980-81, un grupo de alumnos que no sobrepasó la docena, realizó prácticas durante el verano en el medio rural. Este primer grupo tuvo carácter experimental, no disponiendo de ningún tipo de presupuesto ni financiación, así como tampoco de ninguna estructuración formal desde el punto de vista docente. Las experiencias personales que refirieron los participantes alentaron decididamente a la comisión a buscar y conseguir una dotación, darles un mayor contenido académico y posibilitar la asistencia a un mayor número de estudiantes. Para cumplir con todos estos fines, la mencionada comisión, durante el curso 1981-82, trasladó la iniciativa a nivel oficial (Decanato y Rectorado), cuya experiencia asumieron como válida, permitiendo diseñar los objetivos futuros. Asimismo, el Colegio Oficial de Médicos de Zaragoza se hacía partícipe del proyecto y se encargaba de contactar con los profesionales rurales de la provincia. En aquel año fueron dieciséis los médicos participantes (localidades de: Agón, Alagón, Ariza, Ateca, Calatayud, Daroca, Fabara, Juslibol, La Puebla de Alfindén, Luceni, Monterde, Pina de Ebro, Remolinos, Sos del Rey Católico, Villanueva de Gállego y Casa de Socorro de Zaragoza –con excepción del área

urbana dependiente de este último centro, que a los efectos se consideró como rural, y Calatayud todos tenían menos de 5000 habitantes–) y 29 los estudiantes, todos ellos de segundo ciclo; la ayuda económica de Decanato y Rectorado ascendió a 130.000 pesetas. En el año 1985 participaron 7 pueblos en estas prácticas, en el año 1986 (primero de nuestro Decanato) ascendieron de nuevo a 13 y en el año 1988 a 47. De igual forma con respecto al número de alumnos que participaron en el proyecto, la evolución en el periodo que nos interesa fue como sigue: año 85, 14 alumnos; año 86, 43 alumnos y año 88, 108 alumnos. Las subvenciones subieron de alrededor de unas 100.000 ptas, en 1985, a más de 3.000.000, en 1988. Un último dato, en el periodo estudiado, la provincia de Huesca se integró en el proyecto y quedaba en cartera Teruel para una próxima incorporación (curso 1988-89).

Estos datos y otros hasta 1991 se presentaron al Annual Meeting de la AMEE (Association for medical Education in Europe), celebrado en Zaragoza, en septiembre de 1995 (Rural learning practices fifteen years in the Zaragoza Faculty of Medicine, Arch. Fac. Med. Zarag., número extraordinario).

8. Otras. Dos puntos más para concluir esta primera parte.

a). Una oferta para la singularidad. Hoy puede resultar inaudito, casi increíble que, por parte de los responsables del Ministerio de Educación y Ciencia, fuese alentado y encargado de llevar a cabo un plan experimental de formación médica en nuestra Facultad. Se iba a legislar en específico para nosotros. Nuestros aciertos o hallazgos y fracasos iban a servir directamente para los demás. Era evidente que semejante oferta suponía un reto que desbordaba lo que pudieran ser nuestros sueños o aspiraciones e involucraban a toda nuestra Institución. Como puede suponerse, el Decano que esto suscribe, ni siquiera se atrevió a plantearla a la Junta de Facultad. Hoy día puedo afirmar sin reparos que ni se estaba por la labor, ni como colectivo estábamos preparados para semejante reto.

b). Salidas e intercambios con otros hospitales. La necesidad explicada, reafirmada y proclamada de la consecución de una masa crítica de profesionales en nuestro centro hospitalario

que hubiesen salido a otros centros nacionales o internacionales y que sirviese como punta de lanza para la reforma hospitalaria fue uno de objetivos centrales de nuestro equipo. El éxito más bien escaso o casi nulo. No obstante, se realizaron gestiones ante los responsables provinciales de la Sanidad para impulsar y patrocinar (becar) estas salidas –véase mas adelante–.

Para concluir con este primer apartado debo manifestar que, hoy en día, al contrario de lo que describía en el primer punto, la renuencia y cicatería habitan en el otro lado de la balanza (Instituciones Sanitarias), donde siempre han entendido poco del tema educativo, en general, y de lo que supone controlar el contexto en su dimensión más amplia donde se realiza la enseñanza-aprendizaje de pregrado, en particular. El entreguismo y la falta absoluta de conocimiento de lo distintivo y particular de la Facultad de Medicina por parte de las Autoridades Universitarias que han gestionado desde la dejadez, opacidad y personales intereses han llevado a nuestra Facultad a su situación actual, única en nuestro país.

II. FACULTAD DE MEDICINA

En esta segunda parte se abordarán algunos hechos más genéricamente referidos a la vida de la Facultad de Medicina.

1. Plan de estudios. En aquel entonces los planes de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza, como decía en una publicación previa («Bases operativas para la reforma curricular en la Facultad de Medicina», Secretariado de Publicaciones, Universidad de Zaragoza, 1988) que prologaba el rector Camarena, se desarrollaban en las siguientes posiciones legales:

- plan de estudios de primer ciclo, Resolución de la Dirección General de Universidades e Investigación de 24 de noviembre de 1973 (BOE de 18 de diciembre);
- plan de estudios de segundo ciclo, Orden Ministerial de 1 octubre de 1976 (BOE de 12 de marzo);

- curso rotatorio, Orden Ministerial de 20 de febrero de 1979 (BOE de 25 de abril).

A partir de esta última fecha se realizaron algunos cambios curriculares, como:

- Ampliaciones de materia: orden de 10 de julio de 1980 (BOE de 5 de septiembre) por la que la Radiología y Medicina Física de sexto curso pasa a impartirse con tres horas semanales de clase en vez de con dos;
- Aparición de nuevas materias, por división de otra: Orden de 8 de octubre de 1981 (BOE de 11 de diciembre) por la que la Patología y Clínica Quirúrgicas III, cambia de denominación y se desglosa en Neurocirugía con dos horas semanales durante todo el curso y Traumatología y Ortopedia con tres horas semanales, también durante todo el curso.

Debe indicarse que la Cardiología y la Hematología aparecen como Cátedras y no se generan a través de normativa ministerial, escindiéndose de la Patología y Clínica Médicas.

A continuación se exponen los puntos en los que se centraron las actuaciones decanales:

a). Cumplimiento y adecuación a la legalidad vigente. Dos hechos se corrigieron sobre la marcha y se procedió con el mayor tacto posible a incidir sobre un tercero:

Uno. El idioma que no figuraba en ninguna normativa legal como obligatorio para la obtención del título y así se venía incluyendo, pasó a ser optativa, aumentando la oferta (en número y materias).

Dos. El curso rotatorio que se había de desarrollar en cuarto, quinto o sexto curso se había olvidado y ninguna resolución se había tomado para eliminarlo de la normativa legal. Simplemente no se cumplía la normativa, lo que no provocaba ningún sonrojo. Para resolver este problema, como se cita textualmente en la publicación mencionada se establecieron las comisiones y concier-

tos o preconciertos con los Hospitales dependientes de Insalud Lozano Blesa y Miguel Servet y el dependiente de la Diputación Provincial de Zaragoza Hospital Real y Provincial Nuestra Señora de Gracia, así como con siete centros de Asistencia Primaria –la totalidad de los existentes disponibles–. Asimismo, en colaboración con el Colegio de Médicos de Zaragoza y presupuesto extraordinario, que en el curso pasado (la publicación es del 88) superó los dos millones de pesetas, se vienen realizando desde hace dos años prácticas rurales en diferentes municipios del distrito. Dentro de este contexto, las prácticas que en este momento se están desarrollando y sobre las que se está poniendo énfasis, adecuando e incidiendo en su necesidad de acuerdo con las posibilidades institucionales y número de alumnos, son las siguientes:

1. «*Bedside teaching*», realizadas por los alumnos de sexto en Instituciones Hospitalarias.
2. «*De consultas*», realizadas tanto en consultas hospitalarias como en Centros de Atención Primaria.
3. «*De urgencias (primeros auxilios y patología social)*», realizadas como guardias en las Instituciones Hospitalarias.
4. «*De campo*», desarrolladas fuera del tiempo académico, con carácter voluntario, en el marco de la medicina rural.

Todas estas prácticas tienen un fuerte componente de desestructuración, a nivel pedagógico, como puede ocurrir con la formación MIR.

5. «*De base*», específicas para cada materia, área o especialidad, fuertemente estructuradas y procurando desarrollarse coincidentes con las explicaciones teóricas de la materia. Fundamentalmente tienen su aplicación en las materias básicas.

Hasta aquí lo dicho entonces. Hoy quiero precisar que las tres primeras servían para dar cumplimiento al célebre rotatorio, distribuyendo un horario que dejaba el núcleo central de la mañana a los alumnos de sexto para asistir a hos-

2. A este respecto deben recordar que tal práctica no era nueva en nuestro medio. Cuando el autor de este escrito era estudiante debió estar localizado durante un tiempo por la obligatoriedad de tener firmada la asistencia («visión») a una serie de partos. Se dejaba un teléfono para tu localización y durante este tiempo podías recibir la llamada en cualquier momento, festivos y noches incluidas, y si era durante el horario lectivo tanto peor. El tiempo de aquellas prácticas en este último caso de protegido pasaba a preponderante.

pitales y consultas. Se protegió este horario central (de 10 a 13) para el cumplimiento de esta actividad. El «tiempo protegido» para una determinada tarea o actividad (en este caso la realización del curso rotatorio por los de sexto) es una práctica frecuente en muchas, la mayoría, de las Facultades de Medicina con prestigio y todas las que realizan su enseñanza basadas en el «solving problem». Por otra parte, el tiempo protegido para una actividad define una parte del tiempo diario, lo que no quiere decir nada de la utilización del restante, pudiéndose dar prácticas, precisamente las que nosotros denominábamos de base, o teóricas cuando el profesorado estimase oportuno, mañana, tarde o noche, en días lectivos o festivos².

Un hecho más, para dar cumplimiento y seriedad al rotatorio, se elaboró un cuadernillo con una serie de requisitos mínimos e intervenciones que debían cumplir y estar visadas por los profesores ocupados de las prácticas durante este periodo.

Es bien cierto que se empezó a diseñar el quinto curso con una estrategia similar (justamente al revés de cómo se está haciendo la reforma en estos momentos)³.

Tres. Se presionó a través de la elaboración de los horarios a determinadas materias, con el fin de evitar repeticiones increíbles, hasta de parciales enteros, y a algunas se les redujo su horario lectivo.

b). Reforma curricular propiamente dicha. Existía desde hacía un tiempo, una Comisión para este fin, a la que se imprimió y confirió un mandato especial: la elaboración de los objetivos de la Facultad de Medicina (Anexo I) y el Decálogo de criterios guía para la mencionada reforma (Anexo II), que se recogían en la anterior publicación. Ya se habían elaborado y aprobado en Junta de Facultad cuando apareció el Real Decreto 1497/1987 de 27 de noviembre por el que se establecían las directrices generales comunes de los planes de estudio de los títulos universitarios de carácter oficial y validez en todo el territorio nacional (BOE de 14 de diciembre). Todavía faltaría un tiempo para aparecer la normativa con las directrices especifi-

cas para la reforma curricular de los estudios de Medicina.

Todo al olvido, lo que se trabajó bien y lo que no se haría con tanto acierto o fuera digno de perfeccionarse, criterios guía incluidos. Sencillamente se corría el riesgo de poner de manifiesto las medianías y el todo vale y, especialmente, los intereses personales de algunos.

2. Erasmus. En este apartado quisiera remitirles al opúsculo «Facultades de Medicina de Zaragoza y Tours: Actualidad y futuro del Erasmus» (Secretariado de Publicaciones, Universidad de Zaragoza, 1990), donde se narra la historia del primer ERASMUS de nuestra Facultad. En él se dice textualmente:

«En la época del decanato del prof. Escanero se inició una reforma curricular que pretendía operar en tres frentes:

- a). La utilización de la totalidad de recursos sanitarios y la progresiva integración en la enseñanza de pregrado de la medicina extrahospitalaria (por primera vez se hacen prácticas en ambulatorios y se ensancha el territorio de las prácticas rurales a la provincia de Huesca),
- b). La implantación del rotatorio, buscando una integración temática y metodológica, y la adaptación (reducción del programa teórico) de determinadas materias y
- c). La coordinación europea, como «control de calidad» (externo) y estímulo de la reforma».

A continuación se indica la idea compartida por ambas facultades sobre lo que denominaron redes universitarias que deberían, al menos, estar constituidas por un núcleo básico constituido por cuatro facultades, representativas cada una de uno de los cuatro idiomas mayoritarios de la Europa Occidental: inglés, español, alemán y francés. Ellos llevaron a cabo esta idea.

Con Toulouse se habían abierto las negociaciones y visitado su Facultad de Medicina (decano: prof. Seguela) con una ayuda ERASMUS (SVP-87-0014-E). En el report del viaje a Bruselas se comunicó la aceptación y decidida voluntad de ambas partes de conseguir un acuerdo similar al de Barcelona, que se detallaría en posterior visita, que quedaba por precisar, del decano de Tou-

louse a Zaragoza. Permítanme insistir en el opúsculo citado en donde se dice:

«La oferta se extendía a nivel de postgrado, habiéndose realizado, también durante la visita, los primeros contactos con el Director de Salud Pública de aquella ciudad... La formación de postgrado –doctorado y especialidades– y continuada tenían claramente definidas unas líneas de actuación en aquel decanato. Entre otros, se había tomado el acuerdo con las autoridades del Insalud de Zaragoza de potenciar las salidas del personal del Hospital Clínico Universitario, tanto a nivel de los médicos de plantilla, como de los especialistas en formación, comprometiéndose para tal fin a prestar todas las facilidades posibles (manteniendo íntegro del sueldo por la institución sanitaria para todas las salidas de perfeccionamiento a otros hospitales nacionales o extranjeros, solución de los problemas que pudieran generar las salidas –suplencias–, etc.)».

3. La revista de la Facultad: «Archivos de la Facultad de Medicina».

Ni una mención especial, ni un aniversario. Resulta difícil creer que los responsables hayan olvidado que fuera en el tiempo que ocupé el decanato cuando se gestionó con la Diputación Provincial de Zaragoza la recuperación (tercera época) de nuestra revista, la que hoy ha actualizado el formato y parece que perdido el criterio, probablemente también el rumbo (véase nota al pie de la página primera).

4. Biblioteca. Si tuviera que utilizar una palabra para definir la situación tendría problemas para encontrarla. Deplorable es menguada. El presupuesto para libros era de cero pesetas. Según manifestación del personal del PAS que se ocupaba del control se hablaba de latrocinio y no devolución de textos. En un rincón de la biblioteca había un montón de libros que habían perdido las tapas. Con estas tres frases se ha pretendido pintar un cuadro que diera idea de lo que era y como se encontraba la Biblioteca de la Facultad de Medicina en la primera visita que se curso a esa instalación tras ser nombrado Decano.

Las primeras gestiones realizadas tuvieron lugar en los despachos de los directores de dos entidades de ahorros: la CAZAR y la CAI. Mientras el director

3. Nota incluida en la corrección. Éste artículo se escribió antes de que se elaborase el actual plan de estudios de desconocidos principios con tendencia opuesta a la marcada por Europa, de repeticiones sin cuento, de escasa coordinación y de desmesura sin límites.

de la primera nos confesó que todas las ayudas a la Universidad estaban canalizadas a través del Rectorado con el de la segunda se tuvo más suerte y se obtuvieron 50.000 ptas con la que se encuadernaron los libros, que amontonados en el rincón, esperaban destino final.

Ustedes conocen para nuestra fortuna los tiempos posteriores hasta nuestros días.

5. La Biblioteca-Hemeroteca Médica de Aragón. Se trató de uno de los sueños más dulcemente acariciados por los miembros del equipo. Una gran biblioteca, en el lugar que hoy se encuentra la de los estudiantes, con algún piso más, referente para Aragón y todos sus hospitales, que permitiese ubicar la hemeroteca y en la que Universidad e Insalud se ocupasen de los gastos. En este sentido se iniciaron una serie de gestiones para comenzar con la cobertura de suscripciones que podía asumir cada una de las Instituciones participantes.

Hemos dicho sueño, porque pensábamos que podría ponerse al Servicio de toda la red hospitalaria de nuestra tierra. Aunque por aquel entonces las soluciones eran complicadas y después todavía no se ha hecho nada, aún pensamos que puede ganarse el futuro, ya que alguna vez se cambiará de gestores.

6. Espacios. Tres puntos para delimitar este apartado:

- a). ARAMEDE (una sociedad científica deportiva) tenía su sede en un local de la facultad (edificio A) que se recuperó.
- b). Se cedió hasta la construcción de la nueva escuela de Enfermería el aula (de Fisiatría) hoy todavía no recuperada cuando ya se ha hecho la construcción. ¿Porqué no se ha hecho con Fisiatría lo que hicimos con ARAMEDE, por quién con tanto desafuero ha intentado menegar el espacio de Fisiología tantas y tantas veces?. Cualquiera de ARAMEDE o del equipo decanal de aquel tiempo puede contarles como se hizo la gestión.
- c). Se realizó un primer intento de reparto de los locales del edificio B, con varias reuniones al respecto y se distribuyeron los locales de secretarías y despachos de dirección de los departamentos clínicos.

7. Otros. Para concluir con esta exhaustiva exposición de hechos se van a incluir en este último epígrafe tres puntos más, dos relativos a los estudiantes, a quienes se estimuló para la «otra» formación, lo extramédico (lamento profundamente si algún profesor no entiende el sentido metafórico de algún comentario, lean a Nervo) y otro a los PAMs:

- a). **Revista de estudiantes.** Se potenció y apareció por primera vez una revista de estudiantes bajo la responsabilidad de los mismos.
- b). **Fecha de recepción de estudiantes.** Se configuró el acto de la recepción de los estudiantes con la finalidad de mentalizarles sobre la adhesión de los mismos a su centro.
- c). **Huelga del SIMA.** Permítanme sin ningún ánimo ni explicatorio ni quejumbroso concluir con este hecho por tratarse de la huelga más larga que ha tenido lugar en la Facultad de Medicina y probablemente en la Universidad de Zaragoza. A pesar de que desde la campaña para mi elección de Decano se había abierto un diálogo con el SIMA, a los pocos días de acceder al decanato se inició una huelga porque desde el Rectorado (Vicerrector de Medicina) se premiaba el hecho de la exigencia de la Tesis Doctoral. Durante casi todo el curso los PAMs no dieron prácticas.

Qué lejos de aquella toma de postura ha estado la respuesta dada a la arbitraria medida de la redistribución de los PAMs llevada desde la perentoriedad y no de un plan serio a medio plazo, basado por ejemplo en edades medias y estímulos a servicios. Hoy tras los empujones, ceses gratuitos, desmotivaciones y agresiones nos enfrentamos a la carencia de un plan, en manos del depredador que nos asole. Los perdedores, los de siempre.

Todo lo hasta aquí expuesto y algunas cosas más en las que no tuvimos tanto éxito (construcción de los departamentos, etc.) se realizaron en un ambiente de incompreensión, insolidaridad y acoso que iba desde la utilización del tiempo de clase para hablar de la gestión del Decano hasta actitudes y tomas de postura incomprensibles, por zafias y poco

universitarias. Pocos pensaban en el centro y en su futuro como institución pública al servicio de una colectividad, más amplia que un grupo de profesores, y hoy todavía esta Facultad no se ha recuperado, en mi opinión, de aquel tiempo en que se afrontó un cambio con el que quisimos generar una ilusión y esperanza que posiblemente no supimos canalizar pero que muchos de nuestros significados colegas pretendieron por activa y pasiva dinamitar. En aquellos momentos (in illo tempore) se llegó hasta hacer desaparecer la carta de invitación a la toma de posesión de mi sucesor, mi protesta: aparecer en mangas de camisa.

Los malintencionados (envidia insana) y acosadores han seguido realizando su juego, otros se han jubilado, y la Facultad con una manifiesta carencia de criterios claros de actuación ha sido más que nunca orillada en temas capitales, tanto por parte de la propia Universidad (con descaro inusitado e impasible respuesta se han echado a PAMs, se han redistribuido como les ha venido en gana sin un plan a medio plazo, sin un reconocimiento de servicio, con una desmotivación próxima a la de la derrota, se ha ponderado su voto, se ha establecido una equivalencia -ratio- para la economía, etc. etc.; con respecto a los numerarios se han dado las plazas de titular con extrañísimas premuras -hoy día no tenemos ningún neurólogo, ningún reumatólogo, etc.- y existen algunas lagunas incomprensibles en las plazas de catedrático -un referente: cuando yo estudiaba había catedráticos, que ahora no existen, en Radiología y Terapéutica Física, Oftalmología y Otorrinolaringología-, etc.) como por parte de INSA-LUD o SANIDAD (excúsenme que no insista en bochornosas y anticonstitucionales defenestraciones por ser aragoneses, etc.-. Atropellos y defenestraciones como no conozco hayan ocurrido y no hayan sido subsanadas en ninguna otra Facultad de Medicina en el contexto nacional. Por supuesto que en el internacional que visito me ahorro muchos comentarios, porque para nuestra desgracia si los conociesen daríamos risa o es probable que nos ofreciesen alguna tribuna para la denuncia.

Pero aquel tiempo, que es el motivo de este escrito, por fortuna para unos y desgracia para otros, hoy es historia y ya sólo los historiadores tienen los adjetivos con que calificarlo.

Post scriptum: Es posible que algunos datos no presenten la precisión estricta que hubiera deseado y es seguro también que a algunos les hubiera gustado escuchar mi opinión sobre algunas otras cosas o hechos que me he dejado en el tintero. Espero, no obstante, que esas delicadas o finas precisiones o que los involuntarios y voluntarios olvidos puedan corregirlos los historiadores de esa época hablando con todos y cada uno de los vicedecanos y secretario que me ayudaron a llevar los destinos de esta Facultad y a quienes desde aquí y con este motivo quiero agradecer y rendir homenaje por su trabajo e ilusión... en aquel tiempo.

ANEXO I.

OBJETIVOS DOCENTES INSTITUCIONALES DE LA LICENCIATURA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA.

La Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza, a través de las enseñanzas impartidas durante la Licenciatura, tiene como objetivo la formación de médicos con entrenamiento y preparación científica adecuados para que sean útiles a la comunidad en la que ejerzan su función, respetando las normas éticas y legales, y con capacidad y motivación para continuar su aprendizaje a lo largo de su vida profesional. Con esta finalidad el plan de estudios debe:

1. Ayudar al estudiante a adquirir los conocimientos imprescindibles para comprender:

1. A. El desarrollo filogenético y ontogenético normal, forma, estructura y función del cuerpo humano.
1. B. Las alteraciones más frecuentes del desarrollo, forma, estructura y función del cuerpo humano.
1. C. El modo en que los factores físicos, químicos, biológicos, hereditarios, psicológicos y socio-culturales pueden afectar a la existencia humana favorable o desfavorablemente.
1. D. Los procedimientos o técnicas básicas de diagnóstico y tratamiento propias de las diferentes especialidades.

1. E. Las técnicas generales y recursos aplicables al individuo y a la comunidad para prevenir las enfermedades y mantener la salud.
1. F. El sistema social y cultural médico.

2. Ayudar al estudiante a establecer conductas básicas, respecto a:

2. A. Seleccionar, ordenar y jerarquizar los datos esenciales que le permitan obtener una visión completa e integrada del hombre normal.
2. B. Realizar e interpretar la historia y exploración clínicas.
2. C. Realizar e interpretar las exploraciones y pruebas complementarias esenciales, así como saber solicitar y utilizar la información proporcionada por los especialistas.
2. D. Seleccionar, ordenar y jerarquizar un conjunto de datos para realizar un diagnóstico correcto.
2. E. Establecer planes terapéuticos.
2. F. Obtener la capacidad para establecer, con delicadeza y tacto, una adecuada relación médico-enfermo y para obtener y saber guardar confidencias de enfermos y familiares.
2. G. Detectar los problemas sanitarios de una población y proponer las medidas sociales e individuales para evitar las enfermedades y promover la salud.
2. H. Ser capaz de utilizar los medios necesarios para lograr una autoeducación ininterrumpida.

3. Ayudar al estudiante a comprender los principios y actitudes éticas y normas legales de la profesión médica, como son:

3. A. El sentido de la responsabilidad en la solución de los problemas médicos de sus enfermos y de la colectividad.
3. B. Humildad para reconocer sus limitaciones y flexibilidad para aceptar consejos o solicitar ayuda a otros colegas.
3. C. Respetar la dignidad y los derechos de sus enfermos.
3. D. Sus derechos y mantener su dignidad.
3. E. Prestar su colaboración en casos de urgencia individual o colectiva.

ANEXO II.

CRITERIOS GUÍA PARA LA REFORMA DEL PLAN DE ESTUDIOS DE LA LICENCIATURA DE LA FACULTAD DE MEDICINA.

1. Los estudios de la Facultad de Medicina deberán mantener en todo momento la visión universal que los enlaza con las demás enseñanzas que se imparten en otros centros, ofreciendo un enfoque multidisciplinar del conocimiento científico y evitando su adscripción a una visión coyuntural y pasajera de la política sanitaria en la práctica de la medicina.
2. El plan de estudios irá encaminado a cumplir los siguientes aspectos en el campo de la medicina: crear saber, transmitirlo, establecer un modo de ser y estar típicamente intelectual, y por consiguiente crítico, y capacitar para la aplicación práctica de los conocimientos adquiridos.
3. El plan de estudios debe incluir los conocimientos, conductas y actitudes que el alumno debe adquirir para ejercer la profesión médica.
4. El plan de estudios debe fomentar la formación teórica del alumno así como hacer del carácter práctico uno de los definidores del curriculum.
5. El plan de estudios debe enseñar al alumno a «aprender a aprender» y prepararlo para su auto formación (formación continuada).
6. El plan de estudios debe contener unos objetivos básicos y actualizados, siendo al mismo tiempo lo suficientemente flexible y dinámico como para permitir la introducción de nuevos objetivos, la sustitución de otros o la simple corrección de los existentes a tenor de las diferentes circunstancias que puedan surgir.
7. El plan de estudios debe estar dirigido a formar médicos con una sólida formación general que les permita acceder a una ulterior especialización.
8. Las enseñanzas y contenidos incluidos en el plan de estudios deben estar articulados de forma continuada y progresiva.
9. El plan de estudios se debe construir teniendo como base las áreas del saber médico y los campos definidos de actuación profesional de ellas derivados.
10. En la elaboración del plan de estudios se deben considerar las aportaciones de la tecnología educativa y de la metodología de la enseñanza / aprendizaje.

REVISIÓN

50 años de anestesiología española (1953-2003)

50 years of spanish anaesthesiology (1953-2003)

F.J. Lafuente Martín¹, J.A. Tobajas Asensio², M.T. Rosell Abós³, M.C. Alagón Abad⁴, P. Pérez Barrero¹, A.C. Marín Villar⁴.

1. *Servicio de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor. Hospital Universitario «Miguel Servet». Zaragoza.*
2. *Especialista en Anestesiología y Reanimación. E.U. de Ciencias de la Salud de la Universidad de Zaragoza.*
3. *Hospital Clínico Universitario «Lozano Blesa». Zaragoza.*
4. *Servicio de Anestesiología y Reanimación. Hospital «Nuestra Señora de Gracia». Zaragoza.*

RESUMEN

En 1953 un grupo de ilusionados anestesiólogos constituía en Madrid la Asociación Española de Anestesiología y posteriormente celebraba en Granada la I Reunión Nacional de Anestesiología. En el año de 2003 se cumple el 50 aniversario de este hito que marcó uno de los acontecimientos más importantes de la especialidad de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor y de la Medicina Española.

Con motivo de esta celebración evocamos a la memoria histórica para rescatar del olvido y rendir un homenaje a tantos personajes importantes de la Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor española y aragonesa, de esa época tan apasionante y brillante de los años 50 del siglo XX.

PALABRAS CLAVE

Historia. Anestesia. Anestesiología.

SUMMARY

In 1953 a group of hopeful anaesthetists founded in Madrid the Spanish Anaesthesiology Association and later it was held in Granada the 1st National Meeting of Anaesthesiology. In 2003 we celebrate the 50th Anniversary of this landmark in our History that means one of the most important achievements of the Speciality of Anaesthesiology, Reanimation and Pain Therapy, and also of Spanish Medicine.

For this celebration we call up the historical memory to release from oblivion and to do homage to so many prominent figures of the Spanish and Aragonese Anaesthesiology, Reanimation and Pain Therapy of such a brilliant and exciting period, the 50's of the twentieth century.

KEY WORDS

History. Anaesthesia. Anaesthesiology.

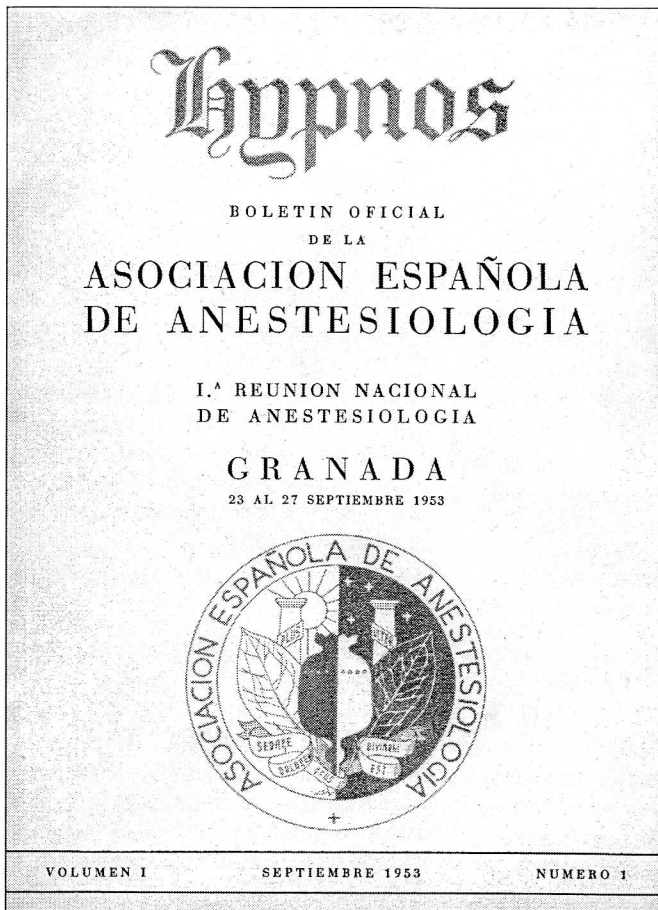
LOS PRIMEROS PASOS DE LA ANESTESIOLOGÍA COMO ESPECIALIDAD MÉDICA Y DISCIPLINA UNIVERSITARIA: DESDE EL SIGLO XIX HASTA LA PRIMERA MITAD DEL SIGLO XX

Establecer el origen exacto de la anestesia, es una tarea harto difícil de adjudicar, ya que el dolor y la enfermedad y la enfermedad y el dolor y las batallas permanentes de los sabios para combatir, aliviar o vencer a este binomio, han acompañado al hombre desde el momento en que aparece sobre la Tierra. El primer acto anestésico documentado en los albores de los tiempos se describe en la Biblia en el Génesis I, capítulo 2, Versículo 21: «...Entonces Yahveh Dios hizo caer un profundo sueño sobre el hombre, el cual se durmió. Y le quitó una de sus costillas, rellenando el vacío... (1).

Más cercanas en el tiempo, pero todavía lejanas, están las fechas del 11 de diciembre de 1844 en la que el dentista norteamericano que ejercía en Hartford (Conncticut), Horace Wells usando óxido nitroso como anestésico se hizo extraer una muela del juicio por parte de un colega suyo llamado John M. Rigg, y la del 16 de octubre de 1846 en la que Williams Thomas Green Morton, también dentista (DDS Doctor Dental Surgery), hizo una demostración pública en el Massachusetts General Hospital del uso del éter anestesiando a un enfermo con un tumor de cuello

Correspondencia: Francisco J. Lafuente Martín
Servicio de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor. H.U. «Miguel Servet»
Paseo Isabel la Católica 1-3. 50009 Zaragoza. E-mail: flafuente04@telepolis.com

Figura 1.



Fascículo número 1 del Boletín Oficial de la Asociación Española de Anestesiología, en el que se publica la primera ponencia de la I Reunión Nacional de Anestesiología celebrada en Granada en 1953.

intervenido por el prestigioso cirujano Dr. Warren. Ambas fechas tienen sus defensores y detractores acerca del hecho de que una u otra sea considerada como la introducción de la Anestesia en la práctica médica. Esta reserva para atribuir la paternidad del descubrimiento de la anestesia, tuvo en duda a al Congreso de los Estados Unidos de Norteamérica que fue incapaz de decidir a quien correspondía tal honor (2).

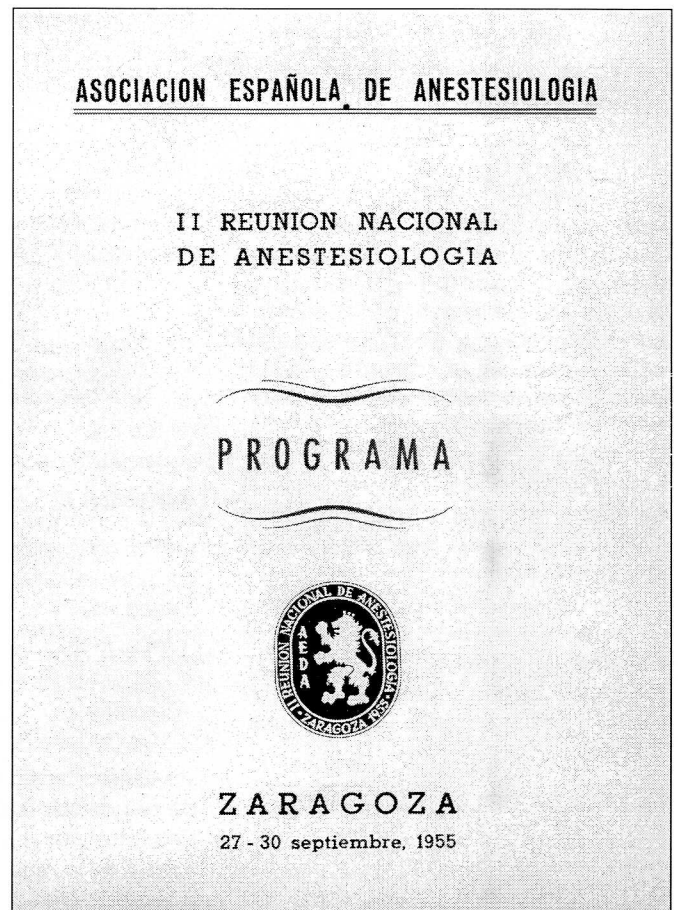
A partir de esa fecha, en España se realizan múltiples experiencias con la anestesia, empezando por las realizadas, durante enero de 1847, por el Dr. D. Diego de Argumosa en Madrid y por el Dr. D. J. Olivares en Santiago de Compostela (3).

Durante la segunda mitad del siglo XIX y la primera del siglo XX, la evolución de los conocimientos y técnicas anestésicas es importante, requiriendo una especialización en los conocimientos que se traduce en la aparición de

Sociedades Científicas de Anestesiología a lo largo del planeta (4):

- 1895.- Se crea la Sociedad Londinense de Anestésistas.
- 1904.- El Dr. Buchanan, en Nueva York es el primer profesor universitario de Anestesia.
- 1905.- Fundación de la Sociedad de Anestésistas de Long Island, que más tarde, en 1911, pasaría a ser Sociedad de Anestésistas de Nueva York, en 1936 Sociedad Estadounidense de Anestésistas y finalmente en 1945 daría lugar a la Sociedad Estadounidense de Anestesiólogos (ASA). Esta sociedad publicó, durante los años 1914 a 1926 la primera publicación oficial sobre anestesia, el American Journal of Anesthesia and Analgesia
- 1932.- Surge la Asociación de Anestésistas de la Gran Bretaña e Irlanda, publicando las Revistas Anesthesiology (desde 1940) y Anesthesia (desde 1946).

Figura 2.



Portada del programa de la II Reunión Nacional de Anestesiología que se celebró en Zaragoza en septiembre de 1955.

Mientras tanto, en España, la anestesia era una práctica poco reconocida, ya que dependía totalmente de los requerimientos del cirujano, la administración del éter y cloroformo era muy sencilla y recaía generalmente en el último aprendiz o en el alumno menos aventajado; la posición social del anestésista dependía de lo que el cirujano tuviese a bien remunerarle, y por último, y no menos importante, existía un gran alejamiento social entre el anestésista y el paciente, que en la mayoría de los casos desconocía la existencia de este personaje (5).

El primer médico español que dedicó su actividad profesional al estudio y práctica de la anestesia fue el barcelonés Dr. D. José Miguel Martínez, quien a finales de los años 20 inició la práctica de la anestesia junto a los cirujanos Trías y Pujol, los cuales estaban muy interesados en la realización de toracotomías para lo cual era indispensable realizar una anestesia que incluyese la

intubación traqueal. Por ello, trajeron desde Inglaterra todo el material necesario para ello, y fue el Dr. Miguel quien realizó todas las anestесias, intubación incluida durante el año 1935 (3).

En 1936, con el desencadenamiento de la Guerra Civil, toda la actividad investigadora se paraliza, y más tarde en la posguerra, debido al aislamiento de nuestro país, y a la calamitosa situación europea a causa de la II Guerra Mundial, la posibilidad de adquirir conocimientos del exterior era muy difícil. Sin embargo el Dr. Miguel sigue adelante con sus experiencias, lo que llama la atención de muchos anestesiólogos de la época, entre ellos el Profesor Macintosh, insigne anestesiólogo inglés, quien visita al Dr. Miguel en Barcelona, durante el año 1946 y le felicita por su enorme trabajo autodidacta (6).

Durante los últimos años de la década de los 40, otros médicos españoles se trasladan al extranjero, fundamentalmente a Inglaterra y Alemania, para formarse y posteriormente volver a nuestro país.

LA DÉCADA DE LOS AÑOS 50 DEL SIGLO XX: CREACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE ANESTESIOLOGÍA

Un hecho fundamental en la Anestesiología Española fue la realización en abril de 1950, de un curso de especialización de anestésistas, por parte de la Diputación Provincial de Madrid, en el que participaron como profesores unos 60 médicos españoles, uno de los cuales figuraba en los créditos como «anestesiólogo de Barcelona»; este profesor era el Dr. Miguel (7).

A raíz de este curso comenzaron a realizarse unas reuniones semanales, los miércoles por la noche, en el bar Términus de Barcelona (6-8). En dichas reuniones, empezó a tomar forma la idea de crear una Asociación de Anestesiólogos Catalanes como una agrupación que les uniese a todos, fijando unas normas para el desarrollo científico y social, dando asimismo la categoría que merecía el médico especialista. Sin embargo, como desde Madrid se había solicitado en enero de 1951 el permiso para fundar la Asociación Española de Anestesiología, cuya sede estaría en Barcelona, se decidió posponer la idea de una Asociación Catalana hasta que la Asociación Española tuviese confirmación por parte de la Superioridad.

Tras casi dos años de tediosa burocracia, y viendo que el principal problema era que la sede de la Asociación fuese la ciudad de Barcelona (6-9), se decidió en Diciembre de 1952 que fuese Madrid la capital elegida como sede para la Asociación Nacional y de forma paralela pedir permiso (con fecha 30 de enero de 1953) para fundar una Asociación de Anestesiología propia, dentro de la Academia de Ciencias Médicas de Barcelona. Al tratarse de una sección dentro de las muchas que configuraban la Academia, y por tanto no tratarse de una entidad de funcionamiento independiente, no fue preciso solicitar una autorización gubernativa para su constitución, por lo que ya el 24 de febrero de 1953 se celebró la primera reunión científica y constitutiva de la Asociación de Anestesiología, quedando nombrados los siguientes cargos (10):

Presidente:

Dr. D. José Miguel Martínez

Secretario:

Dr. D. José Pons Mayoral

Mientras tanto en Madrid, con fecha 5 de febrero de 1953 se aprobaron los Estatutos que la Junta Directiva Provisional de la Asociación Española de Anestesiología había elaborado, y se procedió a su constitución oficial el día 21 de marzo de 1953, en el domicilio social provisional sito en la calle Cea Bermúdez, 47 de Madrid, quedando nombrados los siguientes cargos (9-11):

Presidente:

Dr. D. José Miguel Martínez

Vicepresidente 1º:

Dr. D. Fco. J. de Elio Membrado

Vicepresidente 2º:

Dr. D. Dionisio Montón Raspall

Secretario:

Dr. D. Ricardo Vela Díaz

Tesorero:

Dr. D. Luis Agosti Romero

Vocal 1º:

Dr. D. Eugenio Bruguera Talleda

Vocal 2º:

Dr. D. Vicente Morera Marco.

En dicha reunión se nombró la Comisión Organizadora de la I Reunión Nacional de Anestesiología (que se celebraría unos meses después en Granada), la cual quedó constituida por:

Presidente:

Dr. D. E Galvez Carrillo de Albornoz

Secretario:

Dr. D. E Galvez Giménez

Vocal:

Dr. D. I Ventura Moles.

Durante los días 23 al 27 de Septiembre de 1953 se celebró en Granada, en el marco del III Congreso Nacional de Cirugía, la I Reunión Nacional de Anestesiología, cuyas ponencias fueron reflejadas en una publicación denominada *HYPNOS, Boletín Oficial de la Asociación Española de Anestesiología, Volumen I* (fig. 1), el cual se distribuyó en 3 números, cada uno de ellos con una de las ponencias oficiales:

- Número 1: *Contribución española a la historia del curare* (Drs. Miguel y Vela) editado por Laboratorios Peyva (12).
- Número 2: *La hipotensión gobernada en anestesiología* (Dr. Agosti) editado por Laboratorios Miró (13).
- Número 3: *La novocaína endovenosa en anestesia* (Dr. Bruguera) editado por la Fábrica de productos químicos y farmacéuticos Abelló (14).

Durante la Asamblea General, celebrada durante la Reunión, se decidió que el Boletín Oficial de la Asociación Española de Anestesiología debía cambiar el nombre de *HYPNOS* (adoptado sin consulta a causa de la premura de tiempo, para las publicaciones de la I Reunión Nacional), sustituyéndolo tal y como indicaba el artículo 22 de los Estatutos, por el de *REVISTA ESPAÑOLA DE ANESTESIOLOGÍA* (9, 15, 16, 17).

Una vez constituida la Asociación Española de Anestesiología, el paso siguiente fue el reconocimiento oficial de la Especialidad de Anestesia, que tuvo lugar en julio de 1955 y fue celebrado en la II Reunión Nacional que tuvo lugar del 27 al 30 de Septiembre de ese mismo año en Zaragoza (fig. 2). Posteriormente, en julio de 1972, cambió su denominación por la de Anestesia y Reanimación (11).

La primitiva Asociación Española de Anestesiología ha sufrido dos cambios en su denominación, así con fecha 10 de febrero de 1962 pasó a denominarse Sociedad Española de Anestesiología y Reanimación, nombre al que posteriormente, en 1988, se le añadió el apartado de tratamiento del dolor, adoptando el que hasta la fecha aparece como Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del dolor (11).

La Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor está integrada en las siguientes Sociedades Internacionales:

- Sociedad Mundial de Anestesiología y Reanimación
- Sociedad Europea de Anestesiología y Reanimación
- Unión Europea de Médicos Especialistas (Sección Monoespecializada de Anestesia y Reanimación).

LA APORTACIÓN ARAGONESA A LA CREACIÓN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ANESTESIOLOGÍA, REANIMACIÓN Y TERAPÉUTICA DEL DOLOR

Aunque la Anestesiología Aragonesa ha evolucionado al mismo ritmo que en el resto de España, los anestesiólogos-reanimadores aragoneses y españoles tienen un referente esencial en la figura del Profesor Doctor D. Ricardo Lozano Blesa (Zaragoza 1906-id.2000), catedrático de Patología y Clínica Quirúrgica, que ocupa la cátedra de la Facultad de Medicina de Zaragoza en el año al cual evocamos de 1953, por ser una de las personalidades médicas que se adelantaron a su tiempo al comprender la importancia de la Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor, fomentando y potenciando la figura profesional del anestesiólogo-reanimador y estableciendo los cauces para que el cuerpo doctrinal de la especialidad tuviera rango universitario, tal y como ocurría en otros países de la época.

Para finalizar esta reflexión histórica, queremos rendir un homenaje a las figuras aragonesas más representativas de esta primera época histórica, que sentaron las bases de la calidad y el reconocimiento científico de los que goza actualmente la especialidad de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor, y que fueron protagonistas de esta conmemoración del 50 aniversario de la creación de la Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor:

Dr. D. Eduardo Bravo Ortega, durante muchos años jefe del servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza, que present en 1955, un aparato de anestesia, el «EBO», que fue distribuido y utilizado en toda España (fig. 3). Discípulos del Dr. Bravo Ortega ocupan hoy destacados puestos de responsabilidad, dirección y gestión en el

Figura 3.



En 1955 el anestesiólogo-reanimador aragonés Eduardo Bravo Ortega presentó este innovador aparato portátil de anestesia -EBO- que supuso una novedad de la práctica anestésica española de la época.

ámbito de la Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor.

• Dr. D. Marceliano Temiño Carrillo, jefe del servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Universitario Miguel Servet, desde su fundación como Residencia Sanitaria José Antonio, hasta su jubilación. También fue el primer presidente de la Delegación Aragonesa de Anestesia y Reanimación.

• Dra. D^a. María José Alcay Lavilla, primera mujer anestesióloga por oposición en Aragón, que ejerció su profesión tanto en la actividad privada como en la pública, siendo jefa de sección en el servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Miguel Servet.

• Dr. D. Fernando Tormo García, quien ocupó, por primera vez, una vacante de la especialidad médica de Anestesia y Reanimación, al ser admitido en la Real Academia de Medicina de Zaragoza el 29 de Abril de 1993, fecha en que presentó su discurso de recepción académica «Historia y presente de la Anestesiología», que fue contestado por el Ilmo. Académico Sr. Dr. D. Carlos Val-Carreres Guinda.

• Dr. D. José María Jimeno Romero, Dr. D. Jesús Estevan Herrero y Dr. D. Miguel Ángel Ferrández Valdés, que asumieron la organización de la II Reu-

nión Nacional de Anestesiología, durante la cual se fraguó la idea de realizar las siguientes reuniones independientemente de las reuniones nacionales de cirujanos.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Tormo García F. Historia y presente de la Anestesiología (Discurso de ingreso). Zaragoza: Real Academia de Medicina de Zaragoza; 1993: 9-48.
2. González Iglesias J. Historia de la Anestesia. Madrid: Fundación Wellcome; 1995: 40-62.
3. Franco Grande A. Antecedentes históricos y evolución de la especialidad. En: OMC. Serie monográfica de especialidades médicas: Anestesiología y Reanimación. Madrid. Consejo General de Colegios Médicos de España, 1990: 3-28.
4. Higgins Guerra LF. Historia de la Anestesiología. En: Higgins Guerra LF. Anestesiología Mexicana en Internet. www.anestesia.com.mx/histor.html
5. Schöfer HG, Scheidegger D. La anestesia, una sinfonía de arte, ciencia y artesanía. En Pötzsch R. Anestesia. En busca de la calidad. Basilea (Suiza), Ediciones Roche: 1991: 9-16.
6. Miguel J. Cabarrocas E. Bodas de plata de la Associació Catalana d'Anestesiologia i Reanimació (1953-1978). Rev Esp Anestesiol Reanim 1981; 28: 51-110.
7. Cantero F. Galería de anestesiólogos españoles. J. Miguel Martínez. Rev Esp Anestesiol Reanim 1969; 16: 175-181.
8. Cochs J. In Memoriam: Al maestro Dr. José Miguel Martínez (Barcelona, 1907-1998). Rev Esp Anestesiol Reanim 1999; 46: 51-52.
9. Actas de la Primera Asamblea General de la Asociación Española de Anestesiología. Noticias de la Asociación. Rev Esp Anestesiol 1954; 1: 52-62.
10. Boletín de la Asociación. Hypnos 1954; 2: 38-39.
11. García A. La sociedad científica y sus actividades. En: OMC. Serie monográfica de especialidades médicas: Anestesiología y Reanimación. Madrid. Consejo General de Colegios Médicos de España, 1990: 47-56.
12. Miguel J, Vela R. Contribución española a la Historia del Curare. Hypnos 1953; 1(1): 7-64.
13. Agosti L. Presoparesia e hipotensión controladas en Anestesiología. Hypnos 1953; 1(2): 5-47.
14. Bruguera E. La novocaina endovenosa en anestesia. Hypnos 1953; 1(3): 7-38.
15. Miguel J. Editorial. Hypnos 1954; 2: 4.
16. García R. La publicación científica especializada. En: OMC. Serie monográfica de especialidades médicas: Anestesiología y Reanimación. Madrid. Consejo General de Colegios Médicos de España, 1990: 57-74.
17. Asociación Española de Anestesiología. Hypnos 1954; 2: 40-42.

Características clínicas de una serie de 134 pacientes con infarto lacunar

Clinical characteristics of a serie of 134 patients with lacunar infarct

S. Santos, T. Casadevall, C. Tejero, C. Pérez, M. Garcés, O. Fabre

*Servicio de Neurología.
Hospital Clínico Universitario «Lozano Blesa». Zaragoza.*

RESUMEN

Objetivo: estudio comparativo del infarto lacunar IL versus infarto de otra categoría clínica INL. **Pacientes/método:** análisis prospectivo de 354 pacientes con ictus isquémico ingresados consecutivamente en nuestro hospital durante un año. Se consideraron dos grupos: IL (37,9%) e INL (62,1%). Se comparan edad, sexo, factores de riesgo, grado de déficit neurológico, latencia de ingreso hospitalario, estancia media, evolución, mortalidad y pronóstico a los tres meses. **Resultados:** los pacientes con IL son más jóvenes (70,81 vs 75,05 años; $p < 0.0001$), la gravedad del déficit neurológico es menor ($p < 0.0001$), el pronóstico funcional semanal es significativamente mejor ($p < 0.0001$) y presentan una menor mortalidad hospitalaria ($p < 0.0001$). No encontramos diferencias en la latencia de ingreso, pronóstico trimestral ni tampoco en los factores de riesgo vascular exceptuando la fibrilación auricular ($p < 0.0001$). El análisis multivariante confirma como predictores de IL la diabetes mellitus (OR: 2.23), el desconocimiento de la hora de inicio del ictus (OR: 2.12), el Índice de Barthel semanal (OR: 2.27), la fibrilación auricular (OR: 0.095), el antecedente de ictus previo (OR: 0.43) y una Escala Canadiense ≤ 5 en el momento del ingreso (OR: 0.193). **Conclusión:** la categoría clínica de IL cursa con factores de riesgo independientemente asociados (diabetes mellitus) y diferencias significativas en el pronóstico a corto plazo (estancia hospitalaria, desarrollo de complicaciones, mortalidad y calidad de vida a los siete días).

PALABRAS CLAVE

Ictus. Factores de riesgo. Infarto lacunar. Pronóstico.

SUMMARY

Aim: a comparative study between lacunar infarct LI and non-lacunar infarct NLI. **Patients/method:** a prospective analysis of 134 patients suffering from ischemic infarct that were consecutively hospitalized during a year. Two groups were considered: LI (39,1%) and NLI (62,1%). Age, sex, risk factors, degree of neurological deficit, time for being in-hospital, , evolution, mortality and functional outcome at three months. **Results:** patients with LI are younger (70,81 vs 75,05 years; $p < 0.0001$), with a mild degree of neurological deficit ($p < 0.0001$), functional outcome at the seventh day is better ($p < 0.0001$) and had a lower in-hospital mortality ($p < 0.0001$). We do not found any difference about time to be hospitalized, three-month functional outcome and risk factors except for atrial fibrillation ($p < 0.0001$). Multivariate analysis confirms as predictors of LI diabetes mellitus (OR: 2.23), unknown time of stroke onset (OR: 2.12), the seven-day Barthel Index (OR: 2.27), atrial fibrillation (OR: 0.095), previous stroke (OR: 0.43) and acute Canadian scale ≤ 5 (OR: 0.193). **Conclusions:** LI associates independent risk factors (diabetes mellitus) and significant differences in the immediate clinical features (median time of hospital-stay, mortality, seven-day functional outcome).

KEY WORDS

Stroke. Risk factors. Lacunar infarct. Outcome.

INTRODUCCION

Los infartos lacunares son pequeños infartos secundarios a la oclusión de las ramas penetrantes de las grandes arterias cerebrales. Constituyen un subgrupo perfectamente definido de etiopatogenia compleja y con características diferenciales respecto a los infartos aterotrombóticos y cardioembólicos^{1,2}. Revisando la literatura al respecto no existe un acuerdo a la hora de atribuirles una heterogeneidad clínica y pronóstica; encontramos también datos contradictorios en lo referente a los factores de riesgo asociados.

El objetivo de nuestro estudio es perfilar cuáles son los factores de riesgo más frecuentemente implicados en la patogenia del infarto lacunar, sus características clínico-evolutivas y sus diferencias pronósticas en relación al infarto cardioembólico y aterotrombótico.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo de una serie de 354 pacientes ingresados de forma consecutiva en el Hospital Clínico Universitario «Lozano Blesa» durante un año con el diagnóstico de infarto cerebral IC. Mediante un cuestionario estandarizado se recogieron las siguientes variables: edad, sexo, calidad de vida previa (escala de Rankin Modificada³), factores de riesgo vascular, gravedad del ictus mediante la escala canadiense EC^{4,5}, mortalidad hospitalaria, pronóstico funcional a los siete y noventa días (índice de Barthel IB⁶), desarrollo de complicaciones durante el ingreso) procesos intercurrentes que prolongaron la estancia hospitalaria o retrasaron la recuperación del paciente) y latencia de ingreso hospitalario.

Se entiende por latencia de ingreso hospitalario el tiempo transcurrido entre el inicio de la sintomatología neurológica compatible con un ictus y el ingreso del paciente en el Servicio de Urgencias del hospital.

Dentro de los factores de riesgo vascular⁷ se consideraron la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, la cardiopatía isquémica, la fibrilación auricular, otras cardiopatías embolígenas, el consumo de tabaco, el antecedente de ictus establecido o de isquemia transitoria (Ver anexo).

En la práctica clínica los pacientes fueron sometidos a un exhaustivo estudio con TC y/o RNM cerebral, ecodoppler de troncos supraórticos y doppler transcra-neal. En algún caso fue precisa la realiza-

ción de angio-RNM y/o ecocardiograma transtorácico/transesofágico.

METODOLOGIA ESTADISTICA

El tamaño de la muestra fue de 354 pacientes. El análisis estadístico comprende un estudio descriptivo, bi y multivariante utilizando un intervalo de confianza del 95%. El objetivo es caracterizar aquellos pacientes con IL y compararlos con los infartos cerebrales de otras etiologías INL.

Las variables continuas en estudio se caracterizaron mediante la media aritmética, desviación típica, máximo y mínimo. Las variables de tipo cualitativo se caracterizaron mediante su distribución de frecuencias. En el análisis bivariante se estudió si había diferencias significativas en el comportamiento de cada variable entre pacientes con o sin IL.

Para obtener un mayor rendimiento estadístico algunas variables, inicialmente cuantitativas, se han dicotomizado y transformado en variables categoriales. De esta forma se ha procedido con la puntuación en la EC y en el IB. Así, se considera ictus grave aquel en el cual la puntuación en la EC es ≤ 5 e ictus leve cuando EC > 5 . Del mismo modo el pronóstico funcional del paciente es pobre cuando IB ≤ 60 . A los pacientes fallecidos durante el período de seguimiento (tres meses) se les ha adjudicado una puntuación en el índice de Barthel ≤ 60 .

Para contrastar diferencias en características cualitativas se utilizó el contraste de ji-cuadrado para tablas de contingencia. Para las variables de tipo cuantitativo se ha utilizado el contraste no paramétrico de la U de Mann-Whitney. Posteriormente estas variables se han categorizado y se han tratado con el test de la ji-cuadrado. En el análisis multivariante se ha llevado a cabo una regresión logística para contrastar el efecto de todas las variables consideradas simultáneamente.

RESULTADOS

Ingresaron durante un año 540 pacientes de los cuales 103 fueron diagnosticados de isquemia transitoria, 81 pacientes de hemorragia parenquimatosa y/o subaracnoidea y en dos pacientes no se pudo establecer el diagnóstico. El volumen final de la muestra fue por tanto de 354 pacientes, de los cuales 192 eran varones (54,23%) y 162 mujeres (45,76 %). La edad media fue de 73,45 años con una desviación estándar (DE) de 10,17 años. El principal factor de riesgo vascular fue la

hipertensión arterial HTA (n= 201) y de mayor a menor frecuencia, la presencia de fibrilación auricular (n= 83), ictus establecido previo (n=79), diabetes mellitus (n=79), tabaquismo (n= 56), cardiopatía isquémica (n= 46), antecedente de isquemia transitoria (n= 26) y otras cardiopatías embolígenas (n=25). Conocían la hora exacta de inicio de los síntomas 204 pacientes siendo la latencia media de ingreso de 10,89 horas (DE: 21,13 horas).

Fueron diagnosticados de IL 134 pacientes (37,9%) y 220 pacientes (62,1%) de infarto de otras etiologías (INL). A los siete días de evolución presentaban un IB ≤ 60 (no considerando los fallecidos) 139 pacientes (41,5%). La estancia media hospitalaria fue de 12,29 días (DE: 7,35). Desarrollaron complicaciones durante el ingreso el 30,5% (n= 108 pacientes) y la mortalidad hospitalaria media fue del 9,32% (n=33 pacientes). En 308 pacientes (87%) fue posible completar un seguimiento de tres meses (en todos los IL y en 174 de los INL); el pronóstico funcional fue pobre en 191 pacientes (62%).

En el grupo de pacientes diagnosticados de IL la edad media fue de 70,81 años (DE: 10,206) y la proporción hombre/mujer de 86/48. Entre los principales factores de riesgo destacaron la HTA (n=74), la diabetes mellitus (n= 35), el consumo de tabaco (n= 26), el ictus previo (n= 19), la cardiopatía isquémica (n= 16), la isquemia transitoria previa (n= 14), la fibrilación auricular (n= 6) y otras cardiopatías embolígenas (n=4). Conocían la hora de inicio de los síntomas 68 pacientes; en este subgrupo la latencia media de ingreso fue de 14,1 horas (DE: 27,84). Las principales razones por las cuales desconocían el momento del debut sintomático fueron la instauración del déficit durante el sueño (n= 48) y el deterioro cognitivo y/o del nivel de conciencia del enfermo (n= 14). La gravedad del déficit neurológico en urgencias fue valorada mediante la EC puntuando por debajo de 5 (déficit extenso) doce pacientes.

Desarrollaron complicaciones el 18,65% (n= 25) entre las cuales destacaron la infección del tracto urinario (n=5), la fiebre sin foco aparente (n=4), la neumonía (n=3), las crisis epilépticas sintomáticas agudas (n=3), la insuficiencia cardiaca (n=2), epigastralgia (n=3), trastornos metabólicos (hipoglucemia, hiponatremia) (n=3) y el ictus de repetición (n=2). A los siete días 32 pacientes (24,24%) teni-

an un IB ≤ 60 ; a los tres meses esta cifra aumentó a 76 pacientes (56,71%). Fueron dados de alta a su domicilio 113 pacientes mientras que trece pacientes fueron derivados a hospitales concertados de larga estancia y seis pacientes a residencias. La estancia hospitalaria fue de 10,28 días (DE: 4,46) y la mortalidad del 1,49% (n=2). En 129 pacientes (96%) fue posible valorar tres meses después el pronóstico funcional mediante el IB; se consideró que tenían una calidad de vida deficiente (IB ≤ 60) 76 pacientes (58,91%).

Tras llevar a cabo un análisis bivariable se comprueba (Tabla 1) que los pacientes con IL son más jóvenes (70,81 vs 75,05 años; $p < 0.001$) y pertenecen de forma significativa al sexo masculino ($p = 0.003$). En lo referente a los factores de riesgo vascular los INL asocian de forma significativa el antecedente de ictus previo ($p = 0.0016$), la fibrilación auricular ($p < 0.001$) y la presencia de otras cardiopatías embolígenas ($p = 0.019$). No encontramos diferencias en cuanto al resto de factores de riesgo.

La hora de inicio de los síntomas era conocida por un número significativamente más alto de pacientes en el grupo de INL (68 vs 136; $p = 0.013$) pero ello no se tradujo en diferencias en la latencia de ingreso hospitalario (14,1 vs 9,33; $p = 0.196$). La gravedad del déficit neurológico en urgencias fue menor en los IL ($p < 0.001$). A los siete días el pronóstico funcional era significativamente mejor ($p < 0.001$); sin embargo no encontramos diferencias en el pronóstico funcional a los tres meses ($p = 0.341$).

El desarrollo de complicaciones durante la hospitalización y la mortalidad se asociaron más frecuentemente a los INL ($p < 0.001$ y $p < 0.0001$ respectivamente); lógicamente la estancia media fue también más prolongada en este subgrupo de pacientes (10,28 vs 13,51 días; $p = 0.003$).

Si consideramos el subgrupo de pacientes de edad superior a 80 años (n=92) y comparamos factores de riesgo vascular, estancia media, sexo y mortalidad tan solo encontramos diferencias significativas en el consumo de tabaco ($p = 0.008$); en este sentido la proporción de pacientes con IL y edad superior a 80 años que fumaba era muy baja. En nuestra muestra tan sólo seis pacientes eran mayores de 85 años por lo que no se aplicó en este subgrupo la estadística comparativa.

Posteriormente se ha llevado a cabo una regresión logística para determinar la influencia de cada factor considerado individualmente. El modelo finalmente aceptado incluye como predictores independientes de IL la gravedad del déficit neurológico (EC ≤ 5), la presencia de fibrilación auricular, diabetes mellitus, el antecedente de ictus previo, la puntuación en el IB a los siete días y el desconocimiento de la hora de inicio de los síntomas. La estimación de los odds-ratio y la significación de las covariables en el modelo final se refleja en la tabla 2. Ello significa que tienen 2,23 veces más riesgo de presentar un IL aquellos pacientes con diabetes mellitus frente a aquellos que no la tienen. Del mismo modo aquellos pacientes que desconocen la hora de inicio de los síntomas tienen 2.12 más probabilidades de presentar un IL. Con este modelo predecimos el 72.82% de todos los casos; de ello se deduce que si bien el modelo no es determinante sí que existen una serie de factores relacionados.

DISCUSION

El infarto lacunar constituye aproximadamente el 20-25% de todos los ictus isquémicos. Se le atribuye un mejor pronóstico en relación al infarto aterotrombótico y cardioembólico con una tasa de mortalidad anual más baja, un mejor pronóstico funcional a largo plazo y un menor índice de recurrencia que oscila entre el 10 y el 11,3%⁸⁻¹¹. El pronóstico es aún mejor en pacientes jóvenes¹².

Si comparamos con estudios previos la hipertensión arterial es considerada, después de la edad, el principal factor de riesgo en la patología vascular cerebral isquémica y hemorrágica¹³⁻¹⁶. Nosotros hemos encontrado un 56,77% de pacientes hipertensos lo cual concuerda con otros datos publicados¹⁶. La diabetes mellitus aparece en el 22,31% de los pacientes mientras que los porcentajes obtenidos por otros pacientes varían entre un 4 y un 26%^{15,16}. Considerando el subgrupo de pacientes con INL observamos que tan sólo la fibrilación auricular, el antecedente de ictus previo y la presencia de otras cardiopatías embolígenas alcanzan significación clínica.

Al analizar el grupo de pacientes con IL comprobamos cómo la ausencia de fibrilación auricular y la presencia de diabetes mellitus como factor de riesgo se confirmaron como variables independientes. Existen sin embargo datos contradictorios en la literatura. En este sentido Inzita-

ri y colaboradores¹⁷ encuentran que la diabetes mellitus y la hiperlipidemia son mucho más frecuentes que la HTA como factores de riesgo del IL. Landi y colaboradores¹⁸ tan solo destacan la mayor frecuencia de cardioembolismo en los INL. En la serie publicada por Kazui¹⁸ se confirmaron como factores de riesgo asociados al IL la HTA, el consumo de tabaco y la aterosclerosis aórtica. En los estudios de You¹⁹ y Gandolfo²⁰ los pacientes con IL asociaban de forma significativa HTA, tabaquismo y diabetes mellitus y además en la serie de Tanizaki²¹ obesidad y alteraciones electrocardiográficas consistentes en infradesnivelación del segmento ST.

En otras series publicadas no encuentran diferencias en la prevalencia de factores de riesgo entre IL e INL^{22,23}. Cuando el paciente presentaba una neuroimagen compatible con múltiples infartos lacunares asociaba de forma significativa leucoaraiosis en el TC cerebral, cardiomegalia e hipertensión arterial diastólica²⁴. Otros autores han demostrado que la presencia de múltiples imágenes lacunares obliga a descartar otras causas diferentes a las habituales como la cardioembolígena²⁵.

Besson y colaboradores²⁶ no encontraron diferencias en lo referente a factores de riesgo vascular entre el grupo de IL clásicos (aquellos que cursan con los síndromes motor o sensitivo puro, disartria mano torpe y hemiparesia-ataxia) y el grupo de IL atípicos que engloban todos los demás síndromes lacunares destacando entre ellos en frecuencia el síndrome hemicorea- hemibalismo. Ello iría a favor de que los IL constituyen un grupo bien definido con determinados factores de riesgo y diferente pronóstico.

En los pacientes mayores de 85 años el cardioembolismo es una etiología potencial más frecuente que en el resto de pacientes con IL²⁷. En nuestra serie la frecuencia de pacientes muy viejos no era alta (n=6) y no permitió realizar una valoración estadística. No obstante al considerar el subgrupo de pacientes con edad superior a 80 años comprobamos como la incidencia de tabaquismo era significativamente inferior.

Existen también datos contrapuestos en la literatura en lo referente al pronóstico del infarto lacunar. En nuestra serie tras un período de valoración de tres meses no encontramos diferencias significativas, al igual que en previos trabajos con un seguimiento de quince meses²⁸. Sin embargo otros autores en los cuales

TABLA 1. ANALISIS BIVARIANTE COMPARATIVO ENTRE IL E INL

Variable	IL	INL	p-valor
Tamaño de la muestra	n=134	n=220	
Sexo (varón)	86 (64,17%)	106 (48,18%)	0.003
Edad (años)	0,81 (DS: 10.20)	75,05 (DS: 9.83)	0.0001
Cardiopatía isquémica	16 (11,94%)	30 (13,63%)	NS
Hipertensión arterial	74 (55,22%)	127 (57,72%)	NS
Diabetes mellitus	35 (26,11%)	44 (20%)	NS
Tabaquismo	26 (19,4%)	30 (13,63%)	NS
AIT previo	14 (10,44%)	12 (5,45%)	NS
Ictus establecido previo	19 (14,17%)	60 (27,27%)	0.001
Otras cardiopatías embolígenas	4 (2,98%)	21 (9,54%)	0.019
Fibrilación auricular	6 (4,47%)	77 (35%)	0.0001
Hora de inicio conocida	68 (50,74%)	136 (61,81%)	0.013
Latencia de ingreso (horas)	14,1 (DS: 27.8)	9,33 (DS: 16.89)	NS
Latencia ≤ 6 horas	41 (30,59%)	97 (44,09%)	NS
Estancia hospitalaria (días)	10,28 (DS: 4.46)	13,51 (DS: 8.43)	0.003
Complicaciones	25 (18,65%)	83 (37,72%)	0.001
EC ≤ 5	12 (8,95%)	86 (39,09%)	0.0001
IB ≤ 60 (siete días)	32 (23,88%)	107 (48,63%)	0.0001
IB ≤ 60 (tres meses)	76 (56,71%)	115 (52,27%)	0.341
Mortalidad	2 (1,49%)	31 (14,09%)	0.0001

TABLA 2. PREDICTORES INDEPENDIENTES DE IL

Factor de riesgo (IL)	p-valor	Odds-Ratio
Fibrilación auricular	0.000	0.095
Ictus previo	0.0396	0.434
Hora de inicio desconocida	0.0113	2.12
IB semanal >60	0.0233	2.277
Diabetes mellitus	0.0256	2.233
EC ≤ 5	0.003	0.193

el período de seguimiento ha sido notablemente superior, casi tres^{10,29}, cuatro³⁰ y cinco años³¹, han observado una menor tasa de recurrencia de ictus y una mortalidad inferior. Entre los factores predictores de mortalidad destacan la edad del paciente³¹, el grado de afectación neurológica^{29,31}, la puntuación en el IB a los siete días^{31,32}, la diabetes mellitus³⁰ y el consumo de tabaco³⁰. Se consideraron predictores independientes de mal pronóstico a largo plazo el grado de afectación motora al mes de evolución²⁹, la intensidad de la leucoencefalopatía isquémica valorada por técnicas de neuroimagen²⁹, la edad del paciente, la presencia de diabetes mellitus y el antecedente de ictus establecido o ataque isquémico transitorio³⁰.

Una de nuestras conclusiones es el mejor pronóstico del IL a corto plazo (IB a los siete días de evolución); se podría aducir que probablemente se deba a la menor gravedad del ictus ya que de hecho demostramos que puntúan mejor en la EC. No obstante ambas variables se confirman como predictores independientes lo cual nos lleva a interpretar dicho mejor pronóstico como resultado de una menor frecuencia de complicaciones y una probable menor recurrencia del ictus (aspecto no valorado en nuestro estudio pero sí reflejado en otras series).

Adachi et al²² publican recientemente una serie de pacientes con IL diferenciados en cuanto a su patogenia (microembolización procedente del corazón o de grandes arterias o microangiopatía). No

encuentran diferencias significativas en cuanto a la presencia o

ausencia de determinados factores de riesgo vascular pero sí en lo referente a la neuroimagen. En este sentido la presencia de múltiple infartos, la hipertensividad a nivel de los ganglios de la base y la leucoencefalopatía isquémica son predictores de infarto lacunar por microangiopatía. Clínicamente el carácter progresivo del déficit neurológico también se asocia al infarto lacunar por lesión de pequeño vaso.

Concluimos resaltando el mejor pronóstico a corto plazo (primeros siete días de evolución) del IL (en este estudio no se confirmó para los primeros tres meses probablemente porque se precise un tiempo de seguimiento mayor) así como la multiplicidad de los factores de riesgo implicados destacando como más frecuentes la diabetes mellitus, HTA y tabaquismo. En nuestra serie tan sólo la diabetes mellitus se asocia de forma significativa al IL quizá por el reducido tamaño de la muestra.

BIBLIOGRAFIA

1. Fisher CM. Capsular infarcts: the underlying vascular lesions. *Arch Neurol* 1979; 36: 65-73.
2. Millikan CH. About lacunes. En: Donnan G, Norving B, Bamford J, Bogousslavsky J, eds. *Lacunar and other subcortical infarctions*. New York: Oxford University Press, 1995: 23-28.
3. Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60: 2. Prognosis. *Scott Med J* 1957; 2: 200-215.

4. Cote R, Hachinski VC, Shurvell BL, Norris JW, Wolfson C. The Canadian Neurological Scale: a preliminary study in acute stroke. *Stroke* 1986; 17: 731-737.

5. Cote R, Battista RN, Wolfson C, Boucher J, Adam J, Hachinski V. The Canadian Neurological Scale: validation and reliability assessment. *Neurology* 1989; 39: 638-643.

6. Mahoney FL, Barthel DW. Functional evaluation: the Barthel index. *Maryland State Med J* 1965; 14: 61-65.

7. López-Pousa S, Vilalta J, Llinás J. Prevalencia de la EVC en España: estudio en un área rural de Gerona. *Rev Neurol* 1995; 23(123): 1081-1086.

8. Ilzecka J, Stelmasiak Z. Practical significance of ischemic stroke OCSF (Oxfordshire Community Stroke Project) classification. *Neurol Neurochir Pol* 2000 Jan-Feb; 34 (1): 11-22.

9. Gandolfo C, Moretti C, Dall'Agata D, Primavera A, Brusa G, Loeb C. Long-term prognosis of patients with lacunar syndromes. *Acta Neurol Scand* 1986 Sep; 74 (3): 224-229.

10. Landi G, Cella E, Boccardi E, Musicco M. Lacunar versus non-lacunar infarcts: pathogenetic and prognostic differences. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55 (6): 441-445.

11. Petty GW, Brown RD, Whisnant JP, Sicks JRD, O'Fallon WM, Wiebers DO. Ischemic stroke subtypes. A population-based study of functional outcome, survival and recurrence. *Stroke* 2000; 31 (5): 1062-1068.

12. Hofbauer LC, Schmauss S, Fuchshuber S, Danek A, Heufelder AE. Lacunar cerebral infarction in a young woman. *Dtsch Med Wochenschr* 1995 Dec 22; 120 (51-52): 1777-1782.

13. Jentorp P, Berglund G. Stroke registry in Malmo, Sweden. *Stroke* 1992; 23: 357-361.

14. Hu HH, Sheng WY, Chu FL, Lan CF, Chiang BN. Incidence of stroke in Taiwan. *Stroke* 1992; 23: 1237-1241.

15. Nakayama T, Date C, Yokoyama T, Yoshii-ke M, Tanaka H. A 15,5-year follow-up study of stroke in a Japanese provincial city. The Shibata study. *Stroke* 1997; 28: 45-52.

16. Martín R, Gómez R, Alberdi M, Matías-Guiu J. Aproximación al coste hospitalario del accidente vascular cerebral. *Rev Neurol* 1995; 23: 304-306.

17. Inzitari D, Eliasziw M, Sharpe BL, Fox AJ, Barnett HJ. Risk factors and outcome of patients with carotid stenosis presenting with lacunar stroke. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Group. *Neurology* 2000; 54: 660-666.

18. Kazui S, Levi CR, Jones EF, Quang L, Calafiore P, Donnan GA. Risk factors for lacunar stroke: a case-control transesophageal echocardiographic study. *Neurology* 2000; 54: 1385-1387.

19. You R, McNeil JJ, O'Malley HM, Davis SM, Donnan GA. *Neurology* 1995; 45: 1483-1487.

20. Gandolfo C, Caponetto C, Del Sette M, Santoloci D, Loeb C. Risk factors in lacunar syndromes: a case-control study. *Acta Neurol Scand* 1988; 77: 22-26.

21. Tanikazi Y, Kiyohara Y, Kato I, Iwamoto H, Nakayama K, Shinohara N, Arima H, Tanaka K, Ibayashi S, Fujishima M. Incidence and risk factors for subtypes of cerebral infarction in a general population: the Hisayama Study. *Stroke* 2000 Nov; 31 (11): 2616-2622.

22. Adachi T, Kobayashi S, Yamaguchi S, Okada K. MRI findings of small subcortical «Lacunar-like» infarction resulting from large vessel disease. *J Neurol* 2000; 247: 280-285.

23. Kaul S, Venkateswamy P, Meena AK, Sahay R, Murthy JM. Frequency, clinical features and risk factors of lacunar infarction (data from a stroke registry in South India). *Neurol India* 2000 Jun; 48 (2): 116-119.

24. Spolveri S, Baruffi MC, Cappelletti C, Semerano F, Rossi S, Pracucci G, Inzitari D. Vascular risk factors linked to multiple lacunar infarcts. *Cerebrovasc Dis* 1998; 8 (3): 152-157.

25. Ay H, Oliveira-Filho J, Buonnano FS, Ezzedine M, Schaefer PW, Rornorf G, Schwamm LH, González RG, Koroshetz WJ. Diffusion-weighted imaging identifies a subset of lacunar infarction associated with embolic source. *Stroke* 1999; 30: 2644-2650.

26. Besson G, Hommel M, Perret J. Risk factors for lacunar infarcts. *Cerebrovasc Dis* 2000; 10 (5): 387-390.

27. Arboix A, García-Eroles L, Massons J, Oliveres M, Targa C. Lacunar infarcts in patients aged 85 years and older. *Acta Neurol Scand* 2000; 101 (1): 25-29.

28. Ortells ML, Mostacero E. Heterogeneidad patogénica clínica y pronóstica de los infartos subcorticales. *Rev Neurol* 1996; 24 (126): 179-182.

29. Samuelsson M, Soderfeldt B, Olsson GB. Functional outcome in patients with lacunar infarction. *Stroke* 1996; 27 (5): 842-846.

30. Clavier I, Hommel M, Besson G, Noelle B, Perret JE. Long-term prognosis of symptomatic lacunar infarcts. A hospital-based study. *Stroke* 1994 Oct; 25 (10): 2005-2009.

31. Salgado AV, Ferro JM, Gouveia-Oliveira A. Long-term prognosis of first-ever lacunar strokes. A hospital-based study. *Stroke* 1996; 27 (4): 661-666.

32. Ryglewicz D, Baranska-Gieruszczak M, Rozenfeld A, Mendel T, Kozłowski P. Annual survival rates in lacunar stroke in relation to neurological status, risk factors and applied antiaggregation treatment. *Neurol Neurochir Pol* 1997 Nov-Dec; 31 (6): 1091-1100.

ANEXO 1: DEFINICION DE FACTORES DE RIESGO

Fibrilación auricular: el diagnóstico se realizó a través del ECG.

Infarto agudo de miocardio/angor/ cardiopatía isquémica: el diagnóstico de infarto agudo de miocardio se realizó si había existido un cuadro clínico compatible con el

mismo, confirmado por la presencia de alteraciones en el ECG, o incremento de las concentraciones séricas de las GOT, LDH o CPK. El diagnóstico de angina de pecho se basó en la historia clínica, si había existido dolor torácico intenso, constrictivo, presionante u opresivo, que pudiese irradiarse al cuello, maxilar, hombro o brazo, de corta duración (menos de cinco minutos), y desencadenado por esfuerzo físico, estrés, nerviosismo o exposición al frío o al viento.

Otras cardiopatías embolígenas: En el subgrupo de cardiopatías embolígenas se incluyeron la acinesia segmentaria ventricular izquierda, la prótesis valvular mecánica, la fibrilación auricular (excepto la fibrilación auricular aislada), la enfermedad del seno, la fibrilación auricular por estenosis mitral, el infarto agudo de miocardio reciente (primeras cuatro semanas de evolución), la miocardiopatía dilatada (definida por una fracción de eyección inferior al 35%) y la presencia de trombos ventriculares o auriculares izquierdos.

Diabetes mellitus: el diagnóstico se realiza cuando se cumple una o más de las siguientes circunstancias :

- historia de diabetes mellitus
- tratamiento con antidiabéticos
- glucemia en ayunas >140mg/dL, en al menos dos determinaciones separadas

y que requiere tratamiento después del período agudo del ictus. Debido a que el ictus agudo puede causar una hiperglucemia como respuesta al estrés, una elevación de la glicemia en urgencias no se considera suficiente para el diagnóstico ; en estos pacientes se debe repetir la determinación para establecer el diagnóstico de diabetes mellitus. Aquellos pacientes en tratamiento con esteroides no pueden ser clasificados de diabéticos a no ser que exista una clara evidencia.

Hipertensión arterial: el diagnóstico se realiza cuando se cumple una o más de las siguientes circunstancias :

- hipertensión conocida previamente al ictus, tratada o no
- diagnóstico de hipertensión arterial :
 - presión sanguínea sistólica > 160mmHg y/o diastólica > 90mmHg, en dos o más tomas, y que requiere tratamiento después del período agudo del ictus (siete días después del inicio del ictus)
 - si un paciente está hipertenso en urgencias y se desconoce el antecedente de hipertensión, se requiere la presencia de hipertrofia ventricular izquierda en el ECG y/o retinopatía hipertensiva en el examen oftalmológico.

Tabaquismo: se consideró fumador al sujeto que había fumado diez o más cigarrillos al día durante un tiempo superior a los cinco años, aunque éstos no fueran seguidos. Si en el momento de la entrevista llevaba más de dos años sin fumar, a pesar de registrarse antecedentes de tabaquismo, se consideró como no fumador.

Alcoholismo: se define como sujeto con hábito enólico a aquellos que contabilizaban uno o más ítems afirmativos en el cuestionario MALT. Los ítems que componen la parte objetiva del cuestionario MALT son : enfermedad hepática tras descartar origen no alcohólico, polineuropatía tras descartar origen no alcohólico, delirium tremens, consumo de alcohol superior a los 150 mL (120 mL para las mujeres) de alcohol al día durante tres o más meses, consumo de alcohol superior a los 300 mL (240 mL en mujeres) de alcohol una vez al mes, fetor enólico, y la búsqueda por parte de la familia de consejo o tratamiento por el problema enólico del paciente.

ORIGINALES

Acupuntura en relación al dolor, actividad física y la necesidad del apoyo para la marcha, en el posoperatorio de las quirurgías artroscópicas en la rodilla.

Acupuncture related to pain, physical activity and the need for gait support, in postoperative processes of arthroscopic knee surgery.

R. Saidah¹, A. Gomes Chueire², W. Abou Rejaill³, N.R. Basso Peres⁴, J.B. Guerreiro da Silva¹, L. Piccart¹, F. Schiavo¹

1. Servicio de Acupuntura del Dpto. de Medicina de la Facultad de Medicina de São José do Rio Preto, SP. Brasil

2. Dpto. de Ortopedia y Traumatología de la Facultad de Medicina de São José do Rio Preto, SP. Brasil

3. Servicio de Ortopedia y Traumatología de la Santa Casa de Misericórdia de São José do Rio Preto, SP. Brasil

4. Dpto. de Fisioterapia de la Clínica Santa Edwiges de São José do Rio Preto, SP. Brasil

Hospital Clínico Universitario «Lozano Blesa». Zaragoza.

RESUMEN

El presente estudio tuvo la finalidad de evaluar la eficacia de la Acupuntura en el postquirúrgico de las quirurgías artroscópicas de la rodilla utilizándose de la técnica «al opuesto» de la Medicina Tradicional China. Los 36 pacientes portadores de gonalgia distribuidos según la patología encontrada en las artroscopias quirúrgicas: el 50,0% tenían lesión del menisco medial aislada, el 19,44% lesión meniscal en asociación a la artrosis de la rodilla, el 11,11% lesión meniscal lateral asociada a la artrosis de la rodilla, el 8,33% lesión meniscal lateral aislada de la rodilla, el 2,77% presentaban lesión en ambos meniscos aislados, el 2,77% presentaban condromalacia de la patela y el 2,77% eran portadores de cuerpo libre. Los pacientes del grupo I (acupuntura), 18, fueron sometidos a 20 sesiones de acupuntura, utilizándose puntos de acupuntura contra-lateral de la rodilla afectada y los pacientes del grupo II (fisioterapia), 18, fueron sometidos a 20 sesiones de fisioterapia, asociadas a antiinflamatorios no esteroides (AINE). El análisis estadístico no paramétrico de los resultados obtenidos de los datos subjetivos (intensidad del dolor relatado, dificultad para caminar, arrodillarse, subir y bajar escaleras, correr, el uso del apoyo para la marcha) evidenció buenos resultados en la mayoría de los parámetros estudiados. Aunque los resultados fueron semejantes la acupuntura presentó mejores resultados del tratamiento más precozmente, mientras la fisioterapia más tardíamente.

PALABRAS CLAVE

Acupuntura, artroscopia, fisioterapia, rodilla, medicina tradicional china.

SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate the efficacy of Acupuncture in the postoperative arthroscopic knee surgery, using «The Opposite Side» technique from the Traditional Chinese Medicine. The 36 pain in the knee were grouped according to the disorders found during the arthroscopic surgery: 50% with isolated lesion of the medial meniscus, 19,44% with lesion of lateral meniscus associated to knee arthrosis, 11,11% with lesion of lateral meniscus associated to knee arthrosis, 8,33% with isolated lesion of lateral meniscus of the knee, 2,77% lesion of both isolated meniscus, 2, 77% with lesion of both isolated meniscus, 2,77% with chondromalacia patella, and 2,77% were free body carrier. Group I, 18 patients (Acupuncture) were submitted to 20 acupuncture session. Contralateral points of acupuncture were performed in the injured knee. Group II, 18 patients (Physiotherapy) were submitted to 20 physiotherapy agents. The non-parametrical analysis of the results showed that either the subjective data (pain intensity, difficulty in walking, in crouching, on going upstairs/downstairs, on running, on using some support walking) presented good results in the majority of the studied parameters. Although, the results of the treatment were similar, the acupuncture showed better results since it presented earlier improvement than the physiotherapy.

KEY WORDS

Acupuncture, arthroscopy, knee, physiotherapy, traditional chinese medicine.

Correspondencia: Rassen Saidah

C/ Rua Emilia J.J. Castro, 170. Jardim Redentor. Telefax: (17) 227-8769

CEP - 15085-310, São José do Rio Preto. Estado de São Paulo – Brasil.

E-mail: saidah@riopreto.com.br

INTRODUCCION

Uno de los aspectos curiosos por la Acupuntura es el tratamiento «al opuesto» de las algias periféricas, descrito en el libro Hoang Ti Nei Ching, escrito hace más de cuatro milenios, hecho que todavía no tiene comprobación científica clínica, sin embargo hay un respaldo científico para explicar este fenómeno a la luz de la neuroanatomía y de la neurofisiología, por medio del arco reflejo somato-somático cruzado¹.

La rodilla, por la concepción de la Medicina China, está relacionada con la Energía del *Gan* (Hígado) y con los Canales de Energía que pasan por esta región y que son seis^{1,2}. Los seis Canales de Energía *Yin*, del pie. Los Canales de Energía *Yang* son constituidos por Canales de Energía del *Wei* (Estómago), del *Dan* (Vesícula Biliar) y de la *Pangguan* (Vejiga) y los Canales de Energía *Yin*, por los Canales de Energía del *Gan* (Hígado), del *Shen* (Riñones) y del *Pi* (Bazo-Páncreas).

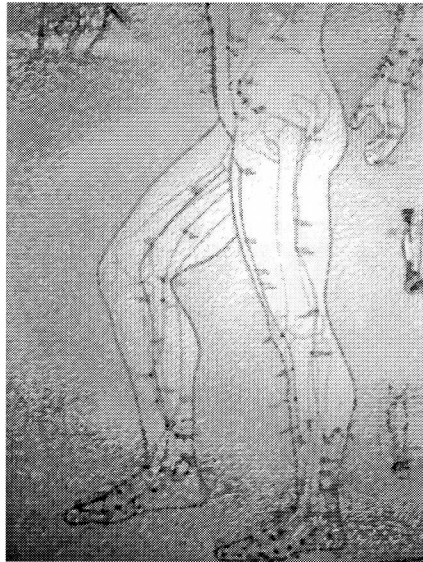
Estos seis Canales de Energía, en la concepción de la Medicina Tradicional China, son responsables por las actividades de las articulaciones de la rodilla, de los nervios y de la circulación sanguínea, así como son los responsables por el Proceso de Enfermedad no traumático o postraumático de la rodilla^{1,2,3}.

Las correlaciones topográficas evidencian que la conducción de los estímulos de la Acupuntura se relacionan con las fibras nerviosas de los nervios periféricos, comprobadas en pesquisas^{4,5}, asociándose el conocimiento de la Neuroanatomía y de la Neurofisiología en relación a los arcos reflejos cruzados a nivel de las rodillas y con la teoría de los canales de energía de la Medicina Tradicional China.

La inserción de agujas de acupuntura en los puntos situados en la rodilla sana, a través del arco reflejo somato-somático contra-lateral puede interferir en los mecanismos productores del desequilibrio de la rodilla afectada y consecuentemente del dolor y de los movimientos de la rodilla⁶.

La gran aplicabilidad de nuestro trabajo, además de la comprobación de la eficacia del tratamiento «Al Opuesto», es el uso de esta técnica en situaciones en las que se torna difícil la inserción de la aguja de acupuntura en la rodilla lesionada, como el uso de yeso posfractura y posquirurgia, en los procesos infeccio-

Figura 1.



Trayecto de los Canales de Energía – Puntos de la Acupuntura – Mapa 3 Publicación – Center AO – Dr. Ysao Yamamura.

ses e inflamatorios graves y, principalmente, en el posoperatorio de las quirúrgías artroscópicas de la rodilla.

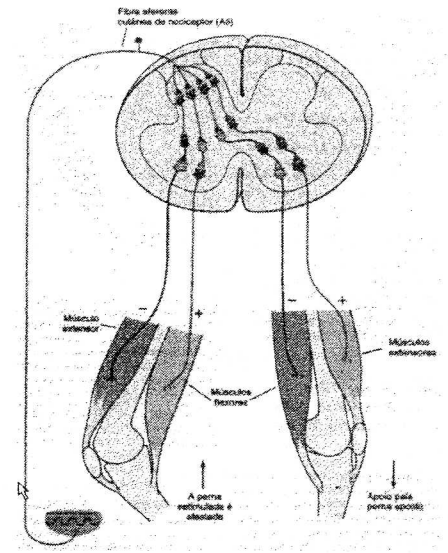
El objetivo de este trabajo es estudiar los efectos clínicos de los beneficios de la acupuntura en relación al dolor, actividad física y la necesidad del apoyo para la marcha, en el posoperatorio de las Quirúrgías Artroscópicas en la Rodilla, utilizándose la técnica «Al Opuesto» de la Medicina Tradicional China, comparable al grupo tratado con fisioterapia y medicamento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron estudiados 36 pacientes, en posoperatorio de quirúrgías artroscópicas simples en la Rodilla, de diversas patologías, matriculados en los ambulatorios del Servicio de Acupuntura del Departamento de Medicina, y del Departamento de Ortopedia y Traumatología de la Facultad de Medicina de São José do Rio Preto –SP– Brasil. Los pacientes fueron distribuidos aleatoriamente en 2 grupos iguales de 18 pacientes siendo que en el grupo I fueron realizadas 20 sesiones de acupuntura sin uso de Aine y en el grupo II 20 sesiones de fisioterapia asociadas al uso de Diclofenaco 50 mg. a cada 8 horas.

Los pacientes tenían edades que variaban de 17 a 77 años (media = 43 años); once de los pacientes eran del sexo femenino y veinticinco del sexo masculino, siendo veintiuna rodillas

Figura 2.



Arco Reflejo Somato-Somático Cruzado

del lado derecho y quince del lado izquierdo.

Los puntos de acupuntura locales fueron seleccionados basados en textos de Medicina China^{1,6}. Puntos seleccionados: M-MI-27 (*Hedding*), M-MI-16 (*Xiyan*), situados fuera de los canales de energía; B-54 (*Weizhong*), situado en el canal de energía de la vejiga; E-35 (*Dubai*), E-36 (*Zusanli*), en el canal de energía del estómago; VB-34 (*Yanglingquan*), en el canal de energía de la vesícula biliar; BP-9 (*Yinlingquan*), en el canal de energía del bazo-páncreas; R-10 (*Yingu*), canal de energía de los riñones; F-8 (*Ququan*), canal de energía del hígado. Estos puntos fueron aplicados en la rodilla sana, contra lateral a la cirugía realizada.

En ambos grupos hubo además de la evaluación inicial, evaluaciones a cada 5 sesiones de acupuntura o fisioterapia totalizando finalmente 4 evaluaciones en el posoperatorio por el médico ortopedista experto en cirugía de la rodilla de acuerdo con ficha de evaluación elaborada por el autor y aprobada por el Comité de Ética y Pesquisa de la FAR-MERP (parecer 089/2001).

RESULTADOS

Las 36 gonalgias estudiadas fueron distribuidas de acuerdo con las afecciones encontradas en las artroscopias quirúrgicas lo que permitió distribuir los 36 pacientes, de la siguiente forma: 18

(60,0%) eran portadores de sintomatología compatible con lesión meniscal medial aislada de la rodilla, 7 (19,44%) eran portadores de lesión meniscal medial asociada a la artrosis de la rodilla, 4 (11,11%) con el cuadro de lesión meniscal lateral asociada a la artrosis de la rodilla, 3 (8,33%) lesión meniscal lateral aislada de la rodilla, 1 (2,77%) presentaba lesión meniscal medial y lateral aislada de la rodilla, 1 (2,77%) presentaba lesión meniscal medial y lateral asociada a la artrosis de la rodilla, 1 (2,77%) presentaba condromalacia de patela y, 1 (2,77%) portador de cuerpo libre.

Los resultados encontrados en las evaluaciones pre y posoperatorio fueron sometidos a los tests estadísticos de McNEMAR, test de la Señal, análisis del test exacto de FISHER y el test de MANN-WHITNEY.

Cuanto al dolor relatado observamos que tanto en los pacientes del grupo I cuanto en los del grupo II hubo mejora significativa a partir de la 1ª evaluación siendo que la misma se mantuvo inalterada hasta la última evaluación en los dos grupos.

Cuanto a los valores de la escala de caminar en ambos grupos hubo mejora significativa entre las situaciones del pre y posoperatorio que ocurrió a partir de la 2ª evaluación.

Cuanto a la capacidad de arrodillarse la mejora fue significativa para el grupo I hubo mejora significativa, pero más precozmente en el grupo II.

Cuanto a los valores de subir y bajar escaleras hubo mejora significativa tanto en el grupo I cuanto en el grupo II en la 2ª evaluación.

Cuanto a la capacidad de correr relatada, la mejora fue significativa para el grupo I e no significativa para el grupo II.

Cuanto a la necesidad de apoyo para la marcha hubo mejora en la 1ª evaluación tanto en el grupo I cuanto en el grupo II.

DISCUSION

Son raros los trabajos en la literatura reportada que tratan del tratamiento de las gonalgias por la acupuntura, principalmente con el uso de la técnica «al opuesto» de la Medicina Tradicional China¹.

Clásicamente la Medicina Tradicional China recomienda el tratamiento «al

opuesto» en las afecciones agudas^{1,5}. Nosotros optamos por la utilización de esta técnica en casos crónicos, observándose en nuestro trabajo una mejora significativa del dolor relatado y en varios parámetros estudiados¹ y, también en este trabajo de pacientes en posoperatorio de las quirurgias artroscópicas en la rodilla.

Estudios realizados por varios autores demuestran que los puntos de acupuntura se relacionan con los nervios periféricos^{7,8} y, también, con la actividad del sistema nervioso autónomo, vía ramo dorsal del nervio espinal¹.

Así, existe relación de los puntos de acupuntura con las terminaciones nerviosas estimuladas, influyendo en la neurofisiología de los nervios espinales localizados en la rodilla, desde los filetes intraarticulares, que actúan como nociceptores, hasta su origen, situada al nivel medular⁴.

Además de los estímulos provocados por la aguja de acupuntura en los receptores, los estudios muestran los efectos del microtrauma producidos durante la penetración y manipulación de la aguja. La lesión microscópica provoca una estimulación de los sistemas inflamatorio e inmunológico, ocurriendo un proceso de vasodilatación local que promueve cambios en el tono del sistema nervioso autónomo, repercutiendo en el arco reflejo medular⁹.

Relacionándose los conceptos de la Medicina Tradicional China, en relación al tratamiento «Al Opuesto», con la neuroanatomía y neuro fisiología, observamos que un estímulo realizado en una rodilla puede tener efecto sobre la rodilla contralateral a través del reflejo somato-somático contralateral^{7,10,11,12}. Esto significa que, por ejemplo, un estímulo en la región anterior de la rodilla izquierda puede tener una respuesta en los músculos flejores de la rodilla derecha, y un estímulo de la región posterior de la rodilla izquierda puede tener una respuesta extensora de la rodilla derecha.

Durante el tiempo de tratamiento propuesto de 20 sesiones de acupuntura, se ha buscado analizar los beneficios de la acupuntura en la recuperación de los pacientes en el posoperatorio de las quirurgias artroscópicas en la rodilla, siendo el dolor la cuestión básica y sus consecuentes efectos en las actividades físicas de caminar, arrodillarse, subir y

bajar escaleras, correr, necesidad del apoyo para la marcha.

No resta duda que el dolor es un factor limitante para las actividades físicas y rutineras de un individuo y en las manifestaciones clínicas que puedan ocurrir posteriormente, con ello podemos deducir que la eliminación o la atenuación del dolor en la rodilla pueda contribuir en la biodinámica de la misma.

Los resultados por nosotros obtenidos sugieren que, en las condiciones dichas arriba, puede haber recuperación más rápida de la rodilla operada, auxiliando en el equilibrio biodinámico y evitando proceso inflamatorio. El tratamiento mirando dichas situaciones deben ser instituidos lo más precozmente posible, según ha sido demostrado en los resultados de YAMAMURA⁵ Y SAIDAH⁶.

Las ventajas observadas se refieren a la no utilización de antiinflamatorios y sus potenciales efectos colaterales descritos en la literatura, la posibilidad de trabajar con la rodilla más precozmente por utilizar la rodilla contralateral evitando desconforto al paciente y disminuyendo el riesgo de infección en la rodilla operada y, como mostrarán los datos la mejora en relación a la fisioterapia en las fases iniciales torna la acupuntura un excelente coadyuvante para el tratamiento *a posteriori* con la fisioterapia.

En el presente estudio no fue constituido un grupo control (acupuntura Sham) por motivo de ética médica y, también por el hecho de que la inserción de agujas de acupuntura en locales considerados no puntos de acupuntura, pueden presentar un relativo efecto^{3,13}.

CONCLUSION

Los resultados del tratamiento de 20 sesiones de acupuntura en 18 pacientes en el posoperatorio de las quirurgias artroscópicas de la rodilla, utilizándose la técnica «Al Opuesto» de la Medicina Tradicional China, de acuerdo con la metodología aplicada, mostraron una mejora significativa en la mayoría de los parámetros estudiados, con resultados más precozmente, mientras, que la fisioterapia presentó resultados mejores más tardíamente, aunque al final del tratamiento los resultados fueron semejantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Yamamura Y. Acupuntura: A Arte de Inserir. São Paulo, Roca 1993b.

2. Nguyen, V.N, Hoang Ti Nei King So Ouenn. Marseille. Ed. Socedin 1973; t. I, 290 p.
3. Chamfrault, A. Traité de Médecine Chinoise. Les livres sacrés de la médecine chinoise. Angoulême. Ed. Coquemard 1973. t.II.
4. Smith, F.W.K. Neurophysiologic Basis of Acupuncture. Probl. Vet. Med. 1992; 4: 34-52.
5. Yamamura, Y. Padronização do Tratamento das Algias Crônicas do Joelho pela Medicina Chinesa – Acupuntura. São Paulo 1993a (Tese de Mestrado - Escola Paulista de Medicina).
6. Saidah R. Tratamento das Algias do Joelho pela Acupuntura com a utilização da Técnica «AO OPOSTO» da Medicina Tradicional Chinesa 1997 (Tese de Mestrado) – São José do Rio Preto – SP.
7. Gardner, E. The Innervation of the knee. Anat. Rec. 1948; 101: 109-130.
8. Zonglian, H. A Study on the structure of acupuncture points and types of fibers conveying needling sensation. Chin. Med. J. 1979; 92: 223-232.
9. Kendall, D.E. Part I: A scientific model for acupuncture. Am. J. Acupunct. 1989^a; 17: 251-68.
10. Guyton, A.C. Neurociência Básica. Anatomia e Fisiologia. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan 1991.
11. Machado, A. Neuroanatomia Funcional. São Paulo, Atheneu 1993.
12. Netter, F.H. Osteoporosis. In: The CIBA Collections of Medical Illustrations - muscle skeletal system. New Jersey, CIBA-GEIGY Corporation 1987; 28.
13. Dung, H.C. Acupuncture points of the cranial nerves. Am. J. Chinese Med. 1984(a); Med. 12: 80-92.

CASO CLÍNICO

Inhalación ocupacional de gases de cloruro de polivinilo (PVC) sobrecalentado. Revisión de la literatura.

Occupational inhalation of overheated polyvynil chloride gases (PVC). Review of literature.

M.T. Tovar¹, J. Azúa-Romeo², A. Ros¹, T. Rubio⁴

1. Servicio de Urgencias. Hospital «Reina Sofía». Tudela.

2. Servicio de Patología. Hospital «Miguel Servet». Zaragoza.

4. Servicio de Medicina Interna. Hospital «Reina Sofía». Tudela.

RESUMEN

Presentamos el caso de un paciente que debutó con un cuadro inespecífico de dificultad respiratoria, irritación ocular y mucosa, mareos, náuseas y vértigo, con una saturación de O₂ de 49%. Como antecedente etiopatogénico manifestó inhalación laboral de gas tras sobrecalentamiento de PVC. Los compañeros de trabajo presentaron síntomas similares, aunque con menor intensidad.

La intoxicación aguda por gases de PVC es una situación infrecuente que provoca una sintomatología inespecífica derivada de la acción de sus dos componentes básicos HCL y CO. El tratamiento se basa en medidas de soporte respiratorio y actuando sobre las lesiones locales, como la irritación ocular y de mucosas.

Consideramos que en trabajadores de empresas petro-químicas o relacionadas con el tratamiento de plásticos hay que prestar especial atención a la intoxicación aguda y no solo a la patología crónica.

PALABRAS CLAVE

Cloruro de polivinilo (PVC). Intoxicación aguda. Carboxihemoglobina.

SUMMARY

Hereby, we report a case of a patient who complained of dyspnea, dizziness, headache and brown expectoration. He related occupational exposure to overheated polyvinyl chloride (PVC). Co-workers presented similar symptoms although in lower degree.

Acute intoxication by PVC is rare causing inespecific symptoms related to the action of its two main components, hydrochloridric acid and carbon monoxide. Treatment lies on the management of the respiratory function as well as the ocular and mucocutaneous irritation.

In petrochemical industry workers there should be a prudent control of PVC paying attention not only to the chronic exposure but also to the acute intoxications.

KEY WORDS

Polyvinyl chloride (PVC). Acute intoxication. Carboxihemoglobin.

INTRODUCCION

El cloruro de polivinilo (PVC) es un compuesto ampliamente utilizado en la industria, los efectos derivados de su uso continuado son muy conocidos^{1,2}, sin embargo la intoxicación aguda por inhalación de gases de PVC ha sido menos tratada en la bibliografía médica^{3,4}. En el Servicio de Urgencias de nuestro Centro atendimos un paciente con patología respiratoria aguda relacionada directamente con inhalación laboral de PVC, a propósito de este caso revisamos sus efectos, y alertamos sobre la necesidad de descartar exposiciones ocupacionales infrecuentes como causa de enfermedad respiratoria aguda.

CASO CLINICO

Se trata un varón de 56 años que acudió al Servicio de Urgencias por empeoramiento progresivo de una infección respiratoria comunitaria de 10 días de evolución con disnea, expectoración marronácea, mareos, cefalea y fiebre con delirio, que no cedían a pesar de tratamiento antibiótico y sintomático adecuados. Como antecedentes personales destacaba una fibrilación auricular paroxística, diabetes mellitus tipo II, ser fumador de 20-40 cigarrillos/día, y trabajar en una fábrica de plástico. Seguía tratamiento con amiodarona, insulina, trifusal y atenolol. A la exploración física el paciente se encontraba afebril, con cianosis de piel y mucosas, taquipnea (40 resp/min), pulso de 86 latidos/min, PA 138/75 mmHg, y saturación de O₂ de

Correspondencia: Mayte Tovar Lázaro

C/ Doctor Cerrada 24-26. Edif. Los Cedros, 2º Dcha. 50005 Zaragoza

Tel: 976 158 362 / 667 503 265. Fax: 976 379 891. E-mail: mayte_tovar@hotmail.com

49%. En la auscultación pulmonar se evidenciaban crepitantes bilaterales, mientras que la auscultación cardíaca fue normal. Los análisis hematológicos, bioquímicos y pruebas de coagulación fueron normales, con la excepción de leucocitosis ($16,4 \times 10^9/l$) con desviación izquierda; en la gasometría arterial destacaba un pH de 7,47 con pO_2 de 26 mmHg y pCO_2 de 33 mmHg - ésta prueba fue repetida con el fin de corroborar el resultado inicial-. El ECG fue no patológico, y la radiografía de tórax mostró condensaciones alveolares bilaterales.

Se instauró oxigenoterapia al 100%, glucocorticoides por vía IV y broncodilatadores. Ante la ausencia de respuesta se trasladó al paciente a la URCE (Unidad de Reanimación y Cuidados Especiales) con el diagnóstico provisional de neumonía comunitaria bilateral, tratando la insuficiencia respiratoria y administrando antibioterapia de amplio espectro, sin precisar soporte respiratorio ni circulatorio. A las 48 horas y con evolución favorable fue ingresado en planta, recibiendo el alta a los 7 días con una saturación de O_2Hb del 94%, y tratamiento domiciliario con claritromicina y cefuroxima.

Mientras permanecía ingresado relató, como antecedente epidemiológico, la inhalación laboral de humo tras sobrecalentamiento de plástico de PVC 5 días antes de su ingreso, con agravamiento de su clínica respiratoria e irritación ocular, junto con mareo y cefalea persistente. El resto de los trabajadores presentes sufrieron síntomas similares pero, de menor entidad que los suyos, fundamentalmente, mareos, vértigo, cefalea, e irritación de vías respiratorias altas y de los ojos, no precisando más que cuidados locales ambulatorios sin requerir ingreso.

DISCUSION

El PVC es una combinación química de carbono, hidrógeno y cloro. Sus materias primas provienen del petróleo (en un 43%) y de la sal común (en un 57%). Se obtiene por polimerización del cloruro de vinilo, fabricado a partir de cloro y etileno⁵. Es un material termoplástico, es decir, que bajo la acción del calor se reblandece y puede así moldearse fácilmente; al enfriarse recupera la consistencia inicial y conserva la nueva forma. Es un gas incoloro, con un característico olor dulzón, ligeramente soluble en agua y algo inflamable¹. Un kilogramo de PVC calentado a 300°C libera,

12,9 g de ácido clorhídrico (HCl) y 4,9 g de monóxido de carbono (CO)³.

El calentamiento de este material se realiza de manera frecuente en la industria, con el fin de aprovechar sus cualidades físicas pero, también pueden provocar intoxicaciones agudas y lesiones irritativas, directamente relacionadas con el tiempo de exposición y la cantidad de tóxico liberado. Los efectos del PVC quemado se dividen en los producidos por el HCl y los del CO, con especial afectación, de manera aguda, sobre el Sistema Nervioso Central con mareo, vértigo, náuseas, y cefalea, así como irritación ocular y de vías respiratorias^{1,2,6}. El HCl tiene acción local, irritando las zonas con las que entra en contacto, sobre todo mucosa oral y respiratoria. El CO no tiene efecto irritante, en cambio una vez en los alvéolos es rápidamente absorbido hacia la sangre y se une con la hemoglobina desplazando al oxígeno, y, además, el escaso oxígeno transportado es difícilmente cedido a los tejidos para su utilización, provocando hipoxia.

Las exposiciones mantenidas pueden dar lugar a la denominada «Enfermedad del PVC», con daño hepático, efectos pulmonares, acroosteolisis, cambios óseos distales en los dedos, engrosamiento de la piel y alteraciones hematológicas (anemia hemolítica)^{1,2}. Está bien establecida su relación con una rara variedad de cáncer hepático⁷, el angiosarcoma, y también se ha encontrado cierta asociación con tumores de pulmón, cerebro y tracto digestivo^{1,2}.

En el presente caso se aprecia una clara discordancia «cuantitativa» entre la exposición y la sintomatología, si bien la relación «cualitativa» parece acreditada, esto se debe a su mala situación respiratoria previa, por lo que la inhalación del gas la agravó, uniéndose a su neumonía adquirida la neumonitis química del HCl, y la clínica de la inhalación de CO. En casos de intoxicaciones leves por este material la clínica no suele ser persistente, ni de gran trascendencia pero, cuando existe una patología pulmonar anterior, ésta se agrava dando lugar a cuadros como el descrito en nuestro paciente.

Al carecer del antecedente epidemiológico se provocó una demora en el tratamiento, si bien en ese momento ya se encontraba estabilizado, se hubiera podido acelerar la recuperación aplicando una

terapéutica más ajustada a su etiopatogenia. En este tipo de intoxicaciones se debe actuar en dos frentes, por un lado frenar los efectos del HCl (irritantes), por lo que se debería actuar de inmediato, y los derivados del CO, provocados por la presencia de la carboxihemoglobina, lo que se evita aplicando oxígeno al 100%.

En la bibliografía revisada encontramos dos referencias^{3,4} que relatan sucesos similares, destacando la de 1982, en la que se refiere la afectación de 62 personas por calentamiento de PVC, con la sintomatología referida, no requiriendo ingreso, concluyendo que los pacientes con mayor persistencia de la sintomatología padecían enfermedad respiratoria previa.

Por todo lo expuesto consideramos que, si bien este tipo de intoxicaciones son infrecuentes, la realización de una exhaustiva anamnesis, con especial énfasis en la ocupación laboral, sobre todo en áreas con industria plástica y petro-química, puede guiarnos en la verdadera causa de la alteración respiratoria, y actuar en consecuencia⁸.

BIBLIOGRAFIA

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for vinyl chloride. U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, EEUU 1993

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Case studies in environmental medicine. Vinyl Chloride toxicity. U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, EEUU. 1990

Froneberg B, Johnson PL, Landrigan PJ. Respiratory illness caused by overheating of polyvinyl chloride. *Br J Ind Med* 1982; 39: 239-243

Colardyn F, van der Straeten M, Lamont H, van Peteghem T. Acute inhalation-intoxication by combustion of polyvinylchloride. *Int Arch Occup Environ Health* 1976; 38: 121-127

<http://www.foroibericopvc.com/> Foro Ibérico del PVC de ANAIP (Confederación Española de Empresarios de Plásticos) Avda. Burgos 21, 7ª Planta 28036 Madrid

Calabrese EJ, Kenyon EM. Air toxics and risk assessment. Lewis Publishers, Chelsea, EEUU. 1991

Mc Laughlin JK, Lipworth L. A critical review of the epidemiologic literature on health effects of occupational exposure to vinyl chloride. *J Epidemiol Biostat* 1999; 4: 253-275

Baser ME, Tockman MS, Kennedy TP. Pulmonary function and respiratory symptoms in polyvinylchloride fabrication workers. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 203-208

CASO CLÍNICO

Carcinoma adenoide quístico: un tumor de mama infrecuente

Adenoid cystic carcinoma: a rare breast tumor

E. Tobajas Asensio, R. Juan Castejón, M.J. Ondiviela García, P. Torralba Olloqui.

*Médicos especialistas en Radiodiagnóstico.
Unidad de Prevención de Cáncer de Mama del Gobierno de Aragón.*

RESUMEN

El carcinoma adenoide quístico es un tumor poco frecuente que representa menos del 1% de los carcinomas de mama con un mejor pronóstico que otras variedades histológicas. Las características histolopatológicas son similares a las encontradas en otros tejidos como el tracto respiratorio alto, glándulas salivares y vulva. Se presenta un caso de una mujer de 59 años con carcinoma adenoide quístico, con hallazgos inespecíficos en mamografía y en el estudio ecográfico mamario, cuyo diagnóstico se confirmó mediante cortes histológicos de la pieza quirúrgica.

PALABRAS CLAVE

Carcinoma adenoide quístico. Mamografía. Ecografía mamaria.

SUMMARY

Adenoid cystic carcinoma of the breast is an uncommon tumor occurring in less than 1% of breast carcinoma, but with a better prognosis than other varieties. The tumors are histologically indistinguishable in other sites, such as upper respiratory tract, salivary glands and vulva. In this 59 years old with mammographic and breast sonographic features were unspecifics, the diagnosis was made and confirmed in the histological sections.

KEY WORDS

Adenoid cystic carcinoma. Mammography. Breast sonography.

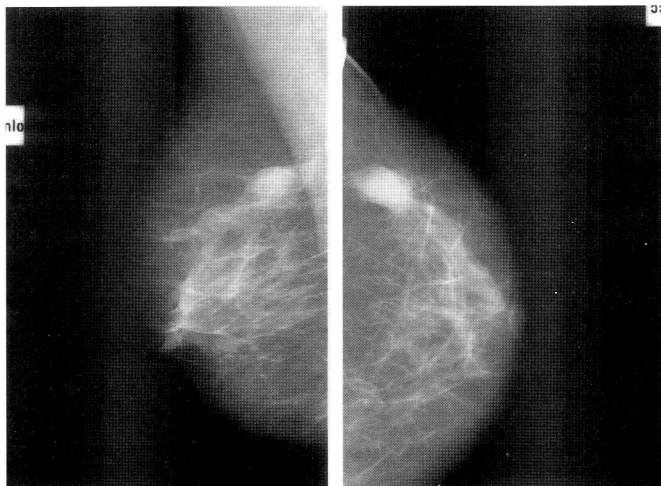
INTRODUCCION

El carcinoma adenoide quístico es un tipo de tumor infrecuente en la mama, representando menos del 1% del total de carcinomas de mama. La edad de presentación es similar a la del resto de cánceres de mama, pero a diferencia de la variante ductal, los antecedentes familiares no son un factor de riesgo. Esta neoplasia presenta características histológicas muy similares a otras tumoraciones cribiformes en diferentes tejidos como las glándulas salivares, tracto respiratorio superior o vulva. El pronóstico de estos tumores es mejor que el de resto de las variantes histológicas más frecuentes en la mama y con un menor número de recidivas. Suelen ser neoplasias con un diámetro que oscila entre 1 a 3 cm. de diámetro y suelen estar bien definidos (1).

Histológicamente se definen por la presencia de material mucoso en el interior de espacios glandulares que producen células basaloideas de pequeño tamaño con características mioepiteliales (2).

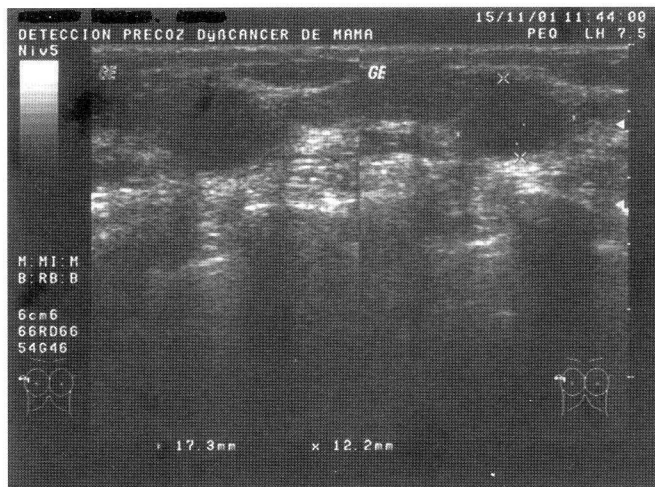
El síntoma clínico más frecuente de presentación es en forma de masa palpable, en ocasiones dolorosa a la palpación, no adherida a la piel ni al músculo. La afectación metastásica axilar es muy rara, diseminando por vía hematológica, siendo el pulmón el órgano diana más afectado y a continuación el hígado, cerebro, glándulas suprarrenales, vértebras y riñón.

Figura 1.



Mamografía en proyección oblicuamediolateral y cráneo-caudal que muestra un nódulo denso, parcialmente bien delimitado en el cuadrante superoexterno de mama derecha.

Figura 2.



Corte transversal en el estudio ecográfico mamario que demuestra una formación nodular hipoeoica con ecos internos heterogéneos, localizada en cuadrante superoexterno de mama derecha.

El diagnóstico radiológico y/o ecográfico no permite diferenciar este tipo de neoplasias del resto de subtipos histológicos (3). El estudio citológico mediante PAAF (Punción Aspiración con Aguja Fina) puede conseguir el diagnóstico en un número reducido de casos, confirmando el diagnóstico de manera intraoperatoria en la mayoría de los casos.

CASO APORTADO

Se trata de una mujer de 59 años de edad asintomática que es valorada por la *Unidad de Prevención de Cáncer de Mama del Gobierno de Aragón*, mediante mamografías bilaterales con proyecciones: Oblicuamediolateral y cráneo-caudal, según el protocolo existente en el screening de la Unidad. El estudio radiológico reveló la existencia de un nódulo denso, parcialmente bien delimitado de unos 20 mm., localizado en cuadrante supero externo de mama derecha. (Fig1).

En el estudio ecográfico complementario se evidenció una formación nodular, bien delimitada, hipoeoica con numerosos ecos internos heterogéneos y cuyo diámetro es de unos 19 x 12 mm.(Fig 2).

Para descartar malignidad se completó el estudio con una PAAF preoperatoria del nódulo de la mama derecha que informó de la existencia de células malignas sugestivas de carcinoma ductal y se consiguió la confirmación histo-

lógica del carcinoma adenoide quístico en el acto quirúrgico.

DISCUSION

El Carcinoma Adenoide Quístico es una variedad histológica rara en el conjunto de los carcinomas de mama (4). En nuestro caso la paciente estaba asintomática, aunque la forma clínica de presentación más frecuente es una tumoración. Se identificó el tumor mediante estudio radiológico y ecográfico mamario. Los signos radiológicos y ecográficos en estos tumores no son capaces de confirmar esta rara entidad. En nuestro caso, los hallazgos radiológicos y ecográficos encontrados, no fueron suficientes para demostrar la presencia de carcinoma adenoide quístico, coincidiendo con los autores consultados en la revisión bibliográfica realizada (3,5).

La confirmación diagnóstica se obtiene mediante estudio histológico. En el frotis característico se aprecian esferas extracelulares de material metacromático rodeadas de células pequeñas con escaso citoplasma y núcleo hiper cromático (6). Solamente en un número pequeño de casos se obtienen estos frotis tan demostrativos, siendo superponibles a los obtenidos en los carcinomas ductales, hecho este que sucedió en nuestra paciente. Si la PAAF preoperatoria establece el diagnóstico de carcinoma adenoide quístico, ayuda a la hora de tomar decisiones quirúrgicas, si bien, se consigue en un porcentaje reducido de casos (7,8). Sin embargo, el resulta-

do definitivo se obtiene generalmente de manera intraoperatoria.

En nuestro caso la paciente fue intervenida quirúrgicamente practicándose una mastectomía radical modificada en mama derecha con linfadenectomía axilar ante la sospecha de un carcinoma ductal infiltrante. Macroscópicamente la tumoración presentó unos límites irregulares, bien definidos de coloración grisácea con estriás amarillentas y consistencia elástica. No presentó alteraciones de la piel, ni pezón (9). Microscópicamente se observó un doble componente: Estromal y celular. El material celular estaba constituido por células poligonales, organizadas en nidos, cordones o estructuras tubulares o adenoides. El estromal estaba formado por un material homogéneo y hialino que dibujaba estructuras esféricas o entremezclado con elementos epiteliales. Estas características histológicas son específicas de este tipo de tumoración y coinciden con la literatura revisada (10).

El estudio inmunohistoquímico demostró positividad a la proteína S100, actina músculo específica y queratinas AE1-AE3, resultando negativas para receptores de estrógenos y progesterona, y con ausencia de metástasis en ganglios linfáticos, hallazgos que fueron confirmados en nuestro caso (11,12).

El tratamiento es quirúrgico y existe una gran controversia sobre la modalidad que debe de emplearse, unos

autores abogan por técnicas quirúrgicas conservadoras: Tumorectomía, cuadrantectomía, que aumentan la probabilidad de recidiva (4), y otros se inclinan por la realización de mastectomía (13). El tratamiento más adecuado se debe aplicar en función del grado histológico del tumor (14), no obstante, existen enormes dificultades para conseguir un diagnóstico histológico preoperatorio del tumor. En nuestro caso se realizó mastectomía radical modificada, ya que el informe histológico preoperatorio fue de carcinoma ductal, esta situación es habitual y está referenciada por la mayoría de los autores consultados (1,15).

Por último, reseñar que el carcinoma adenoide quístico de mama es una variedad histológica infrecuente que presenta un comportamiento biológico poco agresivo. La mamografía y la ecografía mamaria presentan signos orientativos de malignidad y poseen una baja especificidad para el diagnóstico del tumor. Si se consigue un diagnóstico histológico preoperatorio se pueden aplicar técnicas quirúrgicas conservadoras.

BIBLIOGRAFIA

1. Padilla JM, Ramia R, Pardo M, Delgado M, Martín J, Cubo T, Hernández J. Carcinoma adenoide quístico de mama. *Cir Esp* 1999; 65: 362-363.
2. Shin SJ, Rosen PP. Solid variant of mammary adenoide cystic carcinoma with basaloid features: a study of nine cases. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 413-420.
3. Zaloudek C, Dertel YC, Oreste JM. Adenoide cystic carcinoma of the breast. *Am J Clin Pathol* 1994; 81:297-307.
4. Romero M, Cruz H, Alcántara A, Robles S, Durán M. Carcinoma adenoide quístico de la glándula mamaria diagnosticado mediante biopsia con aguja fina. *Rev Med Hosp Gen Mex* 1999; 62: 135-137.
5. De La Portilla F, Ladrero D, Vidal M, Utrera A, Elizalde J, Pérez S. Carcinoma adenoide quístico de la mama. *Cir Esp* 1999; 65: 548-549.
6. Galed IP, García EV. Fine needle aspiration biopsy diagnosis of adenoide cystic carcinoma of the breast. A case report. *Acta Cytol* 1992; 36: 364-366.
7. Gupta RK, Dowle C. Fine needle aspiration cytodiagnosis of adenoide cystic carcinoma of the breast. *Diagn Cytopathol* 1996; 14: 328-330.
8. Culubret M, Roig I. Fine needle aspiration biopsy of adenoide cystic carcinoma of the breast. A case report. *Diagn Cytopathol* 1996; 15: 431-434.
9. Peters G, Wolff M. Adenoide cystic carcinoma of the breast. Report of 11 new cases: Review of the literature and discussion of biological behavior. *Cancer* 1982; 52: 680-686.
10. Leeming R, Jenkins M, Mendelsohn G. Adenoide cystic carcinoma of the breast. *Arch Surg* 1992; 27: 233-235.
11. Due W, Herbst H, Loy V, Stein H. Characterisation of Adenoide cystic carcinoma of the breast by Immunohistology. *J Clin Pathol* 1989; 42: 470-476.
12. Kleer CG, Oberman HA. Adenoide cystic carcinoma of the breast. Value of histologic grading and proliferative activity. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 569-575.
13. Arpino G, Clark GM, Mohsin S, Bardou VJ, Elledge RM. Adenoide cystic carcinoma of the breast: molecular markers, treatment and clinical outcome. *Cancer* 2002; 94: 2119-2127.
14. Hollingsworth A.B., Lezzoni JC. Primary Cutaneous Adenoide cystic carcinoma of the Male breast: A case report and review of the literature. *Breast Dis* 1994; 7: 213-218.
- 15.- McClenathan JH, De La Roza G. Adenoide cystic breast cancer. *Am J Surg* 2002; 183: 646-649.

CASO CLÍNICO

Respuesta inmune en niños con infección intestinal por *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* y *Enterobius vermicularis*

Immune response in children with intestinal parasitic infection for *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* and *Enterobius vermicularis*

J.L. Olivares, R. Fernández, J. Fleta, M. Vázquez, A. Clavel*

Departamento de Pediatría y Departamento de Microbiología y Parasitología*
Hospital Clínico Universitario «Lozano Blesa». Zaragoza.

RESUMEN

El objetivo de este estudio es determinar la respuesta inmune sérica en niños con parasitosis intestinal al diagnóstico y tres meses después sin infección. Fueron recogidas 3036 muestras de 1959 niños y 939 pruebas de cello de 688 niños para investigación parasitaria. De los 155 niños con parásitos, 86 con un único parásito fueron seguidos en este estudio. Veintiséis con *Giardia lamblia* fueron tratados con tinidazol y metronidazol, cuarenta con *Enterobius vermicularis* con palmoato de pirantel y veinte con *Cryptosporidium parvum* sólo con tratamiento sintomático. Las inmunoglobulinas séricas fueron determinadas mediante nefelometría cinética, CD4+ y CD8+ por citometría de flujo y anticuerpos monoclonales marcados con fluorescencia. Existe un incremento significativo de IgA en pacientes con *Giardia lamblia* y de IgG para *Cryptosporidium parvum*, entre la fase aguda de parasitación y tres meses después sin infección. No existen diferencias para IgM. Hay un descenso significativo en los tres tipos de parásitos para IgE entre el diagnóstico y tres meses después sin infección. No hemos encontrado diferencias significativas para CD4+, CD8+ y CD4+ / CD8+. Los pacientes con parasitosis intestinal presentan modificaciones inmunológicas significativas en la fase aguda de parasitación. Actualmente, el mecanismo mediante el cual el sistema inmune responde en las personas inmunocompetentes es escasamente conocido. La respuesta inmunológica podría reflejar las alteraciones surgidas en la mucosa intestinal en contacto con el parásito.

PALABRAS CLAVE

Inmunoglobulinas séricas. Inmunidad celular. Parasitosis intestinal. *Giardia lamblia*. *Cryptosporidium parvum*. *Enterobius vermicularis*.

SUMMARY

To determine prospectively plasma levels of immune response in children with intestinal parasitic infection and three months after without infection. Three thousand thirty-six faecal stool samples were collected from 1959 children, and 939 cello-tape anal swabs from 688 children, were performed for intestinal parasite searching. From 155 children with parasitic infection, 86 were followed during this study. Twenty-six children with *Giardia lamblia* infection were treated with tinidazole and metronidazole. Pyrantele palmoate was the treatment for 40 children with *Enterobius vermicularis*. Twenty patients infected with *Cryptosporidium parvum* received symptomatic treatment. Serum immune globulin, were determined for kinetic nephelometric, CD4+ and CD8+ for cytometric of flow and monoclonal antibodies marked with fluorescence. There were significant increases of IgA for *Giardia lamblia* and of IgG for *Cryptosporidium parvum*. No statistical difference was found for IgM. There were significant differences among the three types of parasites for IgE. There were a decrease significant of IgE among diagnosis and three months without infection for all types of parasites. No statistical difference was found for CD4+, CD8+ and C4/CD8. Patients with intestinal parasitic infection have alteration immunology's significances. The mechanism with which the immune system of an immunocompetent host responds to intestinal parasitic infection is still poorly understood. The immune response should reflect the pathology at the intestinal mucous site.

KEY WORDS

Immune serum globulin. Immunity cell-mediated. *Giardia lamblia*. *Cryptosporidium parvum*. *Enterobius vermicularis*.

Correspondencia: José L. Olivares López
Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza
C/ Domingo Miral s/n, 50009 Zaragoza. E-mail: olivares@posta.unizar.es

INTRODUCCION

Las enfermedades parasitarias son una causa mayor de morbilidad y mortalidad en los niños en la mayor parte del mundo. Cuando un parásito invade al huésped puede ocasionarle la muerte, sobrevivir causándole daño o permanecer de forma asintomático. La respuesta inmunológica del huésped juega un importante papel en los estadios de la infección: protegiendo de la infección, eliminando el parásito u originado la enfermedad. Aunque los estudios experimentales están muy avanzados en los animales, en la persona humana están escasamente desarrollados y son parcialmente conocidos.

Giardia lamblia, *Cryptosporidium parvum* y *Enterobius vermicularis* son los parásitos más frecuentes en nuestro medio. La infección clínica puede cursar con anorexia, vómitos, prurito anal, urticaria, dolor abdominal, diarrea aguda, malabsorción intestinal y pérdida de peso. Los mecanismos inmunológicos del huésped frente al parásito son considerados como el hecho más importante de este proceso¹⁻³.

El objetivo de este estudio es comparar las tasas medias de inmunoglobulinas séricas, IgA, IgG, IgM e IgE, y de los linfocitos T, CD4+ y CD8+, durante la fase aguda de infección por *Giardia lamblia*, *Enterobius vermicularis* y *Cryptosporidium parvum*, y tres meses después sin infección.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tres mil treinta y seis muestras fecales fueron recogidas de 1959 niños aragoneses en un periodo de 12 meses. De los 155 niños infectados, 69 fueron excluidos del estudio por presentar infección polimicrobiana en 12 (7,70%); y 57 por no realizar un control clínico y microbiológico adecuado.

Ochenta y seis niños diagnosticados con un único parásito fueron incluidos en este estudio. De estos 86 casos, 26 estaban infectados por *Giardia lamblia*, 20 por *Cryptosporidium parvum* y 40 por *Enterobius vermicularis*. Cincuenta y seis pacientes procedían del área urbana de Zaragoza y 30 de áreas rurales. Dolor abdominal, diarrea aguda, anorexia, prurito anal y fiebre fueron los síntomas más frecuentes. La edad al diagnóstico estaba comprendida entre 10 meses y 15 años con una media de 6,85 ± 4,16 años.

La identificación de *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum* se realizó previa concentración de heces fecales según técnica de Ritchie⁴, sustituyendo el éter por el acetato de etilo, método descrito por Young et al⁵, y Erdman⁶. La técnica de Ziehl Neelsen, modificada por Henricksen y Pohlenz⁷, fue empleada para la identificación de los ooquistes de *Cryptosporidium*. Los portas fueron cubiertos con fucsina en frío durante 20 minutos, después se colorearon con verde malaquita y se lavó de nuevo. La identificación de *Enterobius vermicularis* fue realizada según técnica de Graham⁸.

Se usó Tinidazol (50 mg/kg/día, dos dosis, separadas por dos semana) para el tratamiento de *Giardia lamblia*. En caso de persistir la infección se aplicó tratamiento con metronidazol (25 mg/kg/día, 7 días). Pamoato de pirantel (10 mg/kg/día, dos dosis con dos semanas de separación, para tratar a *Enterobius vermicularis*. En los pacientes con *Cryptosporidium parvum*, y sin inmunodeficiencia, solo se hizo tratamiento sintomático

Las inmunoglobulinas séricas fueron medidas mediante nefelometría cinética utilizando un nefelometro Image de Beckman, con antigammaglobulinas. Los linfocitos CD4+ y CD8+ por citometría de flujo utilizando un citómetro Eiccs xl de Coulter, mediante anticuerpos monoclonales marcados con fluorescencia.

Se realizó otra recogida de heces tres semanas después de completar los tratamientos. Un nuevo control clínico e inmunológico se hizo tres meses después de la infección y con el paciente asintomático.

En el análisis estadístico se empleó el test Kolmogorov-Smirnov (modificación de Lilliefors) para comprobar la normalidad de las variables, y el análisis de la varianza (ANOVA y Kruskal-Wallis) para comparar las diferencias entre los tres tipos de parásitos, y los tests de Student y de Wilcoxon para analizar las diferencias entre medias con muestras apareadas. Se ha empleado el programa estadístico SPSS para Windows 10.0 (SPSS Inc). Se consideran diferencias estadísticas significativas cuando el valor de p es < de 0,05.

RESULTADOS

La prevalencia de los diferentes tipos de parásitos ha sido: *Giardia lamblia*

2,65%, *Cryptosporidium parvum*, 1,53% y *Enterobius vermicularis*, 10,61%. Hubo infección polimicrobiana en 7,70% casos. La distribución por edades fue: 44 niños y 42 niñas. La medida de edad al diagnóstico: 6.85 ± 4.16 años (de 10 meses a 15 años). *Cryptosporidium parvum* fue más frecuente en los niños de menor edad.

La tabla 1 muestra los datos de IgA para cada tipo de parásito al diagnóstico y tres meses después sin infección. No hay diferencias significativas entre los tres tipos de parásitos, al diagnóstico ($p = 0,331$), ni después de tres meses ($p = 0,241$). El estudio comparativo entre los dos momentos, mediante el t test, sólo muestra diferencias significativas para *Giardia lamblia* ($p = 0,03$).

En la tabla 2 se detallan los datos de IgG para cada tipo de parásito al diagnóstico y tres meses después sin infección. Hay diferencias significativas entre los tres tipos de parásitos, sólo al diagnóstico ($p = 0,043$). El análisis posterior mediante el test de Scheffé muestra diferencias significativas entre *Cryptosporidium parvum* y *Enterobius vermicularis*, ($p < 0,05$). El estudio comparativo entre los dos momentos, mediante el t test, sólo muestra diferencias significativas para *Cryptosporidium parvum* ($p = 0,02$).

La tabla 3 muestra los datos de IgM para cada tipo de parásito al diagnóstico y tres meses después sin infección. No hay diferencias significativas entre los tres tipos de parásitos, al diagnóstico ($p = 0,835$), ni después de tres meses ($p = 0,902$). En el estudio comparativo entre los dos momentos, mediante el t test, no muestra diferencias significativas para ningún tipo de parásito ($p > 0,05$).

En la tabla 4 se detallan los datos de IgE para cada tipo de parásito al diagnóstico y tres meses después sin infección. Hay diferencias significativas entre los tres tipos de parásitos, al diagnóstico ($p = 0,0000$) y después de tres meses sin infección, ($p = 0,0004$). El análisis posterior mediante el test de Scheffé muestra diferencias significativas ($p < 0,05$) entre *Enterobius vermicularis* y *Giardia lamblia* y entre *Enterobius vermicularis* y *Cryptosporidium parvum*. El estudio comparativo entre los dos momentos, mediante el test de Wilcoxon, muestra descensos significativos para *Giardia lamblia*, ($p = 0,001$), *Cryptosporidium parvum*, ($p = 0,006$), y *Enterobius vermicularis* ($p = 0,001$).

TABLA 1. IGA SÉRICA EN 86 NIÑOS CON PARASITOSIS INTESTINAL AL DIAGNOSTICO Y TRES MESES DESPUÉS SIN INFECCION*

Tipo de parásito	Pacientes	IgA (mg/dL) ^a Al diagnóstico	IgA (mg/dL) ^b Sin infección
<i>Giardia lamblia</i>	26	74,50 ± 48,33	92,23 ± 47,60
<i>Cryptosporidium parvum</i>	20	76,40 ± 34,40	77,10 ± 29,95
<i>Enterobius vermicularis</i>	40	90,10 ± 41,75	96,16 ± 40,81
Total	86	81,98 ± 42,23	90,11 ± 40,82

* Los valores son expresados como media ± DE y analizados usando ANOVA y el test de Student.

^{ab} No hay diferencias significativas entre los tres grupos al diagnóstico, p = 0,331, ni después de tres meses sin infección, p = 0,241.

^{ab} El análisis comparativo, entre los dos momentos, mediante el t test, muestra diferencias significativas sólo para *Giardia lamblia*, p = 0,03.

TABLA 2. IGG SÉRICA EN 86 NIÑOS CON PARASITOSIS INTESTINAL AL DIAGNOSTICO Y TRES MESES DESPUÉS SIN INFECCION*

Tipo de parásito	Pacientes	IgG (mg/dL) ^a Al diagnóstico	IgG (mg/dL) ^b Sin infección
<i>Giardia lamblia</i>	26	818,96 ± 261,20	853,32 ± 253,87
<i>Cryptosporidium parvum</i>	20	712,10 ± 187,82	774,60 ± 245,23
<i>Enterobius vermicularis</i>	40	938,68 ± 256,24	980,12 ± 309,28
Total	86	851,18 ± 258,06	895,46 ± 289,95

* Los valores son expresados como media ± DE y analizados usando ANOVA y el test de Student.

^{ab} Hay diferencias significativas entre los tres grupos, sólo al diagnóstico, p = 0,043. El análisis posterior, test de Scheffé, muestra diferencias significativas entre *Cryptosporidium parvum* y *Enterobius vermicularis*, p < 0,05.

^{ab} El análisis comparativo, entre los dos momentos, mediante el t test, muestra diferencias significativas sólo para *Cryptosporidium parvum*, p = 0,02

La tabla 5 muestra los datos de CD4+ (%) para cada tipo de parásito, al diagnóstico y tres meses después sin infección. No hay diferencias significativas entre los tres tipos de parásitos al diagnóstico (p = 0,479), ni después de tres meses sin infección (p = 0,672). El estudio comparativo entre los dos momentos, mediante el t test, no muestra diferencias significativas para ningún tipo de parásito (p > 0,05).

Las tasas medias de CD8+ (%) para cada tipo de parásito al diagnóstico han sido: *Giardia lamblia*, 23,88±5,67, *Cryptosporidium parvum*, 23,60±5,77, y *Enterobius vermicularis* 24,90±5,80. Después de tres meses sin infección: *Giardia lamblia*, 25,96±6,08, *Cryptosporidium parvum*, 24,75±4,12, y *Enterobius vermicularis* 25,78±6,17. No hay diferencias significativas entre los tres tipos de parásitos, al diagnóstico, ni después de tres meses (p > 0,05). En el estudio comparativo entre los dos momentos, mediante el t test, no muestra diferencias significativas para ningún tipo de parásito (p > 0,05).

La media total del cociente CD4 / CD8 al diagnóstico: 1,74 ± 0,57 no muestra diferencias significativas (p > 0,05) con la media total del cociente obtenido tres meses después sin infección, 1,69 ± 0,50.

DISCUSIÓN

Los parásitos encuentran en el tracto gastrointestinal el medio ideal para su desarrollo. Carbohidratos, lípidos, aminoácidos, hierro y vitaminas son usados para su crecimiento y supervivencia. Estos hechos biológicos tienen importancia epidemiológica, clínica, inmunológica e implicaciones terapéuticas. En algunos pacientes, la infección se

resuelve en pocos días, mientras que otros los síntomas permanecen de forma crónica. Diversos factores, no inmunológicos, como sales biliares conjugadas, ácidos grasos insaturados, moco intestinal, juegan un papel importante en la susceptibilidad a la infección, en su severidad y duración².

La giardiosis afecta a individuos de todas las edades, aunque por sus implicaciones clínicas, principalmente retraso de crecimiento y síndrome de malabsorción, en los niños adquiere especial relevancia. La prevalencia de giardiosis guarda relación con los niveles de higiene y purificación de los abastecimientos hídricos. En la especie humana, los efectos clínicos de la infección varían desde portadores asintomáticos a severos cuadros de malabsorción intestinal. Diversos factores: virulencia de las cepas de *Giardia lamblia*, número de quistes ingeridos, edad del paciente, aclorhidria, hipoclorhidria, grupo sanguíneo A, haplotipos HLA A1/A2, B12/B27, contribuyen a esta gran variabilidad⁹⁻¹¹.

Giardia lamblia se localiza principalmente en el intestino delgado proximal, en la superficie apical del enterocito. Se ha demostrado que los trofozoítos activan a los monocitos humanos liberando gran cantidad de prostaglandinas E2 e inducir diarrea por estimulación de la adenilciclasa. *Giardia lamblia* experimenta variaciones antigénicas en determinadas proteínas específicas de superficie (VSP) ricas en cisteína. Mediante cromatografía y técnicas de microanálisis se ha observado que los metales importantes en los trofozoítos de *Giardia* y en las VSP purificadas son el zinc y el hierro los que estabilizan la VSP y es causa de mayor resistencia al ataque

proteolítico de enzimas digestivos en el intestino delgado^{12,13}.

En pacientes con *Giardia lamblia*, la inmunidad humoral y celular, no está perfectamente conocida y muchos de los conocimientos patogénicos están basados modelos en modelos de experimentación animal. La respuesta inmune del huésped juega un papel importante. Por una parte protege contra la enfermedad y por otra facilita la eliminación del parásito. Como respuesta a los trofozoítos, forma anticuerpos séricos de tipo IgG, IgM e IgA. También se ha observado una respuesta intestinal creando anticuerpos de tipo IgA. Se ha demostrado que la leche humana tiene actividad protectora frente a *Giardia* por la IgA secretora que posee y acción antiadherente de sus ácidos grasos^{10,14-16}.

Los leucocitos intraepiteliales (LIE), modulan la función epitelial y tienen un papel protector frente a las giardias. Los linfocitos T, CD4+, son necesarios para el desarrollo de anticuerpos secretores. Los macrófagos pueden ingerir y opsonizar a los trofozoítos, pero su papel más importante es la presentación de los antígenos a las células T de las placas de Peyer para el desarrollo de una respuesta inmune efectiva¹⁴. Perlmutter et al¹⁷, han demostrado que en pacientes con hipogammaglobulinemia la giardiosis es frecuente y siempre sintomática. Niños con inmunodeficiencia celular severa son muy susceptibles a la infección y presentan cuadros severos de diarrea¹⁸.

En este estudio hemos encontrado, al diagnóstico, una disminución IgA e incremento de IgE significativos con relación al control efectuado tres meses después sin infección. No se han producido modificaciones significativas para

TABLA 3. IGM SÉRICA EN 86 NIÑOS CON PARASITOSIS INTESTINAL AL DIAGNOSTICO Y TRES MESES DESPUÉS SIN INFECCION*

Tipo de parásito	Pacientes	IgM (mg/dL) ^a Al diagnóstico	IgM (mg/dL) ^b Sin infección
<i>Giardia lamblia</i>	26	105,43 ± 36,66	99,75 ± 28,34
<i>Cryptosporidium parvum</i>	20	99,05 ± 35,78	103,73 ± 36,66
<i>Enterobius vermicularis</i>	40	100,45 ± 28,73	100,45 ± 35,17
Total	86	101,78 ± 32,56	101,01 ± 33,34

* Los valores son expresados como media ± DE y analizados usando ANOVA y el test de Student.

^{a,b} No hay diferencias significativas entre los tres grupos al diagnóstico, $p = 0,835$, ni después de tres meses sin infección, $p = 0,902$.

^{a,b} El análisis comparativo, entre los dos momentos, mediante el t test, no muestra diferencias significativas en ningún tipo de parásito, $p > 0,05$.

TABLA 4. IGE SÉRICA EN 86 NIÑOS CON PARASITOSIS INTESTINAL AL DIAGNOSTICO Y TRES MESES DESPUÉS SIN INFECCION*

Tipo de parásito	Pacientes	IgE (mg/dL) ^a Al diagnóstico	IgE (mg/dL) ^b Sin infección
<i>Giardia lamblia</i>	26	64,64 ± 30,97	47,10 ± 15,77
<i>Cryptosporidium parvum</i>	20	67,36 ± 21,09	61,31 ± 20,92
<i>Enterobius vermicularis</i>	40	231,30 ± 52,15	153,17 ± 33,61
Total	86	144,70 ± 28,23	100,81 ± 18,05

* Los valores son expresados como media ± DE y analizados usando Kruskal-Wallis y el test de Wilcoxon.

^{a,b} Hay diferencias significativas entre los tres grupos al diagnóstico, $p = 0,000$ y tres meses después sin infección, $p = 0,0004$.

^{a,b} El análisis comparativo, entre los dos momentos, mediante el test de Wilcoxon, muestra diferencias significativas sólo para *Giardia lamblia*, $p = 0,001$, *Cryptosporidium parvum*, $p = 0,006$, y *Enterobius vermicularis*, $p = 0,001$.

las tasas medias de IgG, IgM y linfocitos CD4+ y CD8+ entre ambos momentos.

Cryptosporidium parvum es un parásito intracelular que se localiza en el borde de las vellosidades intestinales, de distribución cosmopolita y cuyo reservorio esta en los animales y el hombre. La infección es más frecuente en países en vas de desarrollo, aunque también se ha extendido al resto de los países a través de emigraciones urbanas, pobreza, viajes intercontinentales, cambios sociales y medioambientales. La prevalencia en países desarrollados es de 1-3 %, mientras que en Africa y Asia se eleva hasta un 10 %¹⁹.

La intensidad de las manifestaciones clínicas depende de factores individuales del hospedador, de su edad y de su sistema inmune. En la mayoría de los inmunocompetentes se produce gastroenteritis autolimitada caracterizada por deposiciones acuosas, dolor abdominal, vómitos y fiebre. La población mas afectada es la de los niños pequeños. Hechos similares a los encontrados en nuestros pacientes.

En los pacientes inmunocomprometidos se produce un cuadro de diarrea profusa crónica, intensa malabsorción y gran pérdida de peso. En los pacientes con SIDA se ha aislado *Cryptosporidium parvum* hasta en un 20 % de los mismos. Flanagan et al²⁰, muestran cuatro modelos de enfermedad: transitoria, crónica, fulminante y asintomática. La diarrea transitoria, autolimitada ocurre en pacientes con poca inmunosupresión. Si el número de CD4 es superior a 180 células/mm³ se puede predecir que la infección será autolimitada, por el contrario, con un recuento de linfocitos CD4+ menor de 50 células/mm³ el cuadro será fulminante. *Cryptosporidium*

parvum puede conducir a cuadros de diarrea crónica y afectación hepática. También se han señalado cuadros graves en pacientes con inmunodeficiencia combinada severa, en tratamiento con inmunosupresores y asociados a déficit de IgA^{21,22}.

Estudios recientes, muestran que el control de la infección por el paciente depende de la activación de citocinas en contacto con el parásito. En general, los parásitos intracelulares producen una respuesta tipo 1 en donde el IFN-gamma es el principal activador, mientras que en los parásitos extracelulares la respuesta es de tipo 2 y la IL-4 juega un papel predominante en los mecanismos de inmunidad humoral²³. Wyatt et al²⁴, señala que existe una correlación entre la IL-10 y el desarrollo de *Cryptosporidium parvum* a nivel del epitelio intestinal.

En este estudio, con pacientes no comprometidos, hemos encontrado una mayor incidencia en niños pequeños, clínica autolimitada y evolución favorable sin tratamiento

farmacológico. No se han producido modificaciones significativas de IgA, e IgM, entre la fase aguda de infección y tres meses después. Hay un incremento significativo de IgG y disminución de IgE entre ambos momentos. No se han producido alteraciones en las tasas medias de linfocitos CD4+ y CD8+.

Enterobius vermicularis es un nematodo intestinal de distribución cosmopolita y él más habitual de los parásitos de nuestros medios. Los vermes adultos viven habitualmente en el ciego y apéndice, fijados a la pared y se nutren del contenido intestinal. La infección es común en niños entre 5-10 años. La infección suele ser asintomática o cur-

sar con trastornos ligeros e inespecíficos. La irritabilidad y el prurito anal son los síntomas mas comunes. La duración de la infección es muy diferente de unos a otros niños y está en relación con la respuesta inmunológica. Hay pocos estudios sobre el mecanismo de respuesta inmunitaria frente a oxiuros. Crowe et al²⁵, encuentran una relación entre el número de mastocitos en apéndices de individuos parasitados y la respuesta frente al parásito. Koltas et al²⁶, hallan niveles bajos de zinc, cobre y magnesio en niños infectados, que podrían modificar el sistema inmune.

En este estudio no se han producido modificaciones significativas para IgA, IgG, IgM, CD4+ y CD8+. Por el contrario si existen alteraciones para de IgE que se encuentra significativamente elevada en la fase aguda de la infección. Hechos similares han sido señalados por Di Prisco et al²⁷ y Pérez et al²⁸.

En conclusión, estos datos confirman la alta prevalencia de parásitos en nuestro medio, siendo todavía un problema de salud pública. Los mecanismos mediante los cuales el sistema inmune de niños inmunocompetentes responden a la infección intestinal son mal conocidos. La inmunorespuesta sérica podría reflejar la patología surgida en la mucosa intestinal. Son necesarios nuevos estudios para poder explicar estos mecanismos.

BIBLIOGRAFIA

- Jelinek T, Lotze M, Eichenlaub S, Löscher T, Nothdurft HD. Prevalence of infection with *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayatanensis* among international travellers. Gut 1997; 41: 801-904.
- Hill DR. Giardiasis. Issues in diagnosis and management. Inct Dis Clin North Am 1993; 7: 503-525

TABLA 5. LINFOCITOS CD4+ EN 86 NIÑOS CON PARASITOSIS INTESTINAL AL DIAGNOSTICO Y TRES MESES DESPUÉS SIN INFECCION*

Tipo de parásito	Pacientes	Linfocitos CD4+ (%) ^a	
		Al diagnóstico	Sin infección
<i>Giardia lamblia</i>	26	41,77 ± 10,11	41,08 ± 8,46
<i>Cryptosporidium parvum</i>	20	39,15 ± 9,26	41,30 ± 6,96
<i>Enterobius vermicularis</i>	40	41,30 ± 6,42	42,73 ± 6,06
Total	86	40,94 ± 8,32	41,90 ± 7,02

* Los valores son expresados como media ± DE y analizados usando ANOVA y el test de Student.

^{a,b} No hay diferencias significativas entre los tres grupos al diagnóstico, p = 0,479, ni después de tres meses sin infección, p = 0,672.

^{a,b} El análisis comparativo, entre los dos momentos, mediante el t test, no muestra diferencias significativas en ningún tipo de parásito, p > 0,05.

3. Hellard ME, Sinclair MI, Hogg GC, Fairley CK. Prevalence of enteric pathogens among community based on asymptomatic individuals. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 290-3.

4. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations: *Bull U S Army Med Dep* 1948; 8: 326.

5. Young K, Bullock S, Melvin D. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation techniques. *J Clin Microbiol* 1979; 10: 852-853.

6. Erdman DD. Clinical comparison of ethyl acetate and diethyl in the formalin-ether sedimentation techniques. *J Clin Microbiol* 1981; 14: 483-485.

7. Henriksen SA, Pohlenz J. Staining of *Cryptosporidia* by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand* 1981; 22: 594-596.

8. Graham CF. A device for the diagnosis of *Enterobius vermicularis*. *Am J Trop Med* 1941; 21: 159-161.

9. Sullivan P, Marsh M, Phillips M. Prevalence and treatment of giardiasis in chronic diarrhoea and malnutrition. *Arch Dis Child* 1991; 66: 304-306.

10. Faubert G. Immune Response to *Giardia duodenalis*. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 35-54.

11. Buret A, Hardin J, Olson M, Grant G. Pathophysiology of small intestinal malabsorption in gerbils infected with *Giardia lamblia*. *Gastroenterology* 1992; 103: 506-513.

12. Lujan HD, Mowatt MR, Wu JJ, Lu Y, Lee A, Chance MR. Purification of a variant-specific surface protein of *Giardia lamblia* and cha-

racterisation of its metal-binding properties. *J Biol Chem* 1995; 270: 13807-13813.

13. Roberts-Thomson I, Mitchell G, Andres R. Genetics studies in human and murine giardiasis. *Gut* 1980; 21: 397-401.

14. Heyworth M. Immunology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections. *J Infect Dis* 1992; 166: 465-472.

15. Nash TE, Herrington DA, Lososky GA, Levine MM. Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J Infect Dis* 1987; 156: 974-984.

16. Crouch A, Seow W, Whitman L. Effect of human milk and infant milk formulae on adherence of *Giardia intestinalis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991; 85: 617-619.

17. Perlmutter DH, Leichtner AM, Goldman H, Winters HS. Chronic diarrhea associated with hypogammaglobulinemia and enteropathy in infants and children. *Dig Dis Sc* 1985; 30: 1149-1155.

18. Webster ADB. Giardiasis and immunodeficiency diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1980; 74:440-443.

19. Goodgame RW. Understanding Intestinal Spore-Forming Protozoa: *Cryptosporidia*, *Microsporidia*, *Isopora* and *Cyclospora*. *Ann Intern Med* 1996; 124: 429-441.

20. Flanigan T, Whalen C, Turner J, Soave S, Toerner J, Hawlir D, Kolter D. *Cryptosporidium* infection and CD4 count. *Ann Int Med* 1992; 116: 840-842.

21. Ferreira MS, Borges AS. Some aspects of protozoan infections in immunocompromised patients: a review. *Men Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97: 443-457.

22. Russell TS, Lynch J, Ottolini MG. Eradication of *Cryptosporidium* in a child undergoing maintenance chemotherapy for leukaemia using high dose azithromycin therapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998; 20: 83-85.

23. Urban JF JR, Fayer R, Sullivan C, Goldhill J, Shea-Donohue T, Madden K, Morris SC, Katona I, Gause W, Ruffm, Mansfield LS, Finkelman FD. Local TH1 and TH2 responses to parasitic infection in the intestine: regulation by IFN-gamma and IL-4. *Vet Immunol Immunopathol* 1996; 54: 337-344.

24. Wyatt CR, Barrett WJ, Brackett EJ, Shafer DA, Riggs MW. Association of IL-10 expression by mucosal lymphocytes with increased expression of *Cryptosporidium parvum* epitopes in infected epithelium. *J Parasitol* 2002; 88: 281-286.

25. Crowe J, Howe S. Mast cell numbers in appendices with threadworm infections. *J Pathol* 1988; 154: 347-351.

26. Koltas IS, Ozcan K, Tanner L, Aksungur P. Serum copper, zinc and magnesium levels in children with enterobiosis. *J Trace Elem Med Biol* 1997; 11: 49-52.

27. Di Prisco MC, Hagel I, Lynch NR, Barrios RM. Possible relationship between allergic disease and infection by *Giardia lamblia*. *Ann Allergy* 1993; 70: 210-213.

Perez O, Lastre M, Bandera F, Días M, Domenech I, Fagundo R, Torres D, Finlay C, Campa C, and Sierra G. Evaluation of the immune response in symptomatic and asymptomatic human giardiasis. *Arch Med Res* 1994; 25: 171-177.

Artrogriposis múltiple congénita. Comunicación de un caso y revisión de los aspectos actuales de mayor interés.

Congenital multiple arthrogryposis. Report of a case and review of the most interesting clinical features

I. Echevarría Matía¹, M.T. Jiménez Fernández¹, E. García Jaria¹, O. García Bodega¹, A. Sáez de Cabezón Álvarez², J. López Pisón³, A. Marco Tello¹, V. Rebage Moisés¹.

1. Unidad Neonatal. 2. Sección de Neurofisiología. 3. Sección de Neuropediatría. Hospital Infantil Universitario «Miguel Servet». Zaragoza

RESUMEN

Se comunica una observación de artrogriposis múltiple congénita clásica (AMC), en un Recién nacido hembra, segundo hijo de padres jóvenes sanos, no consanguíneos y sin antecedentes familiares malformativos. Gestación de 33 semanas con retraso de crecimiento intrauterino y disminución de los movimientos fetales, confirmados por ecografías. Parto a las 33 semanas, por cesárea urgente debido a desprendimiento de placenta.

A la exploración presenta contracturas articulares múltiples que afectan a las 4 extremidades de forma simétrica y una facies especial, inicialmente inexpressiva.

Los estudios complementarios para descartar una causa infecciosa o metabólica, así como el EEG y TAC cerebral, ecografía renal, cardíaca, fueron normales. El cariotipo 46 XX. En el electromiograma aparecían signos de denervación activa en forma de fibrilaciones y ondas positivas y los potenciales de unidad motora tenían una amplitud media incrementada sin polifasia significativa. Se realizó estudio genético molecular para descartar una enfermedad de Steiner.

La evolución del paciente ha sido satisfactoria. Al alta toma por succión y tiene un buen contacto social, continuando el programa de rehabilitación. Asimismo, se revisan sus aspectos actuales de mayor interés.

PALABRAS CLAVE

Artrogriposis múltiple congénita. Contracturas articulares múltiples. Síndrome de hipocinesia fetal. Secuencia deformativa de hipocinesia fetal. Recién nacido.

SUMMARY

We report a case of classic congenital multiplex Arthrogryposis (AMC), it is a female newborn, second child of healthy young parents blood relationship nor familiar malformations antecedents. Thirty third weeked gestation with intrauterine growth retardation and diminution of fetal movements, which were confirmed by ultrasonic scanning. Childbirth to the 33 weeks, by caesarean urgent due to loosening of placenta. To the exploration she presents displays multiple joint contractures that affect the 4 extremities in a special symmetrical form and facies, initially inexpressive. The complementary studies to discard an infectious or metabolic cause, as well as cerebral electroencephalogram and CAT, renal and cardiac ultrasonic scanning were normal. Kariotype 46 XX. Signs of active denervation appeared in the electromiogram such as fibrillations and positive waves and the motor unit potentials had an increase average of amplitude without significant poliphasia. Molecular genetic study was made to discard disease of Steiner. The evolution of the patient has been satisfactory. A the discharge, she takes by suction and she has a good social contact, continuing the rehabilitation program. On the other hand the most interesting and up-date aspects about Arthrogryposis multiplex congenital are reviewed.

KEY WORDS

Arthrogryposis multiplex congenita. Multiple congenital contractures. Hypokinesia fetal syndrome. Fetal hipokinesia deformation sequence. Newborn.

INTRODUCCIÓN

La artrogriposis múltiple congénita (AMC) es una afección caracterizada por la presencia de contracturas y rigideces de varias articulaciones, no progresivas y de aparición en el período prenatal, estando presentes en el momento del nacimiento¹. La severidad de la afección es variable y las posibles causas subyacentes numerosas. Pueden presentarse aisladas o asociadas con otras anomalías congénitas como parte de un síndrome genético con o sin la implicación del sistema nervioso central. Aunque la patogénesis exacta de la AMC es desconocida, se considera el resultado de una disminución de la motilidad fetal en las etapas iniciales de la gestación, lo que determina una regresión muscular y retracciones fibrosas periarticulares con la consiguiente limitación en la función de los miembros afectados, y una importante alteración de los tegumentos que recubren las articulaciones^{2,3}. Las enfermedades que determinan el síndrome artrogripósico pueden presentarse con distintos patrones de herencia, algunas de presentación esporádica, por lo que es importante diagnosticarlas.

Presentamos un caso de AMC, encuadrable dentro de su forma clásica, y revisamos los aspectos actuales de esta importante y rara afección.

OBSERVACIÓN CLÍNICA

Recién nacido hembra, que ingresa en nuestro Servicio procedente de quirófano de nuestra Maternidad, por prematuridad, bajo peso, y contracturas articulares múltiples.

Segundo hijo de padres jóvenes sanos, no consanguíneos y sin antecedentes familiares malformativos ni de otro tipo. Antecedentes de un aborto anterior espontáneo en el primer trimestre del embarazo. Gestación controlada con retraso de crecimiento intrauterino y disminución de los movimientos fetales, confirmados en las últimas ecografías realizadas. Parto a las 33 semanas, por cesárea urgente debido a desprendimiento de placenta. El Apgar fue de 3 y 8 precisando reanimación.

A la exploración presenta una ligera hipotrofia disarmónica con un peso de 1.400 gr (por debajo del p₁₀ para la edad gestacional), talla aproximada de 40 cm (a nivel del p₁₀) y PC de 31 cms (ligeramente por encima del p₅₀) y un aspecto clínico característico, con contracturas articulares múltiples y una facies especial, inicial-

mente inexpresiva. Presenta macrocefalia relativa, retromicrognatia, platirrinia, labio superior fino, paladar alto, hemangioma facial frontal y cuello corto. Contracturas y rigideces articulares que afectan a las cuatro extremidades de forma simétrica. Los hombros están en aproximación y rotación interna, los codos en extensión, y las muñecas y dedos en flexión palmar con desviación cubital, las caderas y rodillas flexionadas y los pies equinovaros (fig.1). Hay una disminución severa de la masa muscular, adoptando las articulaciones un aspecto fusiforme y apariencia agrandada. Existe también hipoplasia de los músculos pectorales. La piel que las recubre es lisa con ausencia de pliegues cutáneos y de los relieves articulares y presencia de hoyuelos o fosetas en las grandes articulaciones afectas. La movilidad pasiva de las articulaciones está muy limitada sobre todo en manos y pies. No hay afectación del tronco y existe una discreta hipotonía axial. La sensibilidad estaba conservada y los reflejos osteotendinosos y arcaicos ausentes, excepto el de succión.

Los exámenes biológicos, incluida la CPK, para identificar causa infecciosa o metabólica fueron normales, así como el EEG, la ecografía y TAC cerebral. El cariotipo 46 XX. No se detectaron anomalías viscerales (ecografía renal y ecocardiografía fueron normales). En el electroneurograma todos los parámetros analizados presentaban valores normales. En la miografía (Fig. 2) aparecían signos de denervación activa en forma de fibrilaciones y ondas positivas. Los potenciales de unidad motora tenían la amplitud media incrementada sin polifasia significativa. En el estudio radiológico se aprecia disminución generalizada de partes blandas y huesos largos finos. Se realizó estudio genético molecular para descartar una distrofia miotónica o enfermedad de Steiner.

La evolución del paciente no presentó complicaciones respiratorias ni problemas con la alimentación siendo aceptable la curva ponderal. En el momento del alta toma por succión y tiene un buen contacto social, incluyéndose en un programa de rehabilitación precoz, que deberá complementarse posteriormente con tratamiento quirúrgico.

DISCUSIÓN

El síndrome artrogripósico fue descrito inicialmente por Otto en 1841⁴, aunque la primera revisión completa se

debe a Stern en 1923⁵. Hall en 1983⁶, denominó como amioplasia a la forma clásica de AMC, que afecta a los 4 extremidades y que suele ser de aparición esporádica.

La prevalencia real de la AMC varía, según la bibliografía, de 0.75/10.000 a 1/3000 recién nacidos vivos. La diferencia observada puede deberse a que se infradiagnostiquen casos con menor discapacidad. La AMC clásica es la forma más frecuente, incluyendo más del 40-50% de los niños afectados de artrogriposis^{7,8}.

Dentro del heterogéneo grupo de las artrogriposis hay una serie de entidades diferenciadas, siendo la más frecuente la AMC clásica, en la que destaca la presencia de contracturas articulares que afectan de forma simétrica a las 4 extremidades con mayor afectación distal^{1,9}. Suelen ser niños a término, de peso medio, de apariencia saludable, sin anomalías asociadas e inteligencia habitualmente normal, teniendo buen pronóstico de vida pero no funcional. Se acompañan frecuentemente de facies característica, de forma redondeada, con hemangiomas capilares en la parte media de la cara, micrognatia, raíz nasal ancha y plana, cuello corto, paladar ojival y orejas de implantación baja⁶.

En otras ocasiones las contracturas articulares son un síntoma más dentro de una enfermedad más generalizada, y sugerente de un síndrome genético polimalformativo específico, debiéndose añadir en estos casos una serie de anomalías asociadas y caracteres morfológicos que definen a cada síndrome en particular^{1,9}. En algunos casos las anomalías acompañantes, cardíacas, cerebrales, renales, pulmonares etc., son a veces tan graves que hacen incompatible la vida. Dentro de estas entidades, las más diferenciada es el síndrome de Peña-Shokeir¹⁰, también conocido como síndrome del cordón corto, por acompañarse de un cordón umbilical de menor longitud. En una revisión de 8 fetos afectados de AMC realizada por Bonilla-Musoles et al¹¹, sólo 2 casos presentaban anomalías articulares como único hallazgo ecográfico, siendo los de mejor pronóstico. El resto formaban parte de un síndrome polimalformativo de los que solamente uno era portador de una cromosopatía (trisomía 18).

Figura 1.



Artrogriposis múltiple congénita. Contracturas articulares de las cuatro extremidades con manos y pies zambos y aspecto característico de las articulaciones. Facies especial inexpresiva.

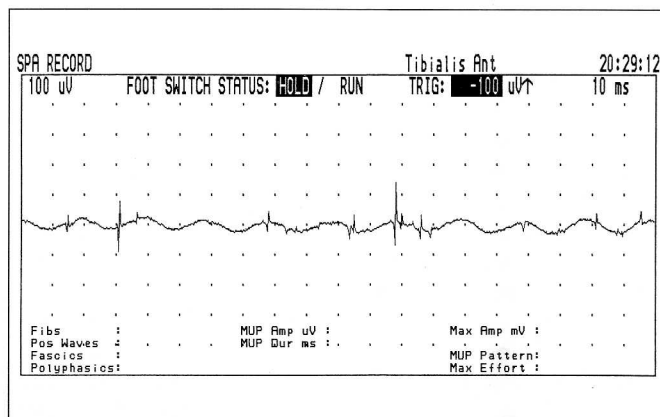
Respecto a su etiología, las causas son numerosas y pueden deberse a la acción de fuerzas mecánicas extrínsecas sobre un feto normal, o a problemas intrínsecos fetales^{3,9}. En el primer grupo se incluiría el oligoamnios y bridas amnióticas y en el segundo, diversas patologías tanto adquiridas como genéticas debidas a afectación cerebral, espinal, neuromuscular o del tejido conectivo y de la piel. Una revisión de 75 recién nacidos con contracturas múltiples congénitas mostró que éstas acompañaban en un 55% de los casos a afecciones del sistema nervioso, en un 8% a enfermedades neuromusculares, en un 11% a afecciones del tejido conectivo y de la piel, y en un 7% a oligoamnios¹².

Todos estos procesos, aunque muy diferentes entre sí, van a actuar a través de un mecanismo patogénico común, que es la disminución del movimiento fetal intraútero en las etapas iniciales de la gestación^{2,3}. La hipomotilidad del feto intraútero se conoce como síndrome de hipocinesia fetal (SHF), que determina una serie de anomalías deformativas conocidas como secuencia de hipocinesia fetal^{13,14}, representadas en la figura 3. Estas anomalías no son específicas y pueden presentarse de forma aislada o asociadas, incluyéndose siempre las contracturas articulares dentro del espectro clínico. Así por ejemplo, la hipomotilidad de carácter extrínseco por oligoamnios¹⁵ que restringe los movimientos fetales por compresión uterina, daría lugar a una serie de alteraciones cuya expresión mas grave sería el síndrome de Potter, y el síndrome de Pena-

Shokeir correspondería a la forma mas grave y generalizada de la secuencia deformativa por hipomotilidad fetal intrínseca¹⁵. La secuencia deformativa secundaria al SHF fué establecida por primera vez en 1983 por Moessinger al¹⁶ reproducirla en un modelo animal, lo que permitió reconocer la importancia del movimiento fetal intraútero no solamente en el desarrollo del sistema músculo-esquelético, sino también en otros órganos o sistemas.

Nuestro caso corresponde a una AMC clásica, y posiblemente, a una secuencia de hipocinesia fetal. Para poder establecer este diagnóstico, tiene que haber existido una disminución del movimiento fetal lo que confirmamos por ecografía, así como un proceso etiológico fetal capaz de producir hipomovilidad intraútero. En relación a la etiología, la AMC obedece generalmente a causas neuropáticas, y el trastorno primario se localiza en las astas medulares anteriores por alteraciones en su desarrollo embrionario, es decir por malformaciones o disgenesias¹⁷, más que a cambios degenerativos como ocurre en la atrofia muscular espinal que también puede acompañarse de contracturas¹⁸. Esto concuerda con los hallazgos electromiográficos de nuestro paciente, que permiten descartar un origen cerebral y una patología primaria del músculo y nervio periférico, situando el posible nivel de la afectación en las astas anteriores. Además, los signos de reinervación (expresados por el tamaño de los potenciales de unidad motora) que coexistían con los de denervación en curso, demues-

Figura 2.



Potenciales de fibrilación (denervación activa) recogidos en músculo tibial anterior durante el reposo.

tran la naturaleza crónica del proceso¹⁹. En los casos de disgenesia de las astas anteriores, la médula suele mostrar una disminución del diámetro a nivel cervical y lumbar y microscópicamente, una disminución del número de motoneuronas alfa¹⁷. Mas raramente la AMC puede obedecer a hipoxia intrauterina o a una insuficiencia circulatoria que causa isquemia en las células del asta anterior a finales del primer trimestre^{1,19}. En un 10-15% de los casos, no se puede establecer una etiología¹.

El diagnóstico prenatal es posible mediante ecografía aunque no es seguro en el 100% de los casos. El diagnóstico se basa en la persistencia de la inmovilidad fetal, signo de extraordinaria importancia que debe llevar a observar las articulaciones, en las que se podrán comprobar las contracturas y las anomalías de posición de las extremidades¹¹. El empleo de la ecografía tridimensional interactiva (3D) proporciona imágenes mucho más reales de las anomalías articulares, debiéndose aplicar cuando se disponga de ella y se sospechen malformaciones asociadas.

El pronóstico perinatal de las formas asociadas a síndromes polimalformativos es severo, con un elevado índice de mortalidad intraútero y neonatal secundaria generalmente a hipoplasia pulmonar¹¹. En la forma clásica de AMC el pronóstico suele estar determinado únicamente por la limitación funcional que las contracturas articulares producen. Existe una variedad de artrogriposis distal, mas leve, que afecta a las articulaciones periféricas de las manos o

pies, con mayores posibilidades de rehabilitación y corrección quirúrgica²⁰. El manejo y tratamiento del niño con artrogriposis clásica debe llevarse a cabo por un equipo multidisciplinar, orientado a conseguir el máximo grado de desarrollo funcional e integral del niño. El consejo genético estará en relación con la causa específica de la afección^{3,21}, siendo posible por medio de la genética molecular la identificación de algunas de las afecciones y síndromes asociados. Hall estimó un riesgo de recurrencia empírico de un 10-15%¹⁰

BIBLIOGRAFÍA

1. Perelman S. Comment s'orienter devant une arthrogrypose multiple congénitale. La Médecine infantile 1991; 8:637-642

2. Porter HJ. Letal arthrogryposis multiplex congenital (fetal akinesia deformation séquense, FADS). Pediatr Pathol Lab Med 1995; 15(4):717-737

3. Hall JG. Arthrogriposis multiplex congenita: etiology, genetics, classification, diagnostic, and general aspects. J Pediatr Orthop 1997; 6(3):159-166

4. Otto Adolph Wilhem. A Human monster with Inwardly curved extremities. Clinical Orthopaedics and Related Research 1985; 194: 4-5

5. Stern WA. Arthrogryposis multiplex congenita. JAMA 1923; 81:1507-1510

6. Hall JG, Reed SD, Driscoll EP. Part I. Amio-plasia: A common, sporadic condition with congenital contractures. Am J Genet 1983; 15:571-590

7. Epeldégui T. (editor). Pie neurológico infantil. Madrid, Vicente Editores, 1997.

8. Zori RT, Gardner JL, Zahng j, Mullan MJ, Shah R, Osborn AR, Houlden H, Wallace MR, Roberts S, Yang TP. Newly described form X-linked arthrogryposis maps to the long arm of the Human X chromosome. Am J med genet 1998; 78 (5): 450-454.

9. Angulo Barreras MP, De la Infiesta Alvarez C, Centeno Monterrubio C, Castro Laíz C, Martín Vargas L. Secuencia akinesia/hipokinesia fetal (síndrome de Pena-Shokeir). Aportación de 4 casos con etiología y pronóstico diverso. An Esp Pediatr 1997; 46:288-290

10. Hall JG. Invited editorial comment análisis de Pena-Shokeir fenotipe. Am J Med Genet 1986; 25:99-117

11. Bonilla-Musoles, Machado L, Bailao LA, Osborne N, García-Galiana S, Bailao TCRS, Blanes J, Rizzi MC, Raga F. Arthrogriposis múltiple congénita (contracturas congénitas múltiples): revisión. Progresos de Obstetricia y Ginecología 2002; 45:150-156

12. Hageman G, Ippel EPM, Beemer FA, De Pater JM, Lindhout D, Willemsse J. The diagnostic management of newborns with congenital contractures: a nosologic study of 75 cases. Am J Med Genet 1988; 30:883-904

13. González de Dios J, García-Alix A. Secuencia de acinesia/hipocinesia fetal, síndrome de Pena-Shokeir, artrogriposis múltiple congénita y/o síndrome de cordón corto:

delimitación conceptual. An Esp Pediatr 1998; 48:197-199

14. González de Dios J. Miopatía nemalínica letal y artrogriposis congénita o secuencia de hipocinesia fetal. Revista de Neurología 2002; 34(12):1197-1198

15. González de Dios J, Moya-Benavent M, Juste-Ruiz M, Herranz-Sánchez Y. Secuencia deformativa de oligoamnios. Rev Esp Pediatr 1994; 50:369-373

16. Moessinger AC. Secuencia deformativa de la akinesia fetal: un modelo animal. Pediatrías (Ed esp) 1983; 16:479

17. Mollejo Villanueva M, Torres Mohedas J, Cabello Fernández A, Medina López C, Simón de las Heras R, Mateos Beato F. Disgenesia de astas anteriores y núcleos del tronco del encéfalo con artrogriposis múltiple congénita: Presentación de un caso. An Esp Pediatr 1991; 35:429-431

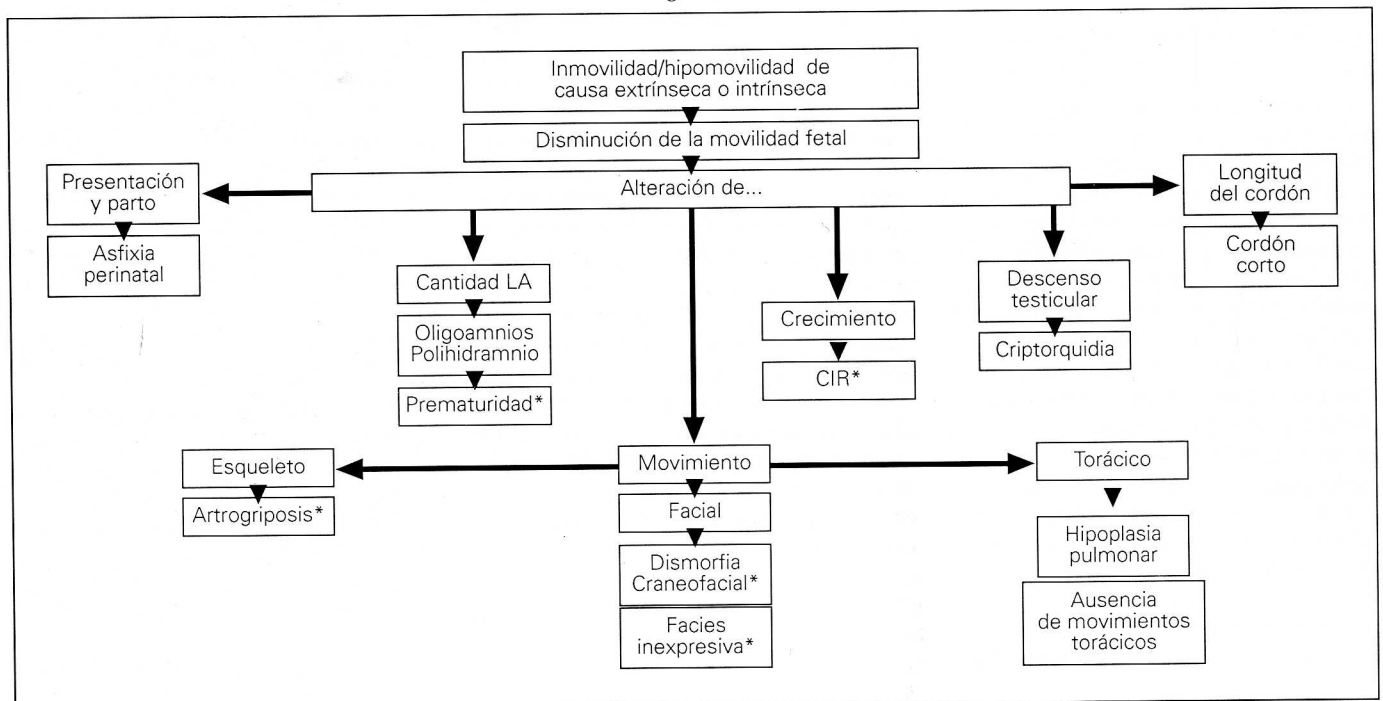
18. González de Dios J, Martínez Frías M^a L, Arroyo Carrera I, Fondevilla Sauci J, Sanchís Calvo A, Hernández Ramón F, Martínez Guardia N, García González MM. Importancia diagnóstica de los signos de hipocinesia fetal en la atrofia muscular espinal de presentación neonatal. An Esp Pediatr 2002; 56:233-240

19. Kaiboriboon K, Hayat GR. Congenital cervical spinal atrophy: an intrauterine hypoxic insult. Neuropediatrics 2001; 32(6):330-334

20. Smith DW, Drennan JC. Arthrogryposis wrist deformities: results of infantile serial casting. J Pediatr Orthop 2002; 22(1):44-47

21. Reiser P, Briner J, Schinzel A. Skeletal muscular changes in Pena-Shokeir sequence. J Perinat Med 1990; 18:267-274

Figura 3.



Secuencia de acontecimientos derivados de la disminución de la movilidad fetal intraútero (SHF)¹⁴. Con asterisco los signos presentes en nuestro caso.

CASO CLÍNICO

Crisis convulsiva asociada a Mefloquina

Neurological seizures after Mefloquine treatment

M^a.V. Palacios, J. Callao, M. Romeo, F. González

Centro de Salud «Delicias Sur». Zaragoza

RESUMEN

Se describe el caso de un paciente que sufrió un episodio de convulsión tónico-clónica con pérdida de conciencia durante un tratamiento profiláctico con Mefloquina. Se revisa la literatura de los casos descritos con esta asociación.

PALABRAS CLAVE

Mefloquina.Convulsiones.Profilaxis.

SUMMARY

We report a case of generalized neurological seizures with conscience loss during prophylaxis with mefloquine. We discuss other similar cases found in the medical bibliography.

KEY WORDS

Mefloquine.Convulsions.Prophylaxis.

INTRODUCCION

Al no existir vacunas contra la Malaria, la prevención de esta enfermedad debe hacerse con medicamentos(Quimioprofilaxis),no hay ningún medicamento que asegure totalmente la supresión de la Malaria, si se presenta fiebre en el curso del tratamiento o luego del mismo debe consultarse al médico.

La Mefloquina en las dosis indicadas es generalmente bien tolerada, ocasionalmente puede producir efectos colaterales como trastornos gastrointestinales nauseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, mareos, pérdida de equilibrio, cefalea, alteraciones del sueño, insomnio, sueños anormales, alteraciones neuropsiquiátricas(neuropatías sensitivas y motoras, temblor, ataxia, ansiedad, depresión, ataques de pánico, agitación, alucinaciones, psicosis, convulsiones), tinnitus y alteraciones vestibulares, alteraciones de la visión, alteraciones circulatorias(hipo e hipertensión),dolor torácico, taquicardia, bradicardia, alteraciones de la conducción, disnea, debilidad muscular mialgias, artralgias, rash cutáneo, urticaria, prurito, alopecia, astenia, fiebre, perdida de apetito, leucopenia o leucocitosis, trombocitopenia, raramente Sd. De Stevens-Jhonson, bloqueos AV, encefalopatía y Anafilaxia (1).

La Mefloquina está contraindicada en personas con alteraciones neuropsiquiátricas, antecedentes de Epilepsia,

hipersensibilidad a la Quinina y alteraciones de la conducción cardíaca y se debe tener precaución en el embarazo, en caso de Insuficiencia Hepática y en los niños.

Puede interactuar con diversos fármacos: Amiodarona, Carbamacepina, Cloroquina e Hidroxicloroquina, Digoxina, Quinina, Valproato, vacuna contra el Tifus, etc.

CASO CLINICO.

Varón de 32 años de edad sin antecedentes personales de interés, salvo un viaje a Kenia en el mes anterior y realizando una profilaxis con Mefloquina, que acudió al Servicio de urgencias por presentar en la mañana de su ingreso, encontrándose previamente bien, un episodio de convulsiones tónico-clónicas con pérdida de consciencia (según refiere su esposa) de 15 minutos de duración, sin relajación de esfínteres, emisión de espuma por la boca, sin mordedura de lengua y amnesia del evento, sin estupor postcrítico, refiriendo dolor en ambos hombros constatándose una subluxación bilateral de ambos reducida por Traumatología en el Servicio de Urgencias de ese Hospital.

El paciente se encontraba en casa cuando ocurrió el episodio, refería ligera astenia y pérdida de fuerza en EESS con dolores musculares de tipo errático que cedían al tratamiento con AINES en los días previos.

La pauta de Mefloquina había sido correcta, tomando la última dosis hacia 48-72 horas.

El paciente presentaba un buen estado general normohidratado, normocolorado, Glasgow 15, a la exploración se aprecian tonos cardíacos rítmicos sin soplos ni extratonos. Auscultación pulmonar con murmullo vesicular conservado, abdomen blando, depresible, no doloroso a la palpación, no masas, no megalias, peristaltismo conservado, sin signos de irritación peritoneal, sin edemas. Exploración neurológica: pupilas isocóricas y normorreactivas, pares craneales normales, fuerza y sensibilidad conservadas en EESS y EEII, reflejos osteotendinosos presentes, no signos de irritación meníngea, destacando la presencia de dolor en ambas cinturas escapulo-humerales con imposibilidad para su movilización donde se evidencia una luxación posterior de hombro bilateral.

Pruebas complementarias:

- Hemograma: Hematíes 5.69 mill/m³, Hemoglobina 17g/dl, Hematocrito 51%, VCM 90fl, leucocitos 14.900 mm³ (neutrófilos 87,80%) plaquetas normales.
- Bioquímica: glucosa basal 112mg/dl, CK 479 UI/L CK-MB 13,5UI/L LDH 487U/L, resto de la analítica dentro de los rangos de normalidad.
- Orina: Ph:6, sedimento urinario: 3-5 leucocitos / campo, 2-4 hematíes/campo, cilindros granulosos y uratos amorfos.
- Rx de ambos hombros: demostró subluxación bilateral.
- ECG: se puede apreciar un ritmo sinusal a 75 latidos por minuto, que se interpretó como normal.
- TAC Cerebral: cuyo resultado fue normal.
- Electroencefalograma: en reposo no se observan anomalías, durante la hiperpnea se observa una marcada labilidad junto con una débil actividad paroxística generalizada de punta-onda con inicio en regiones frontales.

DISCUSION.

La Malaria sigue siendo la infección más frecuente del mundo. Las diferentes variedades de Plasmodium, el protozoo que causa la Malaria, infectan cada año a 500 millones de personas y muchos son niños. La Malaria es endémica en zonas de Africa, de Asia y de Sudamérica y Centroamérica.

Además, la resistencia del Plasmodium falciparum-la variante que produce los casos más graves-a la cloroquina (el antipalúdico más conocido)se eleva año tras año. En casi toda Asia se pueden encontrar Plasmodium resistentes que impiden realizar profilaxis con la terapia clásica. Por otra parte, llevar hasta el final la profilaxis de la Malaria es algo complicado. En primer lugar comenzar a tomar medicamentos una semana antes de tomar el avión hacia el país de destino, después hay que mantener la medicación a lo largo de la estancia en la zona de riesgo y se debe continuar con las pastillas durante cuatro semanas más una vez finalizado el viaje.

El medicamento de elección para protegerse de Plasmodium-en zonas donde el protozoo es resistente-es la Mefloquina. Tiene una vida media larga y ofrece la conveniencia de una sola dosis sema-

nal. Para adultos demás de 45 kilogramos de peso la dosis es de 250 Mg. semanales, comenzando una semana antes de llegar al área palúdica Es fácil de tomar-basta una pastilla a la semana antes del viaje,durante el mismo y cuatro semanas después-para protegerse eficazmente, no obstante la Mefloquina suele tener efectos secundarios, una gran mayoría de los que toman el medicamento se queja de nauseas y molestias gástricas que casi siempre son leves, o de vértigo, disturbios del sueño, alteraciones del equilibrio Están descritas alteraciones neurológicas en ocasiones serias (2,3,4), una reacción adversa rara pero importante es el Síndrome de Cerebro Agudo que ocurre uno en 10000-20000 casos que toman la droga, convulsiones, depresiones, episodios psicóticos, ninguno fatal (5). El mecanismo preciso de las reacciones neurológicas y psiquiátricas es desconocido.

En 1996 y 1997 la Fundación de Farmacovigilancia Holandesa(LAREB) (6) recibió 6 casos de pacientes con convulsiones que se atribuyeron al uso profiláctico de Mefloquina, cinco de ellos no tenían historia previa neurológica, un paciente tenía historia de Epilepsia pero no había tenido ninguna crisis en los últimos 5 años.

Las crisis convulsivas tuvieron lugar de uno a veintitrés días después del comienzo del tratamiento con Mefloquina, a causa de las convulsiones, el tratamiento fue interrumpido.

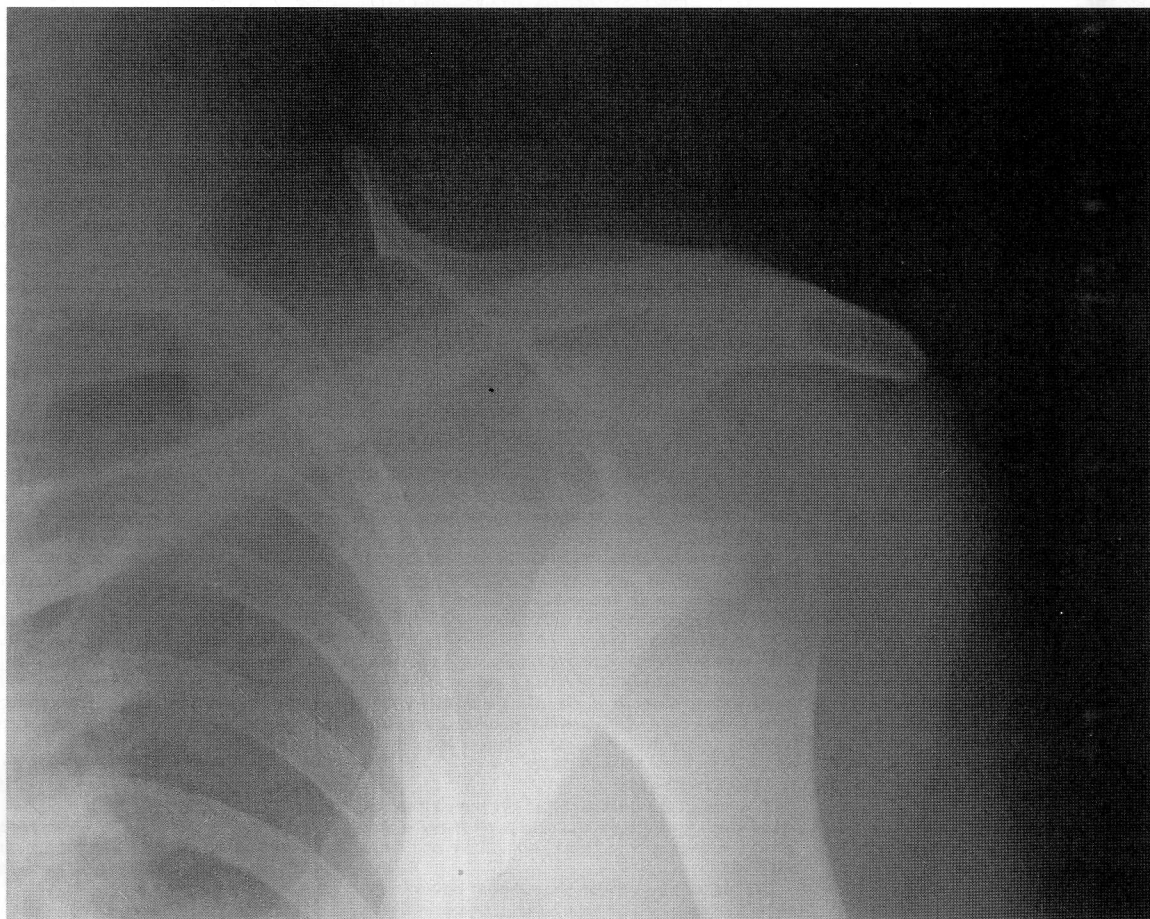
En nuestro paciente observamos alteraciones neurológicas en relación con la toma de Mefloquina, sin haber presentado previamente ningún cuadro neurológico que pudiera predisponer a la aparición de crisis convulsivas. En este caso clínico planteamos la hipótesis de la posible asociación causa-efecto entre la toma de Mefloquina y la aparición del cuadro convulsivo, relacionamos la aparición del cuadro convulsivo a la toma de Mefloquina ya que no tenemos datos clínicos para pensar en una alteración neurológica previa hasta la aparición del cuadro. Así mismo esta descrito en la literatura y recogido por el Departamento de Seguridad de Drogas Internacional todas las reacciones espontáneas adversas publicadas en asociación con esta droga (7). Los profesionales médicos deberían tener conocimiento de la posible aparición de efectos adversos neuropsiquiátricos, sucesos como con-

vulsiones durante el uso profiláctico de Mefloquina.

BIBLIOGRAFIA

1. Jaeger A, Sauder P, Kopfershmitt J, Flesch F. Clinical features and management of poisoning due to antimalarial drugs. *Med Toxicol Adverse Drug Exp* 1987 Jul-Aug; 242-73.
2. Miyashita T, Tokomura Y, Nshiya H, Sugiyama H, Yamaguchi M, Ohyatsu I, Aoki M, Ono Y, Kamei K, Shibuya TA. case of mefloquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria with convulsion after anti malarial treatment. *Kansenshogaku Zasshi* 1994 Jan; 68(1):152-6.
3. Nguyen TH, Daynp LY VC, Waller D, Nguyen HP, Bethell DB, Tran TH, White NJ. Post-malaria neurological syndrome. *Lancet*. 1996 Dec 14; 348 (9042): 1658-9.
4. Laffitte E. Convulsions and mefloquine prophylaxis. *Med Trop (Mars)*. 1997; 57(3):307.
5. Ronn AM, Bygbjerg IC. Acute brain syndrome after mefloquine treatment. *Ugeskr Laeger* 1994 Oct 10; 156(41):6044-5.
6. Heeringa M, Kuster JA, Meyboom RH, Bouvy M. *Ned Tijdschr Geneesk*. 1998 Nov 7; 142(45):2477-80.
7. Bemjl, Kerr L, Stuerchlerr D. Mefloquine prophylaxis: an overview of spontaneous reports of severe psychiatric reactions and convulsions. *J. Trop Med Hyg* 1992 Jun; 95(3): 167-79.

Figura 1.



Información para los autores

las instrucciones para los autores de la revista ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA se adaptan a las «Normas uniformes para los originales enviados a las revistas biomédicas, dictadas por el grupo de Vancouver en 1979 y modificadas en 1981 (ver Archivos, volumen 30: 1-7, 1990).

ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA considerará para su publicación aquellos trabajos inéditos relacionados directamente con las ciencias biomédicas y su investigación.

La revista consta de las siguientes secciones:

Originales. Trabajos, preferentemente prospectivos de investigación clínica, y otras contribuciones originales sobre etiología, fisiopatología, anatomía patológica, epidemiología, diagnóstico y tratamiento.

La extensión máxima del texto será de doce folios de 30 líneas, 70 pulsaciones, y se admitirán hasta seis figuras y seis tablas. Es aconsejable que el número de firmantes no sea superior a seis.

Notas clínicas. Descripción de uno o más casos clínicos de excepcional observación que supongan una aportación importante al conocimiento del proceso.

La extensión máxima del texto será de cinco folios de 30 líneas, 70 pulsaciones, y se admitirán hasta dos figuras y dos tablas. Es aconsejable que el número de firmantes no sea superior a seis.

Cartas al director. En esta sección se publicarán, a la mayor brevedad, objeciones o comentarios relativos a artículos publicados recientemente en la revista y observaciones o experiencias que por sus características puedan ser resumidas en un breve texto.

La extensión máxima del texto será de cinco folios de 30 líneas, 70 pulsaciones, y una tabla. Bibliografía de diez citas como máximo. El número de firmantes no debe exceder de cuatro.

Otras secciones. La revista incluye otras secciones (Editoriales, Diagnóstico y Tratamiento, Revisiones, Conferencias) cuyos trabajos son escritos por encargo del Comité de Redacción. Los autores que espontáneamente deseen colaborar en alguna de estas secciones deberán consultar previamente al director de la revista.

Presentación y estructura de los trabajos. Todos los originales quedan como propiedad permanente de Archivos de la Facultad de Medicina y no podrán ser reproducidos en parte o totalmente sin permiso de la revista. No se aceptarán trabajos publicados anteriormente o presentados al mismo tiempo en otra revista.

El mecanografiado de los trabajos se hará en hojas de tamaño folio a doble espacio (30 líneas de 70 pulsaciones). Las hojas irán numeradas correlativamente en el ángulo superior derecho.

Cada parte del manuscrito empezará con una nueva página en el siguiente orden:

1. En la primera página del artículo se indicarán, en el orden que se cita, los siguientes datos: título del artículo, título en inglés, nombre y uno o dos apellidos de los autores, nombre completo del centro de trabajo y dirección completa del mismo, dirección para la correspondencia, agradecimientos y otras especificaciones cuando se considere necesario.

2. En la página 2 se presentará el resumen. Su extensión aproximada será de 100 palabras. Se caracterizará por 1) poder ser comprendido sin necesidad de leer parcial o totalmente el artículo; 2) estar redactado en términos concretos desarrollando los puntos esenciales del artículo; 3) su ordenación observará el esquema general del artículo en miniatura, y 4) no incluirá material o datos no citados en el texto.

Debajo del resumen se especificará de tres a seis palabras clave o lemas que identifiquen el contenido del trabajo para su inclusión en los repertorios y bases de datos biomédicas nacionales e internacionales. Se acompañará un resumen (summary) y las palabras clave en inglés (key words).

3. Texto. Conviene dividir claramente los trabajos en apartados, siendo de desear que el esquema general sea el siguiente:

3.1. Originales: introducción, material y métodos, resultados y discusión.

3.2. Notas clínicas: introducción, observación clínica y discusión.

a) Introducción. Será lo más breve posible, y su regla básica consistirá en proporcionar sólo la explicación necesaria para que el lector pueda comprender el texto que viene a continuación.

b) Material y método. En él se indica el centro donde se ha realizado el experimento o investigación, el tiempo que ha durado, las características de la serie estudiada, el criterio de selección empleado y las técnicas utilizadas, proporcionando los detalles suficientes para que una experiencia determinada pueda repetirse sobre la base de esta información.

c) Resultados. Relatan, no interpretan, las observaciones efectuadas con el material y método empleados. Estos datos pueden publicarse en detalle en el texto o bien en forma de tablas y figuras.

d) Discusión. El autor o autores intentarán ofrecer sus propias opiniones sobre el tema. Destacan aquí: 1) el significado y la aplicación práctica de los resultados; 2) las consideraciones sobre una posible inconsistencia de la metodología y las razones por las cuales pueden ser válidos los resultados; 3) la relación con publicaciones similares y comparación entre las áreas de acuerdo y desacuerdo, y 4) las indicaciones y directrices para futuras investigaciones.

e) Agradecimiento. Cuando se considere necesario, se citará a las personas, centros o entidades que hayan colaborado o apoyado la realización del trabajo.

4. Bibliografía. Se presentará según el orden de aparición en el texto con la correspondiente numeración correlativa. En el artículo constará siempre la numeración de la cita en número volado, vaya o no acompañado del nombre de los autores; cuando se mencionen estos, si se trata de un trabajo realizado por dos, se mencionen ambos, y si se trata de varios, citará el primero seguido de la expresión «et al».

Los nombres de las revistas deben abreviarse de acuerdo con el estilo usado en el Index Medicus; consultar la «List of Journals Indexed» que se incluye todos los años en el número de enero de Index Medicus.

En lo posible se evitará el uso de frases imprecisas como citas bibliográficas; no pueden emplearse como tales «observaciones no publicadas» ni «comunicación personal», pero sí pueden citarse entre paréntesis dentro del texto. Los originales aceptados, pero aún no publicados, se incluyen en las citas bibliográficas como «en prensa» (entre paréntesis).

Las citas bibliográficas deben comprobarse por comparación con los documentos originales, indicando la página inicial y final de la cita. Los autores serán responsables de la exactitud de todas y cada una de las citas bibliográficas.

Revistas

1) **Artículo de revista ordinaria.** Relacionar todos los autores si son seis o menos; si son siete o más, relacionar sólo los tres primeros y añadir «et al».

2) **Autor colectivo.** National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979; 28: 1039-1057.

3) **Autor no indicado.** Anónimo. The viral aetiology of rheumatoid arthritis. Lancet 1984; 1: 772-774.

4) **Suplemento de una revista.** Mastri AR. Neuropathy of diabetic neurogenic bladder. Ann Intern Med 1980; 92 (2 Pt 2): 316-318.

Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan. Resumen. Blood 1979; 54 (supl. 1): 24a.

5) **Revista con paginación independiente en cada número.** Seaman WB. The case of the pancreatic pseudocyst. Pract 1981; 16 (sep): 24-25.

Libros y monografías

6) **Autor/es personal/es.** Eisen HN. Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response. 5ª ed. New York: Harper and Row, 1974; 406.

7) **El editor, recopilador o moderador figura como autor.** Dausset J, Colombani J. eds. Histocompatibility testing 1972. Copenhagen: Munksgaard, 1973; 12-18.

8) **Capítulo en un libro.** Pérez-López FR, Tierz JA, of human prolactin, ACTH, aldosterone, TSH, placental lactogen, chorionic gonadotropin and estriol during pregnancy. En: Endroczi E, Angelucci L, Scapagnini U, de Wied U, eds. Neuropeptides, neurotransmitters and regulation of endocrine processes. Budapest: Akadémiai Kiadó, 1982; 459-466.

9) **Artículo publicado en un libro de actas.** Dupont B. Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. En: White HJ, Smith R, eds. Proceedings of the

International Society for Experimental Haematology. Houston: International Society for Experimental Haematology, 1974; 44-46.

10) **Monografía en una serie.** Hunninghake GW, Gadek JE, Szapiel SV, et al. The human alveolar macrophage. En: Harris CC, ed. Cultured human cells and tissues in biomedical research. New York: Academic Press, 1980; 54-56 (Stoner GD, et Methods and perspectives in cell biology; vol. 1).

11) **Publicación de un organismo público.** Ranofsky AL. Surgical operations in short-stay hospitals: United States-1975. Hyattsville, Maryland: National Center for Health Statistics, 1978; DHEW publication nº (PHS) 78-1785. (Vital and health statistics; series 13; nº 34).

12) **Tesis o disertación.** Casalo Mantecón C. Quimioterapia basada en cisplatino, asociada a dosis altas de acetato de medroxiprogesterona en el tratamiento de tumores ováricos o otras neoplasias genitales de mal pronóstico. Zaragoza. Facultad de Medicina de Zaragoza, 1987. Tesis doctoral.

Otros artículos

13) **Artículo de un diario.** Oliva MP. Una lesión cerebral llamada Parkinson. El País. 19 diciembre 1987, 34 (Col. 1).

14) **Artículo de un semanario.** Barrón A. La senología en una ciencia muy nueva. cambio 16, 1988, agosto 29: 11-13.

5. las fotografías se seleccionarán cuidadosamente procurando que sean de buena calidad y omitiendo las que no contribuyan a una mejor comprensión del texto. El tamaño será de 13 x 18 centímetros. Es muy importante que las copias fotográficas sean de calidad inmejorable, para poder obtener así buenas reproducciones; se presentarán de manera que los cuerpos opacos (huesos, sustancias de contraste, etc.) aparezcan en blanco. la revista aconseja un máximo de seis fotografías, salvo excepciones, muy justificadas; se admiten ilustraciones en color, previo acuerdo económico, caso en el que se recomienda el envío de diapositivas.

Las fotografías irán numeradas al dorso mediante una etiqueta adhesiva, indicando, además, el nombre del primer autor, con una flecha que señalará la parte superior; debe procurarse no escribir al dorso, ya que se producen surcos en la fotografía. Las ilustraciones se presentarán por separado, dentro de un sobre; los pies de las mismas deben ir mecanografiados en hoja aparte.

6. Las gráficas (hasta un máximo de seis) se dibujarán con tinta china negra, cuidando que el formato de las mismas sea de 13 x 18 centímetros o un múltiplo. Se tendrán en cuenta las mismas normas del apartado 5 para las fotografías. Las fotografías y gráficas irán numeradas de manera correlativa y conjunta, como figuras.

7. Las tablas se presentarán en hojas aparte, que incluirán: a) numeración de la tabla con números arábigos; b) enunciado (título correspondiente), y c) una sola tabla por hoja. Se procurará que sean claras y sin rectificaciones; las siglas y abreviaturas se acompañarán siempre de una nota explicativa al pie. Si una tabla ocupa más de un folio se repetirán los encabezamientos en la hoja siguiente. La revista admitirá tablas que ocupen hasta un máximo de una página impresa de la misma.

8. El autor recibirá, cuando el artículo se halle en prensa, unas pruebas impresas para su corrección, que procurará devolver al secretario general dentro de las 48 horas siguientes a la recepción.

9. El comité de redacción acusará de los trabajos enviados a la revista e informará acerca de su aceptación.

10. El comité de redacción se reserva el derecho de rechazar los originales que no juzgue apropiados, así como de proponer modificaciones de los mismos cuando lo considere necesario.

El primer firmante o, en su defecto, la persona que someta el trabajo al comité de redacción, recibirá las observaciones, correcciones y, en su caso, el motivo de rechazo de su publicación.

Los trabajos se remitirán por triplicado al director de la revista ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA, Facultad de Medicina de Zaragoza (calle Domingo Miral, sin número, de Zaragoza), acompañados de una carta de presentación en la que se solicite el examen de los mismos para su publicación en alguna de las secciones de la revista. Haciendo mención expresa de todos los autores de que el trabajo no ha sido enviado, aceptado o editado, total o parcialmente, en otra publicación.



Revista Oficial de la Facultad de Medicina
de la Universidad de Zaragoza

ARCHIVOS

de la Facultad de

MEDICINA

de Zaragoza

Volumen 43

Núm. 2

Agosto 2003

13 DIC. 2003

Avances en genética forense

• EDITORIAL

- Haplotipos del cromosoma Y en la población del archipiélago canario
- Chips electrónicamente activos: ventajas y desventajas en genética forense
- Análisis microgeográfico de linajes paternos y maternos en el noroeste de la península ibérica
- Extracción de ADN de uñas: alternativa rápida para la identificación de cadáveres
- Identificación de restos cadavéricos: casuística en el periodo comprendido entre 1999 y 2001
- STRs del cromosoma Y en tres poblaciones diferentes del estado Zulia - Venezuela
- Cuantificación de genomas humanos mediante PCR en tiempo real y sondas Taqman: aplicaciones en genética forense y ADN antiguo
- Inclusión de paternidad con 14 STR en provincia de Buenos Aires, Argentina
- Exclusión de paternidad con 14 STR en provincia de Buenos Aires, Argentina
- Validación del sistema DNA IQ para su uso en genética forense
- Probabilidad de exclusión a priori en paternidades incestuosas sin madre
- PATCAN: un programa para analizar paternidades y otras relaciones familiares
- Determinación del volumen de sangre en manchas de sangre sobre ropas
- Detección mediante análisis de ADN, falsificación en documento público (tasa de alcoholemia)
- Un nuevo Pentaplex para el análisis de STRs del cromosoma X
- Caracterización del locus D1S80 en varias poblaciones del estado Zulia-Venezuela
- 'Locus-specific brackets' como alternativa às escadas alélicas na designação de genótipos em locos STR: Uma avaliação preliminar
- Influencia de la base de datos utilizada sobre el índice de paternidad
- BDGen, base de datos y herramienta de análisis estadístico de patrones genéticos
- Concordancia entre perfil genético en zona externa de preservativo y víctima
- Delitos sexuales: relevamiento de las solicitudes de cotejo durante el 2001
- Secuencias de la HVRI del mtDNA en poblaciones de Valencia y Baleares
- Variabilidad haplotípica del cromosoma-Y en una población descendiente de judíos mallorquines (chuetas)
- Estudio de 9 loci microsatélite en población residente en el País Vasco

DIRECTORA

Begoña Martínez Jarreta

SECRETARIA

Milagros Bernal Pérez

COMITE EDITORIAL

Arturo Vera Gil
Fco. José Carapeto Márquez de Prado
José Miguel Morales Asín
Enrique Martínez Ballarín
Jorge Albareda Albareda
Jesús Escanero Marcén
Fco. Javier Suárez Pinilla
Ignacio Querol Nasarre
Adjuntos al Decano para Estudiantes

Por la Diputación General de Aragón:

Alfonso Vicente Barra
Director Gerente del Servicio Aragonés de la Salud

CONSEJO DE REDACCION

María Dolores Abós Olivares
Carlos Aibar Remón
Julia Aisa Fernández
Octavio Alda Torrubia
Juan Antonio Amiguet García
María Jesús Azanza Ruiz
Félix Barrao Comps
Máximo Bartolomé Rodríguez
Carlos Baselga Asensio
Luisa Bernad Pérez
María Milagros Bernal Pérez
Julia Blasco Oquendo
José Buenó Gómez
Manuel Bueno Sánchez
Fco. J. Carapeto Márquez de Prado
Francisco Javier Castillo García
Jesús Cebollada Muro
Pedro Cía Gómez
Antonio Clavel Parilla
Francisco Conget López
Javier Deus Fombellida
Fernando Dolado Arnal
Jesús Fernando Escanero Marcén

Asunción Escolar Castellón
Juan de Dios Escolar Castellón
Ernesto Fabre González
Ignacio Ferreira Montero
Jesús M^a Garragori Otero
Felicito García-Alvarez Alvarez
Ana Isabel García Felipe
Juan Carlos Giménez Morales
Armando Giner Soria
Virginia Gómez Aracil
Luis Ignacio Gómez López
Rafael Gómez Lus
Manuel González González
Matilde Grasa Jordán
Miguel Ángel de Gregorio Ariza
Gabriel Guillén Martínez
Martín Gutiérrez Martín
Araceli Hernández Vitoria
Francisco Honrubia López
Concepción Junquera Escribano
Francisco Javier Lanuza Giménez
Jesús Lázaro Pérez
Antonio Lobo Satué

Ricardo Lozano Mantecón
Guillermo Marcos Aragües
Enrique Martínez Ballarín
Carmen Martínez Ciriano
Mariano Martínez Díez
Begoña Martínez Jarreta
Diana Martínez Tello
Tomás Martínez Terrer
Mariano Mateo Arrizabalaga
José M^a Miguelena Bobadilla
Antonio Millastre Benito
Consuelo Miqueo Miqueo
Francisco Morales Asín
Carlos Morales Blánquez
María José Morandera García
José Luis Nieto Amada
José Luis Olivares López
Fco. J. Ortego Fernández de Retana
Daniel Palanca Martín
José María Pérez González
María Pilar Pérez Hiraldo
Ignacio Querol Nasarre
Feliciano Ramos Fuertes
Juan Antonio Redondo Marco

Alfonso del Río Ligorit
Luis Angel Rioja Sanz
Soledad Romero Colás
Fco. J. Romero Fernández
Emilio Rubio Calvo
María Carmen Rubio Calvo
Miguel Rubio Nacher
Ricardo Sáinz Samitier
José Carlos Salinas Payer
René Sarrat Torreguitart
Antonio Sarriá Chueca
Fernando Seral Iñigo
Dolores Serrat Moré
Blanca Sinués Porta
Francisco Javier Suárez Pinilla
Miguel Angel Suárez Pinilla
Ana Torres del Puerto
Alejandro Tres Sánchez
José Gabriel Valdivia Uría
Héctor Vallés Varela
Javier Villagrasa Compaired
José Lucio Villavieja Atance
Jaime White Orozco

Publicación cuatrimestral
Copyright © Facultad de Medicina
I. S. S. N.: 0558-6291
Depósito legal: Z-44-1958

Preimpresión e impresión:
Navarro & Navarro Impresores

**Archivos de la Facultad
de Medicina de Zaragoza se
distribuye exclusivamente entre
los profesionales de la Medicina**

Publicación autorizada
por el Ministerio de Sanidad,
como soporte válido
Ref. 88020-R

ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA



SUMARIO

VOLUMEN 43, NUMERO 2, AGOSTO DE 2003

AVANCES EN GENÉTICA FORENSE

EDITORIAL

M^a. Begoña Martínez Jarreta

Haplotipos del cromosoma Y en la población del archipiélago canario

I. Frías, V. Prieto, P. Martín y P. Sanz

Chips electrónicamente activos: ventajas y desventajas en genética forense

B. Sobrino, M. Lareu, V. Álvarez, A. Salas, M. Brion, A. Carracedo

Análisis microgeográfico de linajes paternos y maternos en el noroeste de la península ibérica

M^a. Begoña Martínez Jarreta

Extracción de ADN de uñas: alternativa rápida para la identificación de cadáveres

A. León, P. Real, M. Díaz, P. Parada, F. Dueñas, N. Iglesias, E. Rivas

Identificación de restos cadavéricos: casuística en el periodo comprendido entre 1999 y 2001

M. Crespillo, M.F. Orta, M. Paredes, J.L. Valverde

STRs del cromosoma Y en tres poblaciones diferentes del estado Zulia - Venezuela

L. Borjas-Fajardo, L. Pineda Bernal, M.A. Sánchez, E. Fernández, W. Zabala, C. Castillo, L. Zocca, M. Chin, K. Escalona

Cuantificación de genomas humanos mediante PCR en tiempo real y sondas Taqman: aplicaciones en genética forense y ADN antiguo

A. Alonso, P. Martín, C. Albarrán, O. García, M. Sancho, J. Fernández

Inclusión de paternidad con 14 STR en provincia de Buenos Aires, Argentina

W.R. Bozzo, M.A. Pena, M.I. Ortíz, M. Monzani, M.M. Lojo

Exclusión de paternidad con 14 STR en provincia de Buenos Aires, Argentina

W.R. Bozzo, M.A. Pena, M.I. Ortíz, M. Monzani, M.M. Lojo

Validación del sistema DNA IQ para su uso en genética forense

M. Paredes, M. Crespillo, J.A. Luque y J.L. Valverde

Probabilidad de exclusión a priori en paternidades incestuosas sin madre

J.A. Luque, J.L. Valverde

PATCAN: un programa para analizar paternidades y otras relaciones familiares

J.A. Riancho, M.T. Zarrabeitia

Determinación del volumen de sangre en manchas de sangre sobre ropas

A. Pifarré, E. Ramírez, D. Solá, R.M. Fernández, J.A. Luque, M. Crespillo, J.L. Valverde

Detección mediante análisis de ADN, falsificación en documento público (tasa de alcoholemia)

R. Fernández, D. Solá, A. Pifarré, J.A. Luque, J.L. Valverde

Un nuevo Pentaplex para el análisis de STRs del cromosoma X

M.T. Zarrabeitia, J.A. Riancho, A.L. Zarrabeitia, C. Sañudo, T. Amigo

Caracterización del locus D1S80 en varias poblaciones del estado Zulia-Venezuela

W.R. Bozzo, M.A. Pena, M.I. Ortíz, M. Monzani, M.M. Lojo

'Locus-specific brackets' como alternativa às escadas alélicas na designação de genótipos em locos STR: Uma avaliação preliminar

V.A.C. Negreiros, M.R. White

Influencia de la base de datos utilizada sobre el índice de paternidad

M. Álvarez, R. Ferreira, A. Chiarello, M. Marrero, A. Arends, Y. Zambrano

BDGen, base de datos y herramienta de análisis estadístico de patrones genéticos

G.G. Martínez, B.S. Vázquez, A. Vicentín, L.E. Vázquez

Concordancia entre perfil genético en zona externa de preservativo y víctima

D. Solá, R. Fernández, E. Ramírez, A. Pifarré, J.L. Valverde

Delitos sexuales: relevamiento de las solicitudes de cotejo durante el 2001

M.A. Gómez, M. Monzani, A.G. Colussi, M.E. Arrechea, M.M. Lojo

Secuencias de la HVRI del mtDNA en poblaciones de Valencia y Baleares

A. Picornell, L. Gómez-Barbeito, C. Tomás, J.A. Castro, M.M. Ramón

Variabilidad haplotípica del cromosoma-Y en una población descendiente de judíos mallorquines (chuetas)

A. Picornell, L. Gómez-Barbeito, C. Tomás, J.A. Castro, M.M. Ramón

Estudio de 9 loci microsatélite en población residente en el País Vasco

A. Castro, I. Fernández-Fernández, J.L. Rodríguez-Filgueira, M.M. de Pancorbo



Esta revista está subvencionada por:

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

 **GOBIERNO
DE ARAGON**
Departamento de Sanidad
y Consumo

ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA



S U M M A R Y

VOLUME 43, NUMBER 2, AUGUST 2003

AVANCES EN GENÉTICA FORENSE

EDITORIAL

M^a. Begoña Martínez Jarreta

Y chromosome haplotypes in the Canary islands

I. Frías, V. Prieto, P. Martín y P. Sanz

Electronically activated: advantages and disadvantages in forensic genetics

B. Sobrino, M. Lareu, V. Álvarez, A. Salas, M. Brion, A. Carracedo

Microgeographic patterns of paternal and maternal lineages in the North West of Iberia

M^a. Begoña Martínez Jarreta

DNA extraction from nails: a fast alternative for corpses identification

A. León, P. Real, M. Díaz, P. Parada, F. Dueñas, N. Iglesias, E. Rivas

Identification of human remains: casework between 1999 and 2001

M. Crespillo, M.F. Orta, M. Paredes, J.L. Valverde

Y STRs in three different populations on Zulia state - Venezuela

L. Borjas-Fajardo, L. Pineda Bernal, M.A. Sánchez, E. Fernández, W. Zabala, C. Castillo, L. Zocca, M. Chin, K. Escalona

Quantification of human genomes by real time PCR and Taqman probes: applications to forensic and ancient DNA studies

A. Alonso, P. Martín, C. Albarrán, O. García, M. Sancho, J. Fernández

Paternity inclusions with 14 STRs in Buenos Aires province

W.R. Bozzo, M.A. Pena, M.I. Ortiz, M. Monzani, M.M. Lojo

Paternal exclusions with 14 STRs in Buenos Aires province

W.R. Bozzo, M.A. Pena, M.I. Ortiz, M. Monzani, M.M. Lojo

Validation of the DNA IQ systems for forensic casework

M. Paredes, M. Crespillo, J.A. Luque y J.L. Valverde

Mean exclusion chance in incestuous paternity lacking mother

J.A. Luque, J.L. Valverde

PATCAN: a software to study paternity and other family relationships

J.A. Riancho, M.T. Zarrabeitia

Blood volume determination from blood stains on clothes

A. Pifarré, E. Ramírez, D. Solá, R.M. Fernández, J.A. Luque, M. Crespillo, J.L. Valverde

Breath alive drivers alcohol in blood valuation. Subsequent DNA analysis to compare switched samples blood

R. Fernández, D. Solá, A. Pifarré, J.A. Luque, J.L. Valverde

A new Pentaplex to analyze STRs on X-chromosome

M.T. Zarrabeitia, J.A. Riancho, A.L. Zarrabeitia, C. Sañudo, T. Amigo

Characterization of the D1S80 locus in several populations of the Zulia State - Venezuela

W.R. Bozzo, M.A. Pena, M.I. Ortiz, M. Monzani, M.M. Lojo

Locus-specific brackets as an alternative to allelic ladders in genotype assignment in STR locus typing: preliminary evaluation

V.A.C. Negreiros, M.R. White

Paternity index in studies developed in Venezuela. Use of native allelic frequencies versus foreign ones

M. Álvarez, R. Ferreira, A. Chiarello, M. Marrero, A. Arends, Y. Zambrano

BDGen, statistical analysis tools and database software for genetic patterns

G.G. Martínez, B.S. Vázquez, A. Vicentín, L.E. Vázquez

Genetic profile matching between victims and outer surface of preservatives

D. Solá, R. Fernández, E. Ramírez, A. Pifarré, J.L. Valverde

Sexual offenses: relevance of comparison requests for 2001

M.A. Gómez, M. Monzani, A.G. Colussi, M.E. Arrechea, M.M. Lojo

HVRI mtDNA in Valencia and Balearic populations

A. Picornell, L. Gómez-Barbeito, C. Tomás, J.A. Castro, M.M. Ramón

Y-chromosome haplotypes in descendants of majorcan jews (chuetas)

A. Picornell, L. Gómez-Barbeito, C. Tomás, J.A. Castro, M.M. Ramón

Nine loci microsatellite study in human resident population in Basque Country

A. Castro, I. Fernández-Fernández, J.L. Rodríguez-Filgueira, M.M. de Pancorbo

All correspondence regarding the journal should be addressed to:

Dra. Begoña Martínez Jarreta
University of Zaragoza
Faculty of Medicine
Zaragoza 50009, Spain
Tel. 976 76 16 65
Fax. 976 76 17 45

I. S. S. N.: 0558-6291
Copyright © by Facultad de Medicina
de Zaragoza

Editorial

Los estudios de ADN en España

M^º Begoña Martínez Jarreta

Profesora Titular de la Cátedra de Medicina Legal y Forense
Directora del Laboratorio de Genética e Identificación Forense
Universidad de Zaragoza
C/ Domingo Miral s/n
50.009-ZARAGOZA

Todo el ordenamiento jurídico de la España actual tiene su marco de referencia en la Constitución española de 1978 cuya promulgación vendría a marcar el punto de partida en el desarrollo de la Genética Forense en nuestro país.

En su art. 14 la Constitución consagra la igualdad de todas las personas y en su art.39 apartado 2 declara que esa igualdad se concreta en los hijos con independencia de la filiación, de tal manera que dispone que la "*ley posibilitará la investigación de la paternidad*", lo que en su momento supuso una novedad casi revolucionaria.

En España durante mucho tiempo en la filiación matrimonial, tanto para la maternidad como para la paternidad, la ley establecía una serie de presunciones según los principios de la moral social y familiar predominantes y del estado de la ciencia médico-biológica coetánea a la norma:

1.-Maternidad: Indubitable ante el hecho del parto y la identidad del hijo. Hasta tal punto era así considerado que el artículo 109 del Código Civil (ya derogado por la ley 11/1981, de 13 de mayo) establecía que el hijo se presumía legítimo aunque la madre hubiera declarado contra su legitimidad o hubiere sido condenada como adúltera.

2.-Paternidad: Presunción general de que el marido de la madre es el padre de los hijos concebidos dentro del matrimonio ("*pater est is quem justae nuptiae demonstrant*"), siempre que el hijo naciera dentro de los 180 días siguientes a la celebración del matrimonio y antes de los 300 de su disolución.

Frente a estas presunciones en materia de filiación matrimonial los códigos tradicionalmente se dividían y mientras unos las valoraban "*iuris et de iure*" como el Código Civil español (es decir, no admitían prueba en contra), otros las consideraban "*iuris tantum*" (admitiendo la prueba en contra).

Si bien en el Derecho Español había existido una larga tradición histórica de admisión de estas pruebas (que persistió en el Derecho Foral Catalán), frente a ellas el Código Civil, siguiendo los principios del Código Napoleónico, limitó extraordinariamente la investigación de la paternidad pudiéndose realizar la impugnación de la misma sólo en casos excepcionales regulados con extraordinaria rigidez.

En cuanto a la filiación extramatrimonial, no existían presunciones legales y la determinación de la filiación en ausencia de prueba biológica, y si no había reconocimiento, estaba llena de dificultades.

La Constitución española cambiaría esta situación y poco tiempo después de su promulgación el mandato constitucional en materia de filiación se haría efectivo y sería el origen de una reforma del Código Civil en esta materia a través de la Ley de 13 de mayo de 1981. Por medio de la misma se otorga una nueva redacción al art.127 del C.C. en el que literalmente se dispuso: "*en los juicios sobre filiación, será admisible la investigación de la paternidad y la maternidad mediante toda clase de pruebas, incluidas las biológicas*".

Esta consagración en nuestro ordenamiento jurídico supone una nueva vocación por la búsqueda de la verdad biológica hasta donde ello sea posible, alcanzando a la filiación matrimonial y extramatrimonial.

En materia de investigación criminal el procedimiento probatorio está regulado en España por la Ley de Enjuiciamiento Criminal que desde el siglo XIX ha señalado como objetivo de la Justicia la búsqueda de la verdad.

La búsqueda de la verdad material es un derecho que asiste a la víctima de un delito que persigue se haga justicia y a la que finalmente habrá también que resarcir por el mal causado. El Tribunal Constitucional español se ha manifestado reiteradamente reconociendo ese derecho a servirse de los medios de prueba pertinentes dentro del proceso judicial (STC 40/1986, 147/1987, 149/1987, 50/1988, 158/1989 entre otros).

La declaración de la pertinencia de las pruebas propuestas corresponde al juez, y en este sentido en la declaración de pertinencia de los medios de prueba se debe juzgar la vinculación de las pruebas con el objeto del proceso y su capacidad para contribuir a formar la convicción del juzgador (STC 89/1986).

Cuando a finales de los 70 y principios de los 80 se producen estos cambios tan importantes en el ordenamiento jurídico español, la ciencia forense española todavía no estaba preparada para asumirlos convenientemente pero no tardaría en reaccionar.

La España de finales de los 70 no era una España desarrollada científicamente pero estaba preparada para despegar como se demostraría a partir de 1981 (año en el que se produce la modificación del Código Civil ya comentada).

En esa época los análisis que podían efectuarse para la determinación de la identidad biológica consistían en el estudio de los grupos sanguíneos por medio de técnicas inmunológicas básicas y gracias al desarrollo de la electroforesis en sus distin-

tas variantes, también de proteínas séricas, enzimas eritrocitarias y leucocitarias, así como del sistema HLA.

El primer reto en España consistió en el aprendizaje y la puesta en marcha de estas técnicas y finalmente en su incorporación a los laboratorios de las Cátedras de Medicina Forense de la Universidad Española que tradicionalmente han actuado como organismos consultivos de la Administración de Justicia.

Este paso inicial fue liderado por las Cátedras de Medicina Legal de Zaragoza, Santiago, Granada y Barcelona cuyos representantes se reunían en 1986 en Zaragoza, junto con algunos miembros de la Policía española, para dar nacimiento al *Grupo Español de Hemogenética Forense de la International Society of Forensic Haemogenetics (GEP-ISFH)*. Entre los objetivos básicos del mismo destacaba el fin de agrupar a los especialistas en este área de la Medicina Legal, como punto de partida para asegurar la calidad, integridad y seguridad de la pericia en materia de lo que entonces se denominaba "*Hemogenética Forense*", unificar métodos y elaborar unas directrices comunes para las pericias, así como establecer las condiciones de los peritos y los centros que pudieran realizar tales pericias.

Durante años un intenso esfuerzo permitió alcanzar estos objetivos, e ir incorporando los nuevos sistemas de tipado y nuevos marcadores que se iban proponiendo por la Comunidad Científica Internacional. Otro reto que se abordó, y que requirió también de un importante esfuerzo, consistió en el análisis exhaustivo de la población de referencia (población española) para todos esos sistemas genéticos que se iban incorporando y que por entonces no incluían los basados en el estudio del Acido Desoxirribonucleico (ADN) (1-4). La aplicación de cualquier sistema de análisis en la identificación individual exige previamente el conocimiento de la distribución del mismo en la población general.

Con motivo del *XV Congreso de la Academia Internacional de Medicina Legal y Social* celebrado en Zaragoza en 1991, se publicaba un libro que recopilaba toda la información disponible hasta ese momento acerca de la distribución de frecuencias de marcadores genético-moleculares en población española. Esa información era en gran medida el fruto maduro de esa labor desarrollada desde 1986 por los integrantes de ese grupo (1).

El esfuerzo realizado con los marcadores genético-moleculares clásicos pronto se llevó a otros nuevos sistemas puesto que la tecnología ADN avanzaba imparable exigiendo la adaptación de métodos y técnicas, de la cualificación de los profesionales, incluso de la reorganización y reestructuración de los laboratorios (5,6).

En España la incorporación de la tecnología ADN se produciría sin que apenas se advirtiera la transición con la etapa anterior. Rápidamente, la Genética Forense española se situaría a la altura de la europea, llegando a liderar, incluso, la investigación científica en muchos casos como lo muestra el elevado número de publicaciones científicas en revista de impacto en este campo (7-14).

Centros como el Instituto Nacional de Toxicología que nació con el objetivo de auxiliar a la Administración de Justicia española en materia Toxicológica se uniría a principios de los 90 al GEP-ISFH y a él le siguieron otros grupos como los de

cuerpos de fuerzas de seguridad de determinadas Comunidades Autónomas o bien de la Guardia Civil, así como otros correspondientes a laboratorios privados que también fueron surgiendo en España al calor de la creciente demanda de pericias de este tipo.

Así en 1995, y tras establecer alianza con el grupo portugués, surge definitivamente el Grupo Español y Portugués de la ISFH que en épocas ya recientes vendría a denominarse *GEP-ISFG*. Desde 1990 el grupo ha venido realizando controles de calidad en los que cada vez han sido más importante la participación de laboratorios de la comunidad iberoamericana (14).

También durante los años 90 surgió en paralelo una nueva Sociedad científica en Genética Forense que ha agrupado a laboratorios españoles y a un gran número de laboratorios iberoamericanos, fundamentalmente de la policía, bajo el liderazgo del Profesor José Antonio Lorente de la Universidad de Granada.

Con el fin de asegurar la calidad de la pericia en España se trabaja en lo que se denominan estándares técnicos y de procedimiento.

Los primeros hacen referencia al tipo de sistemas genéticos que se aceptan para su uso forense, su nomenclatura y los métodos de estudio en el laboratorio y para su interpretación, así como para el análisis/valoración estadística e informe de los resultados, incluida la comunicación de estos a los tribunales.

Los segundos a cuestiones muy importantes y necesarias para la acreditación de los laboratorios como son la organización del mismo, la capacitación de su personal, la documentación, protocolos, calibrado y mantenimiento de equipos, controles de calidad externos e internos, etc.

El esfuerzo realizado en Europa en materia de estándares técnicos se refleja en un avance general importante mientras que en materia de estándares de procedimiento todavía es largo el camino por recorrer. Se podría decir que exclusivamente en aquellos países en los que la pericia está centralizada en un único laboratorio se ha logrado progresar en la acreditación.

En este sentido hay que recordar lo que establece el Consejo de Europa en su *Recomendación R (92)1 de 10 de febrero de 1992 sobre "El uso de análisis de ADN en el marco de la Justicia Penal"*:

"Artículo 10: Los estados miembros promocionarán la estandarización de los métodos de ADN tanto a nivel nacional, como internacional. Esto lleva involucrado la adecuada colaboración interlaboratorial en la validación de los procedimientos analíticos y de control".

En España los esfuerzos de estandarización se han multiplicado notablemente desde la introducción de polimorfismos de ADN. A este esfuerzo se une el realizado en los últimos años por los Cuerpos y Fuerzas de Seguridad del Estado. Gracias al mismo actualmente pueden considerarse como plenamente capaces de responder a las nuevas exigencias en su labor que se derivan de la incorporación de la tecnología ADN (una adecuada recogida de indicios, mantenimiento de la cadena de custodia en la recogida y envío de muestras/indicios, etc.).

Así quedaba de manifiesto en el curso: "Los indicios en el Escenario: Ecogida, Remisión y Análisis en la Investigación Civil y Criminal" celebrado recientemente en Zaragoza y organizado por la Facultad de Medicina (Laboratorio de Genética Forense, Cátedra de Medicina Legal) en colaboración con Comandancia de la Guardia Civil de Zaragoza y dirigido específicamente a los miembros de los Cuerpos y Fuerzas de Seguridad del Estado.

Estos hechos están en sintonía con las recientes modificaciones habidas en el Código Penal y en la Ley de Enjuiciamiento Criminal (BOE: 26 de noviembre de 2003) que auguran un futuro lleno de posibilidades, y de una mayor exigencia de calidad para la pericia en Genética Forense.

BIBLIOGRAFÍA

- CASTELLANO ARROYO M, MARTINEZ JARRETA B. Distribución de frecuencias de marcadores genético-moleculares en población española. Zaragoza: *Librería General*. 1991.
- MARTINEZ JARRETA B. Marcadores genético-moleculares en Medicina. Conferencias y Comunicaciones (curso 1990) de la Real Academia de Medicina de Zaragoza Vol. LVI. Zaragoza: *Librería General*. 1991:167-168.
- MARTINEZ JARRETA B, CASTELLANO, M. Distribution of transferrin subtypes in Aragon (North-East Spain). *Hum Hered* 1988; 38(4): 258-260.
- MARTINEZ JARRETA B, CASTELLANO M, CRIADO M. Distribution of Gc subtypes in Aragon (North-East Spain). *Hum Hered* 1989; 39(1): 46-48.
- MARTINEZ JARRETA B. La prueba pericial médica en el Derecho. Zaragoza: *Servicio de Publicaciones de la Universidad de Zaragoza*. 1996.
- MARTINEZ JARRETA B. (Ed) La prueba del ADN en Medicina Forense. Barcelona: Masson, 1999.
- MARTINEZ JARRETA B, DIAZ ROCHE P, ABECIA E. Genetic variation at six STR loci HUMTH01, HUMTPOX, HUMCSF1PO, HUMF13A01, HUMFES/FPS and HUMVWFA31 in Aragon (North-Spain). *Forensic Sci Int* 1999; 100: 87-92.
- NIEVAS P, MARTINEZ JARRETA B, ABECIA E, HINOJAL R, PRADES A. TPOX, TH01 and VWA allele frequencies in a population sample from Asturias (North-Spain). *J Forensic Sci* 1998; 44(2):389-391.
- MARTINEZ JARRETA B, NIEVAS P, ABECIA E, LAREU MV, BUDOWLE B. Population genetics of the D1S1656, D12S391 and D18S535 loci in Asturias. *J Forensic Sci* 2000; 45(2):450-452.
- MARTINEZ- JARRETA B, PRADES A, CALAFELL F, BUDOWLE B. Mitochondrial DNA HVI and HVII variation in a North-East Spanish Population. *J Forensic Sci* 2000;45: 11162-1163.
- BELL B, NIEVAS P, ABECIA E, MARTINEZ-JARRETA B, HINOJAL FONSECA R, MARTINEZ CORDERO A. Population genetics of the STR loci HUMCSF1PO, HUMF13A01, HUMFES/FPS and D12S391 in Asturias (Northern Spain) *Forensic Science Int* 2000; 113:21-23.
- NIEVAS P, MARTÍNEZ-JARRETA B, ABECIA E, HINOJAL R, BUDOWLE B. Haplotype Distribution of nine Y-chromosome STR-loci in two Northern Spanish Populations (Asturias and Aragon). *J Forensic Sci* 2003,48/1:204-205.
- CARRACEDO A, RODRIGUEZ-CALVO MS, PESTONI C, LAREU MV, BELLAS S, SALAS A, et al. Standardization of forensic DNA analysis in Europe. *Forensic Sci Int* 1997; 86: 87-102.
- GOMEZ J, RODRIGUEZ-CALVO MS, ALBARRAN C, AMORIM A, ANDRADAS J, CABRERO C, et al. A review of the collaborative exercises of the Spanish and Portuguese ISFH working group. *Int J Leg Med* 1997; 110: 273-277.

Haplotipos del cromosoma Y en la población del archipiélago canario

Y chromosome haplotypes in the Canary islands

I. Frías, V. Prieto⁽¹⁾, P. Martín⁽²⁾ y P. Sanz⁽¹⁾

Instituto Nacional de Toxicología. Delegación de Canarias. (1) Instituto Nacional de Toxicología. Departamento de Sevilla. (2) Instituto Nacional de Toxicología. Departamento de Madrid. ifrias@cip.es

RESUMEN

Se han amplificado los loci DYS19, DYS385, DYS389II, DYS390, DYS391 y DYS393 incluidos en el kit Y Plex 6 de Reliagene (Reliagene Technologies, Inc.), en más de 100 muestras de sangre o saliva extraídas mediante fenol-cloroformo-isoamílico, correspondientes a individuos masculinos procedentes de nuestra casuística o de voluntarios, residentes en Canarias. Posteriormente se calcularon la diversidad génica y la diversidad haplotípica.

PALABRAS CLAVE

Cromosoma Y, diversidad haplotípica, genética poblacional

ABSTRACT

We have amplified the loci DYS19, DYS385, DYS389II, DYS390, DYS391 y DYS393 included in the kit Y-Plex 6 of Reliagene (Reliagene Technologies, Inc.) in more than one hundred samples of blood and saliva from unrelated male individuals from case-work and voluntiers, living in the Canary Islands. The extraction method was phenol-chloroform-isoamylalcohol. We also calculated gene and haplotype diversity.

KEY WORDS

Y Chromosome, haplotype diversity, population genetics.

INTRODUCCIÓN:

Los microsatélites existentes en el cromosoma Y se han convertido en una herramienta muy útil desde el punto de vista forense [1-3] gracias a su aplicabilidad en los casos de filiación vía paterna, en la identificación de restos y en la resolución de los delitos sexuales.

Estos casos son frecuentemente demandados en nuestro laboratorio, por lo que nos hemos planteado como objetivo de este trabajo la elaboración de una base de datos de población Canaria, necesaria para la utilización de los Y-STRs en nuestra casuística habitual.

MATERIAL Y METODOS:

Población: 114 muestras de sangre y saliva. Individuos no relacionados procedentes de la casuística y de voluntarios residentes en Canarias. **Extracción:** Fenol-cloroformo-isoamílico. Concentración en unidades Microcón 100 (Millipore, Bedford, MA, USA). **Cuantificación:** Quantiblot. Kit de identificación humana (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). **STRs:** DYS19, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS393 y DYS385 (kit Y-Plex 6). Amplificación según protocolo de Reliagene (Reliagene Technologies, Inc.). **Análisis:** ABI Prism™ 310. Ladder suministrado por Reliagene.

DISCUSION:

- Se obtienen 91 haplotipos diferentes de 114 individuos analizados, siendo la diversidad haplotípica de 0,9849.

- No se han detectado duplicaciones ni alelos nulos en ninguno de los marcadores estudiados.

- Se han observado alelos poco frecuentes, no incluidos en el ladder suministrado por Reliagene, pero descritos en la base de datos YSTR Data Base (<http://YSTR.charite.de>), en los loci DYS19 (alelo 17), DYS390 (alelos 20 y 21), DYS391 (alelo 13) y DYS385 (alelo 9).

REFERENCIAS

- [1] Gill P, Brenner C, Brinkman B et al.; Int J Legal Med 2001; 114:305-309.
- [2] Carracedo A, Bär W, Lincoln PJ et al.; Forensic Sci Int 2000; 110:79-85
- [3] Carracedo A, Beckmann A, Bengs A et al.; Forensic Sci Int 2001; 119:28-41.

FRECUENCIAS ALÉLICAS Y DIVERSIDAD GÉNICA			
Locus	Alelos	Frecuencias	Diversidad génica
DYS19	13	0,2105	0,6500
	14	0,5175	
	15	0,1842	
	16	0,0439	
	17	0,0439	
DYS389II	28	0,1228	0,6408
	29	0,4912	
	30	0,3158	
	31	0,0526	
	32	0,0175	
DYS390	20	0,0088	0,6390
	21	0,0175	
	22	0,0965	
	23	0,2280	
	24	0,5351	
DYS391	9	0,1404	0,6390
	10	0,4298	
	11	0,3947	
	12	0,0263	
	13	0,0088	
DYS393	12	0,1491	0,4726
	13	0,6930	
	14	0,1579	

DYS385-FRECUENCIAS FENOTÍPICAS			
Fenotipo	Frecuencia	Fenotipo	Frecuencia
9-13	0,0088	13-16	0,0263
10-14	0,0175	13-17	0,0088
10-15	0,0175	13-18	0,0088
11-11	0,0088	13-19	0,0175
11-12	0,0263	14-14	0,0088
11-13	0,0088	14-15	0,0175
11-14	0,2807	14-16	0,0175
11-15	0,0614	14-17	0,0088
11-16	0,0088	14-19	0,0175
12-12	0,0088	15-15	0,0263
12-13	0,0088	15-16	0,0175
12-14	0,0439	15-17	0,0175
12-15	0,0088	15-18	0,0263
12-16	0,0175	16-18	0,0175
13-14	0,1140	17-17	0,0088
13-15	0,0263	17-18	0,0175

* Valor de Diversidad: 0,8886

FRECUENCIAS HAPLOTÍPICAS															
	DYS19	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 393	DYS 385	N		DYS 19	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 393	DYS 385	N
1	13	28	25	10	14	11-14	1	47	14	30	25	11	13	10-14	1
2	13	30	25	10	13	17-18	1	48	14	30	30	11	13	11-14	1
3	13	29	24	10	13	13-14	1	49	14	31	23	10	12	14-19	1
4	13	29	24	11	13	11-14	1	50	14	31	24	10	12	13-15	1
5	13	29	25	10	12	17-18	1	51	14	31	23	11	12	13-19	1
6	13	30	22	9	13	13-15	1	52	14	29	24	10	13	11-14	2
7	13	30	23	10	13	15-16	1	53	14	30	24	11	13	11-15	2
8	13	30	23	9	13	14-14	1	54	14	29	23	11	13	11-14	2
9	13	30	24	10	13	15-16	1	55	14	29	24	10	13	12-14	2
10	13	30	24	9	14	13-14	1	56	14	28	22	10	13	13-14	2
11	13	30	25	10	14	16-18	1	57	14	29	29	11	13	11-14	2
12	13	31	23	9	13	14-14	1	58	14	29	22	10	12	13-16	2
13	13	32	24	12	13	15-17	1	59	14	29	24	11	13	11-15	2
14	13	30	24	10	13	17-17	1	60	14	30	24	11	13	11-14	3
15	13	29	24	9	13	13-14	2	61	14	29	24	11	13	11-14	7
16	13	29	25	9	13	14-14	2	62	15	31	25	10	13	11-14	1
17	13	30	24	9	13	13-14	3	63	15	29	23	11	14	12-14	1
18	13	30	23	9	13	13-14	3	64	15	29	24	10	12	16-18	1
19	14	29	24	11	13	9-13	1	65	15	29	24	12	13	11-15	1
20	14	30	23	11	13	14-14	1	66	15	29	25	10	12	13-17	1
21	14	29	24	10	13	10-14	1	67	15	29	29	10	12	14-16	1
22	14	29	24	11	13	10-15	1	68	15	30	22	10	14	14-15	1
23	14	29	24	11	13	11-11	1	69	15	30	23	10	14	15-15	1
24	14	29	24	11	13	11-12	1	70	15	29	23	10	13	11-14	1
25	14	29	24	11	13	11-13	1	71	15	31	21	10	14	14-14	1
26	14	29	24	11	13	11-16	1	72	15	29	23	10	13	14-14	1
27	14	29	23	10	14	15-18	1	73	15	32	23	11	12	12-13	1
28	14	29	24	11	13	12-15	1	74	15	30	24	11	13	11-14	1
29	14	28	28	10	14	11-14	1	75	15	28	22	10	13	13-14	1
30	14	29	24	11	14	11-14	1	76	15	29	23	10	12	14-16	1
31	14	29	24	12	13	11-14	1	77	15	28	24	10	14	15-18	1
32	14	29	24	13	13	11-14	1	78	15	28	24	10	14	12-16	1
33	14	30	23	10	12	13-18	1	79	15	29	22	10	14	14-14	1
34	14	30	23	10	12	13-19	1	80	15	28	28	10	12	15-18	1
35	14	30	23	11	13	11-14	1	81	15	29	21	10	14	13-15	1
36	14	29	24	11	13	12-14	1	82	15	29	22	10	14	12-16	1
37	14	29	24	10	12	14-17	1	83	16	28	23	10	13	12-12	1
38	14	29	29	10	13	13-16	1	84	16	29	29	11	13	11-14	1
39	14	20	24	11	13	11-15	1	85	16	30	23	11	14	15-15	1
40	14	28	23	10	13	14-15	1	86	16	30	24	11	14	15-15	1
41	14	28	23	11	13	11-14	1	87	16	30	25	10	14	11-14	1
42	14	28	24	11	13	11-14	1	88	17	30	24	10	12	11-14	1
43	14	28	25	11	13	14-19	1	89	17	28	22	10	13	14-14	1
44	14	30	24	10	13	11-15	1	90	17	30	20	10	14	15-17	1
45	14	30	24	11	13	10-15	1	91	17	29	24	9	13	11-12	2
46	14	30	24	11	13	12-14	1								

Chips electrónicamente activos: ventajas y desventajas en genética forense

Electronically activated: advantages and disadvantages in forensic genetics

B. Sobrino, M. Lareu, V. Alvarez, A. Salas, M. Brion, A. Carracedo
Instituto de Medicina Legal, Unidad de Genética Forense, Facultad de Medicina,
Universidad de Santiago de Compostela, Galicia-España

RESUMEN

En genética forense, el análisis de SNPs resulta interesante debido a su abundancia en el genoma, su baja tasa de mutación y la posibilidad de automatizar el análisis. Sin embargo, el número de SNPs que necesitan ser analizados para obtener el mismo poder de discriminación que con 13 STRs es de 50-80. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de tecnologías que nos permitan tipar un gran número de SNPs simultáneamente.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos con los chips electrónicamente activos de Nanogen™ para el tipado de SNPs de cromosoma Y mediante dos estrategias: «amplicon down» y «capture down». Las ventajas y desventajas de cada una de ellas son analizadas.

PALABRAS CLAVE

SNPs, cromosoma Y, chips electrónicamente activos

SUMMARY

In forensic genetics SNPs are interesting due to their abundance in the human genome, their low mutation rate and the possibility of automation. However, the number of SNPs we need to analyse in forensic genetics to have the same discrimination power of STRs is around 50-80. Therefore, it is necessary to develop high throughput methods for SNP typing allowing us to analyse a large number of SNPs simultaneously with a high degree of accuracy.

In this work, results obtained using electronically activated chips from Nanogen™ are showed. Y-chromosome SNPs has been analysed with two different strategies: «amplicon down» and «capture down». The advantages and disadvantages of both strategies are discussed.

KEY WORDS

SNPs, Y-chromosome, electronically activated chips

INTRODUCCIÓN

Los SNPs están cobrando una gran importancia en el campo forense debido fundamentalmente a características como su baja tasa de mutación, su elevada frecuencia en el genoma y su simplicidad, que facilita la automatización del análisis. Por otro lado, el principal problema que presentan es su bajo nivel de polimorfismo, de manera que si consideramos que con 13 STRs obtenemos una probabilidad de coincidencia al azar de entre 1 en 1 billón y 1 en 1 trillón, necesitaríamos entre 25 y 45 SNPs con frecuencias alélicas de 0.3-0.7 para obtener los mismos resultados. Y en casos de paternidades, para obtener una probabilidad de exclusión del 99.9% se necesitarían entre 33 y 81 SNPs con frecuencias entre 0.5-0.5 y 0.1-0.9 respectivamente [1].

Debido a la necesidad de analizar un gran número de SNPs es imprescindible el desarrollo de tecnologías que nos permitan detectar simultáneamente muchos SNPs con gran seguridad y eficacia.

Los chips electrónicamente activos de Nanogen™ se basan en el concepto de que las moléculas biológicas tienen carga. El DNA es depositado sobre cada punto del chip controlando, mediante corriente eléctrica, la polaridad de cada uno de los puntos. Esto permite aumentar la eficacia y la velocidad de la hibridación. La posibilidad de controlar de forma individual cada uno

Correspondencia: Ángel Carracedo.
Instituto de Medicina Legal. Facultad de Medicina. San Francisco, s/n.
15782 Santiago de Compostela

de los puntos del chip permite utilizar el mismo chip para analizar muestras distintas, al contrario de lo que ocurre con los microarrays convencionales en los cuales cualquier proceso se realiza sobre todo el microarray.

Existen dos tipos de estrategias para tipar SNPs con el NanoChip: Amplicon Down y Capture Down [2]. Para ambos protocolos es necesario el uso de tres oligonucleótidos por SNP, dos «reporters» y un estabilizador. Los «reporters» tienen en el extremo 3' una de las bases del SNP y en el extremo 5' están marca-

TABLA 1. SECUENCIA DE LOS ESTABILIZADORES Y "REPORTERS".

SNP	Estabilizador / "capture" (5'-3')	"reporters" (5'-3')
SRY-1532	TAACATTTTCAAGGTTCACTATGTGG	Cy5-TTTCACACAGTA Cy3-TTCACACAGTG
M9	CTCTTTATTTTCTTTAATTTAGACATGTTCAAACG-Biot	Cy5- AGA TGG TTG AAT C Cy3- AGA TGG TTG AAT G
M35	CAG TGT CCC AAA GGA AAA TTG GGA C-Biot	Cy5- TGC CTG TGT CC Cy3- TGC CTG TGT CG
M81	TTC AAA AAA GGA CAA AAT TTA CCT CTT TTG TTA AGA G-Biot	Cy5- TAT ACT CTA TGA CG Cy3- GTAT ACT CTA TGA CA
M123	CATCGCCTGAATACCTAGAAATGCAAATTC-Biot	Cy5- AACTAGCATATCAG Cy3- AACTAGCATATCAA
M167	GCA CCC TGT GGG GCT TCC TT-Biot	Cy5-TCA CCC TGT GGG Cy3-TCA CCC TGT GGA

Figura 1.

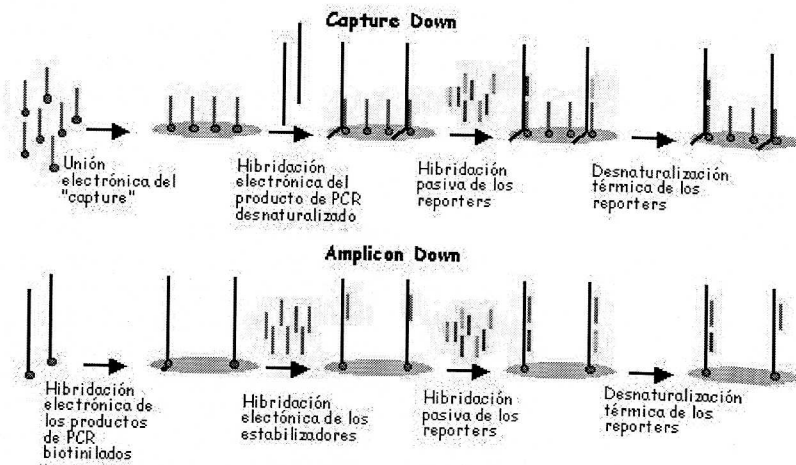


Figura 1. Esquema de las dos estrategias de tipado de SNPs.

dos con Cy3 (wt) y Cy5 (mut). El extremo 5' del estabilizador es la base adyacente al SNP. La diferencia entre ambos protocolos está en la molécula que se une a la superficie del NanoChip. En Amplicon Down se une al chip el producto de PCR utilizando un primer marcado con biotina, y posteriormente se hibrida con el estabilizador y los «reporters». Sin embargo en Capture Down lo que se une al chip es el estabilizador, llamado en este caso «capture» y que está marcado en el extremo 3' con biotina (figura 1).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las dos estrategias de tipado de SNPs con el NanoChip, Amplicon Down y Capture Down han sido probadas. Los polimorfismos estudiados en este trabajo han sido SNPs de cromosoma Y (SRY-1532, M9, M35, M81, M123, M167) [3]. Las secuencias de los estabilizadores y «reporters» se muestran en la tabla 1.

La estrategia seleccionada para analizar los SNPs en singleplex ha sido Amplicon Down. Se han realizado diluciones para establecer el nivel de detección. Con Capture Down hemos analizado los SNPs tanto en singleplex como en multiplex. La estrategia de multiplex utilizada ha sido unir a cada punto del chip el «capture» de un determinado SNP. A continuación se hibridó electrónicamente con el producto de PCR mul-

tiplex de los SNPs y por último, con los «reporters».

DISCUSIÓN

El uso de SNPs, tanto en genética forense como en otros campos, está limitado por el desarrollo de tecnologías que nos permitan detectar un gran número de SNPs simultáneamente.

El NanoChip nos permite analizar en singleplex un SNP en muchas muestras mediante Amplicon Down. En la tabla 2 podemos ver los resultados del análisis del SRY-1532 con el software de Nano-

gen. Tabla 2. Resultados del SRY-1532 con Amplicon Down. Aunque es un SNP del cromosoma Y, el programa, al detectar un único alelo lo tipa como un homocigoto. La muestra 9 es un control negativo de PCR. La muestra denominada «mezcla» es una mezcla 1:1 de ambos alelos, utilizada como control.

Sin embargo, con este protocolo no es posible la detección en una única hibridación de los multiplexes de PCR. Esto sería posible si pudiésemos diseñar los «reporters» para cada uno de los SNPs que son analizados simultáneamente de manera que difieran entre ellos al menos 1-2 °C, pero esto no es así ya que la Tm está determinada por la

RESULTS FOR SRY1532 (31SCAN)

Sample	Red	Green	Pads	Ratio (R:G)	Probe Designation
sample1	20.43	304.4	2	1 : 14.9	A/A
sample 2	50.54	445.4	2	1 : 8.81	A/A
sample 3	62.37	683.9	2	1 : 10.97	A/A
sample 4	44.24	372.4	2	1 : 8.42	A/A
sample 5	330.9	26.3	2	12.58 : 1	G/G
s7	943.85	49.85	2	18.93 : 1	G/G
s8	215.53	27.5	2	7.84 : 1	G/G
s9	Low SNR	Low SNR	0	-	-/-
mezcla	173.9	173.9	2	1 : 1	G/A

Tabla 2. Resultados del SRY-1532 con Amplicon Down. Aunque es un SNP del cromosoma Y, el programa, al detectar un único alelo lo tipa como un homocigoto. La muestra 9 es un control negativo de PCR. La muestra denominada «mezcla» es una mezcla 1:1 de ambos alelos, utilizada como control.

secuencia que flanquea al SNP. Otra estrategia que nos permitiría analizar multiplexes con Amplicon Down sería hibridando electrónicamente los «reporters» de cada SNP sobre los puntos del chip donde se va a leer dicho SNP. Sin embargo esto no es aconsejable ya que aumentaría el ruido de fondo.

Con Capture Down la puesta a punto es complicada pero parece la estrategia adecuada para multiplex, sin embargo una vez realizada la restricción térmica tras la hibridación con los «reporters» no ha sido posible el tipado de todos los SNPs ya que en algunos la fluorescencia obtenida ha sido muy baja.

Hemos probado distintas concentraciones de «capture», así como distintas condiciones de voltaje y tiempo de

unión electrónica del «capture» al chip, pero no se ha visto que influya en la intensidad de la fluorescencia.

Con los resultados obtenidos hasta el momento podemos afirmar que el NanoChip es un método de utilidad para detectar SNPs en un gran número de muestras con Amplicon Down, sin embargo la detección de SNPs en multiplex con Capture Down debe ser optimizada.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con la ayuda de la Xunta de Galicia (PGIDT01PXI20806PR) y del Ministerio de Ciencia Tecnología (DGICYT.P4.BIO2000-0145-P4-02). B.S. tiene una beca de la Fundación Ramón Areces.

REFERENCIAS

- [1] Chakraborty R, Stivers DN, Su B, Zhong Y, Budowle B. (1999) The utility of short tandem repeat loci beyond human identification: Implications for development of new DNA typing systems. *Electrophoresis* 20: 1682-1696.
- [2] Feng L, Nerenberg M. Electronic microarray for DNA analysis. *Gene Ther Mol Biol* vol 4, 183-191. 1999
- [3] Underhill PA, Shen P, Lin AA, Jin L, Passarino G, Yang WH, Kauffman E, Bonnè-Tamir B, Bertranpetit J, Francalacci P, Ibrahim M, Jenkins T, Kidd JR, Mehdi SQ, Seielstad MT, Wells RS, Piazza A, Davis RW, Feldman MW, Cavalli-Sforza LL, Oefner PJ. (2000) Y chromosome sequence variation and the history of human populations. *Nature Genetics* 26:358-361.

Análisis microgeográfico de linajes paternos y maternos en el noroeste de la península ibérica

Microgeographic patterns of paternal and maternal lineages in the North West of Iberia.

Quintáns B^{1,2}, Brión M¹, Zarrabeitia M.³, Riancho J.⁴, Salas A¹, Sánchez-Diz P¹, Lareu MV¹, Carracedo A¹.

1 Instituto de Medicina Legal. Universidad de Santiago de Compostela. España

2 Servicio de Anatomía Patológica y Neuropatología. Hospital Meixoeiro. Vigo. España

3 Unidad de Medicina Legal. Universidad de Cantabria. Santander. España

RESUMEN

Se ha analizado el efecto del muestreo y la subestructuración poblacional en la estima de frecuencias haplotípicas de cromosoma Y y ADN mitocondrial en las poblaciones de Galicia y Cantabria (NO España).

En Galicia se encontraron diferencias significativas en las frecuencias de haplogrupos de SNPs entre una muestra de población general y otra de pequeños núcleos rurales, observándose sin embargo una gran homogeneidad tanto en linajes maternos como paternos. Por el contrario, la población cántabra presenta una marcada subestructura genética tanto en el cromosoma Y como en el ADNmt. En este trabajo analizamos las implicaciones forenses y antropológicas de estos resultados.

PALABRAS CLAVE

Subestructura poblacional, efectos de muestreo.

SUMMARY

The effect of sampling and population substructuring in the estimation of Y chromosome haplotype frequencies is analyzed in the population of Galicia and Cantabria (NW Spain).

In Galicia there are significant differences among the sampling of population living in towns and the sampling carried out in rural areas. However, there are no significant differences among the different geographic natural in maternal and paternal lineages. Surprisingly, in the population of Cantabria big differences were found in Y-chromosome and mtDNA. Forensic and anthropological implications will be discussed in this work.

KEY WORDS

Population substructure, sampling effects.

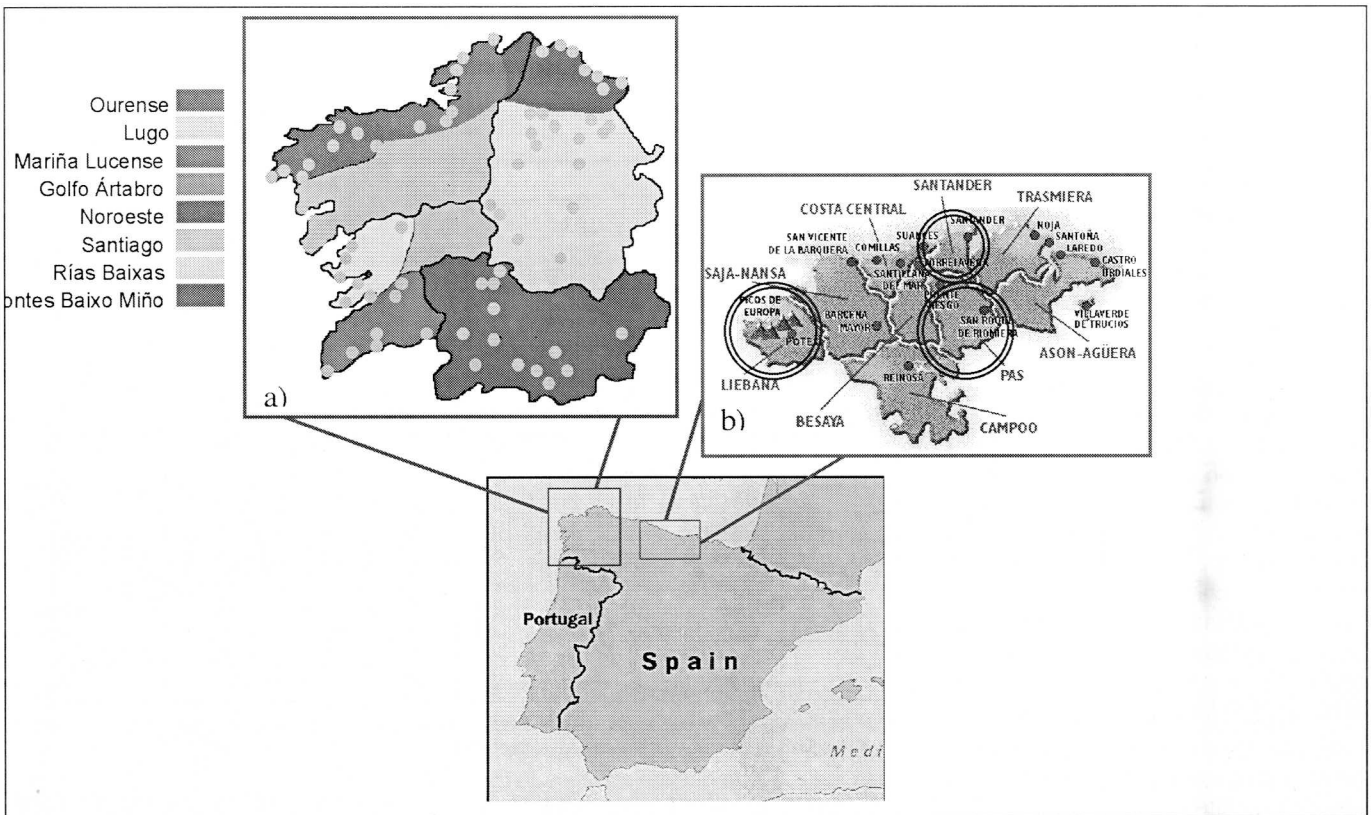
INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que plantea el uso en casos forenses del ADNmt y marcadores de la región no recombinante del cromosoma Y, es cómo valorar la fuerza de una evidencia en casos de inclusiones, ya que en ambos la variabilidad del ADN se hereda como un haplotipo. El modo en que se debe informar sobre el valor de la evidencia en estos casos, es tratado en las recomendaciones sobre cromosoma Y y ADNmt de la "DNA comisión" [1,2]. La estima de frecuencias haplotípicas se realiza en base a su distribución en la población de referencia teniendo en cuenta una posible subestructuración poblacional [3]. De ahí el interés por contar con grandes bases de datos que actualmente se suelen realizar con muestras recogidas en poblaciones urbanas o en áreas representativas del lugar de estudio, asumiéndose homogeneidad. Sin embargo pueden darse aspectos culturales y/o geográficos que provoquen cierta heterogeneidad genética [4,5].

Además, siempre se utilizan individuos no emparentados, excluyendo a los familiares cercanos siempre que sea posible. Consecuentemente, las frecuencias de los haplotipos comunes estarán subestimadas debido a este deliberado criterio de selección. Para conocer estos eventos se han analizado a nivel microgeográfico las regiones de Galicia y Cantabria (NO España).

Correspondencia: A. Carracedo
Depto. de Medicina Legal. Facultad de Medicina. Santander
apimlang@usc.es

Figura 1.



MATERIAL Y MÉTODOS

De los 3 millones de habitantes que posee Galicia, aproximadamente 1 millón se concentran en las principales ciudades (Vigo, La Coruña, Santiago,...). El resto se distribuyen en pequeños pueblos rurales que rara vez superan los 20.000 habitantes.

En Galicia se han llevado a cabo dos muestreos: uno de población general (107 individuos) incluyendo las grandes ciudades y otro a partir de 52 núcleos rurales (292 individuos) que pueden distribuirse en 8 comarcas atendiendo a aspectos de tipo geográfico, histórico y/o cultural (Fig.1a). Se analizó también una muestra de población cántabra dividida en comarcas. En este caso se trata de 159 individuos distribuidos en 3 comarcas que han sufrido un cierto aislamiento debido a fuertes barreras geográficas. (Fig.1b)

En cada una de las muestras se han estudiado 10 marcadores bialélicos de cromosoma Y (YAP, SRY-8299, SRY-2627, SRY-1532, sY81, M9, 92R7, LLY22g, Tat y 12f2), y 7 STRs de cromosoma Y (DYS19, DYS389I y II, DYS390, DYS391, DYS392 y DYS393), según las condiciones descritas por Brion et al.

[6]. Se obtuvieron las frecuencias de haplogrupos por contaje génico. Se han calculado las frecuencias alélicas para los STRs, así como frecuencias haplotípicas y diversos índices de diversidad por medio del software Arlequin versión 2000 [7]. Asimismo se realizó el test de Markov para analizar la diferenciación poblacional.

Se secuenció la región HVI del ADN mitocondrial, desde la posición 16024

hasta la 16400. Se llevó a cabo el cálculo de diversos índices de diversidad molecular así como distintos AMOVAs para detectar diferencias entre comarcas gracias al soporte informático anteriormente citado.

DISCUSIÓN

En cuanto al estudio de los marcadores de cromosoma Y, el análisis de los polimorfismos bialélicos en los dos

Figura 2.

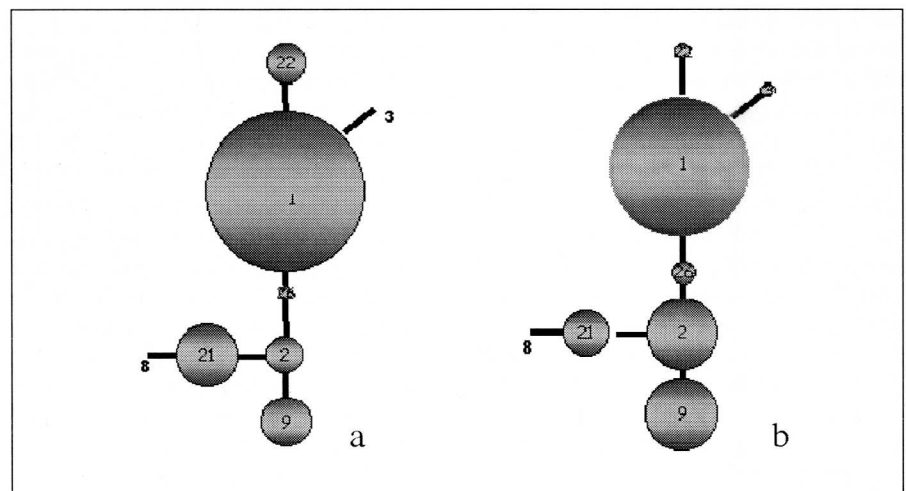


TABLA 1

	Cantabria			Galicia						
	Liébana	Pas	Santander	Ourense	Noroeste	G Ártabro	M Lucense	Santiago	Lugo	R Baixas
Pas	0,0460									
Santander	0,0225	0,0101								
Ourense	-0,0117	0,0436	0,0131							
Noroeste	0,0063	0,0338	0,0330	-0,0001						
G Ártabro	-0,0127	0,0407	-0,0004	-0,0172	0,0081					
M Lucens	-0,0106	0,0535	0,0327	-0,0112	0,0120	-0,0056				
Santiago	-0,0034	0,0430	0,0199	-0,0105	-0,0018	-0,0030	-0,0000			
Lugo	0,0047	0,0352	0,0043	-0,0050	0,0024	-0,0124	0,0062	0,0006		
R Baixas	-0,0056	0,0623	0,0301	-0,0164	-0,0043	-0,0108	-0,0106	-0,0052	-0,0019	
M B Miño	-0,0092	0,0137	0,0062	-0,0136	-0,0101	-0,0126	-0,0117	-0,0040	-0,0009	-0,0067

muestreos poblacionales realizados en Galicia aporta diferencias significativas entre ambos, debido fundamentalmente a la mayor frecuencia de los haplogrupos minoritarios en la muestra de población rural (Fig. 2b) respecto a la población general (Fig. 2a). En vista de los resultados, estas diferencias podrían ser explicadas por el hecho de que, aunque Galicia ha tenido altas tasas de emigración durante siglos, existe cierto grado de migración hacia las principales ciudades, sobre todo en los últimos tiempos.

Al analizar los datos de cada una de las comarcas observamos, sin embargo, la ausencia de diferencias, salvo en el caso de las comarcas situadas más al noreste y sudoeste que presentaron diferencias en la distribución de los haplogrupos ($P < 0.02$, 10000 pasos de la cadena de Markov), y en el caso de algunas comarcas situadas en el este y oeste que presentaron diferentes frecuencias haplotípicas ($P < 0.03$, 10000 pasos de la cadena de Markov). Los valores de F_{st} para estos marcadores entre las comarcas en Galicia siempre fueron inferiores a 0.01 (Tabla 1) y similares a los encontrados al comparar las comarcas del Sur de Galicia con sus vecinas del Norte de Portugal [5], excepto en una comarca cuya diferenciación resulta estadísticamente significativa debido a factores geográficos y culturales.

El análisis del ADN mitocondrial arroja datos similares. El AMOVA indica que el 100% de la variabilidad se debe a diferencias dentro de las comarcas (0% de diferencias entre comarcas). En la Tabla 2 pueden observarse distintos índices de diversidad calculados. La homogeneidad encontrada entre las comarcas de Galicia podría ser indicativo de una marcada movilidad poblacional a pequeña escala.

En caso de Cantabria, el aislamiento geográfico y/o cultural de cada una de las comarcas podría explicar las diferencias estadísticamente significativas que

TABLA 2

Muestra	N	S	M	P	D	
GALICIA	Golfo Ártabro	22	14	25	3.312 +/- 1.769	0.009 +/- 0.005
	Lugo	57	42	55	4.355 +/- 2.185	0.011 +/- 0.006
	Mariña Lucense	30	27	39	4.227 +/- 2.158	0.011 +/- 0.006
	Montes Baixo Miño	25	21	27	3.697 +/- 1.933	0.010 +/- 0.006
	Noroeste	23	19	29	4.241 +/- 2.183	0.011 +/- 0.006
	Ourense	35	27	50	4.551 +/- 2.292	0.012 +/- 0.007
	Rías Baixas	31	25	39	4.770 +/- 2.396	0.013 +/- 0.007
	Santiago	43	34	53	4.826 +/- 2.400	0.013 +/- 0.007
	CANTABRIA	Valle de Liébana	48	28	43	4.257 +/- 2.148
Valle del Pas		40	21	31	4.072 +/- 2.074	0.011 +/- 0.006
Santander		52	32	42	3.599 +/- 1.856	0.010 +/- 0.005

N: nº de muestras, S: nº de secuencias diferentes encontradas, M: nº de posiciones variables, P: nº medio de diferencias de pairwise, D: Diversidad nucleotídica.

fueron encontradas entre cada una de ellas tanto en el componente genético masculino como en los linajes femeninos. Los valores de F_{st} para los marcadores de cromosoma Y, en este caso han sido superiores a los de las comarcas gallegas, pero inferiores a 0.05 (Tabla 1). El AMOVA de secuencias de ADN mitocondrial indica que el 3.61% de la diversidad es debida a diferencias entre comarcas.

Los resultados de la población del valle del Pas en Cantabria son particularmente interesantes en cuanto a los linajes masculinos, ya que presentan una elevada frecuencia del haplogrupo 21 (28%), el cual presenta sus mayores frecuencias en las poblaciones del norte de África (~70%). Por el contrario, los linajes femeninos que pueden asociarse al norte de África no se encontraron particularmente frecuentes en esta región.

Como conclusión, podemos decir que el método de muestreo puede afectar a los resultados. La homogeneidad de la población gallega la hace idónea a la hora hacer estimas estadísticas en el campo forense, lo cual no sucede en la población de Cantabria, que es un claro ejemplo de subestructuración poblacional debida probablemente a barreras de tipo geográfico y/o culturales que hace

que sea necesario el uso de correcciones estadísticas en la estima de frecuencias para su aplicación a casos forenses

Finalmente, parece claro que no existe otra solución universal para el efecto de la sub-estructuración poblacional a nivel geográfico, más que analizar las muestras de las regiones específicas de la población en cuestión, siempre que sea posible.

REFERENCIAS

- [1] Gill P, Brenner C, Brinkman B et al.; Int J Legal Med 2001; 114:305-309.
- [2] Carracedo A, Bär W, Lincoln PJ et al.; Forensic Sci Int 2000; 110:79-85
- [3] Carracedo A, Beckmann A, Bengs A et al.; Forensic Sci Int 2001; 119:28-41.
- [4] Oata H, Settheetham-Ishida W, Tiwawech D, et al Nature Genetics 2001;29,20-21
- [5] Beleza S, Quintáns B, Amorim A et al. Microgeographic substructure in NW Iberia revealed by Y chromosome STR haplotypes (Manuscrito en preparación).
- [6] Brión M, Lareu MV, Pereira L et al.; In: Sensabaugh GF et al (eds.) Progress in Forensic Genetics 8. Amsterdam: Elsevier, 2000; 263-265.
- [7] Schneider S, Kueffer J-M, Roessli D, Excoffier L. 1997. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland

Extracción de ADN de uñas: alternativa rápida para la identificación de cadáveres

DNA extraction from nails: a fast alternative for corpses identification

León, A., Real, P., Díaz, M., Parada, P., Dueñas, F., Iglesias, N., Rivas E.

RESUMEN

Desde que en 1.994 llegó a nuestro Laboratorio el primer caso con fines identificativos en el que la muestra indubitada consistía en tejido ungueal, comenzamos los ensayos tendentes a la obtención de ADN de las mismas. El trabajo se enfocó, en principio, hacia la obtención de un método eficaz para la extracción de una cantidad de ADN que fuera suficiente para realizar análisis genéticos vía PCR. Desde entonces, y tras sucesivas modificaciones de la técnica, tendentes siempre hacia una simplificación de la misma, los resultados han sido siempre positivos, logrando la amplificación de ADN para los marcadores utilizados en cada momento.

PALABRAS CLAVE

Identificación, cadáveres, ADN de uñas.

SUMMARY

Since in 1.994 our Laboratory received the first case involving identification, in which the reference sample consisted of nail tissue, we begun the assays intended to obtain DNA from them. The work was focused, at the beginning, to develop an effective method in order to extract an amount of DNA which was enough to perform a genetic analysis by means of PCR. Since then, and after successive modifications of the technique, intended to make it as simple as possible, the results have always been positive, achieving the amplification of DNA for those markers being used in each moment.

KEY WORDS

Identification, corpses, fingernails DNA.

INTRODUCCIÓN:

El ADN ha supuesto una revolución en los laboratorios forenses, permitiendo estudiar muestras que antes carecían de valor. Una de estas muestras son las uñas, cuya aparición en el lugar del crimen es rara, pero que a veces ocurre. Más frecuentes son los casos en que las uñas se pueden utilizar para identificar restos humanos. La identificación de cadáveres constituye un importante aspecto del trabajo de los laboratorios forenses sobre todo por la repercusión social que lleva consigo. Tradicionalmente se ha recurrido a la extracción de ADN de restos óseos. Pero, a veces, puede recurrirse al estudio de las uñas existentes, siempre que se disponga de una técnica que permita su análisis de forma más sencilla que con los huesos. Este Laboratorio realizaba desde hace tiempo la extracción de ADN a partir de uñas, si bien la técnica exigía el uso de reactivos especiales de difícil conservación. Ultimamente se ha logrado una simplificación, hasta el punto de que la metodología es la misma que la empleada con otras muestras forenses. Se describe la técnica utilizada, los resultados obtenidos en una serie de muestras control y un resumen de los casos en que esta técnica ha sido utilizada en nuestro Laboratorio.

MATERIAL Y METODOS:

Preparación de la muestra. Es preciso retirar de la uña aquellos materiales que puedan producir una contaminación de

Correspondencia: A. León
Comisaría General de Policía Científica (Laboratorio Biología-ADN).
aleon@mi.madridtel.es / jandradas@dgp.mir.es

los resultados finales o interferir en los mismos. Después de un primer lavado con agua destilada se procede a eliminar todo el material superficial de la uña por raspado con una hoja de bisturí. Posteriormente se somete a un segundo lavado con agua destilada. Una vez la uña se encuentra completamente limpia se procede a obtener el material de extracción de la misma; para facilitar la futura digestión de la uña la cantidad y el volumen de los fragmentos deben ser lo más pequeños posible, recurriéndose a raspar con una hoja de bisturí la superficie de la uña y recogiendo las raspaduras desprendidas. La cantidad sometida a extracción fue pesada con una balanza de ultraprecisión (*Ver fotografías 1 a 4*). **Extracción.** El material así obtenido se macera toda la noche a 37°C en tampón de extracción (10mM TrisBase, 10mM EDTANa₂, 100mM ClNa, 20% SDS) en presencia de DTT (10 mgr/mL) y Proteínasa K (10 mg/ml), seguido de una extracción orgánica (F/Cl/I), (2) y purificación mediante columnas Centricon (Amicon). **Cuantificación.** Se empleó el kit Quantiblot Human DNA Quantitation (Applied Biosystems). **Amplificación.** Se utilizaron los kits comerciales Geneprint Multiplex CTTv y Geneprint Multiplex FFFL (Promega), y Profiler Plus e Identifier (Applied Biosystems) según las condiciones estándar recomendadas por los fabricantes, tanto en cantidad de ADN total (1 ngr.), como en temperatura y número de ciclos. Las muestras se analizaron utilizando un secuenciador ABI Prism 310 (Applied Biosystems) y los resultados se analizaron con el software incluido en el equipo: GeneScan Analysis 2.1 y Genotyper 2.1.

DISCUSION:

Se extrajeron diferentes cantidades de rapaduras de uñas de diferentes donantes. Los resultados obtenidos se indican en la *tabla nº 1*. Se puede observar una homogeneidad en los rendimientos de ADN obtenidos; así cuando la cantidad de partida está elevada en un factor de 10 se observó que el rendimiento final está uniformemente incrementado en la misma proporción, aunque se procuró trabajar con la menor cantidad de muestra posible. Se logra obtener ADN cuantificable con muy escasa cantidad de muestra, si bien en algunos casos bordeando el límite de detección de la técnica de cuantificación.

	Polvo de uña (gr.)	QB (ngr/€l)	PCR		Polvo de uña (gr.)	QB (ngr/€l)	PCR
E0	Control negativo	No ADN	-	E14	0.0039	0.041	+
E1	0.0090	No ADN	+	E15	Control negativo	No ADN	-
E2	0.0480	0.430	+	E16	0.0042	0.036	+
E3	0.0410	0.820	+	E17	0.0050	0.042	+
E4	0.0550	0.790	+	E18	0.0060	0.053	+
E5	0.0710	0.780	+	E19	0.0042	0.030	+
E6	0.0640	0.610	+	E20	0.0058	0.058	+
E7	Control negativo	No ADN	-	E21	Control negativo	No ADN	-
E8	0.0083	0.077	+	E22	0.0035	0.060	+
E9	0.0048	0.041	+	E23	0.0041	0.062	+
E10	0.0081	0.081	+	E24	0.0053	0.091	+
E11	0.0073	0.074	+	E25	0.0038	0.052	+
E12	0.0088	0.160	+	E26	0.0050	0.098	+
E13	0.0052	0.041	+	E27	0.0067	0.081	+

Año	Localidad	Origen	Data aproximada de la muerte	Uña utilizada	QB (ngr/_l)	PCR
1999	Sevilla	Bodega de barco (1)	1 mes	Media	10	+
	Sevilla	Bodega de barco (1)	1 mes	Media	0.75	+
	Sevilla	Bodega de barco (1)	1 mes	Media	15	+
	Sevilla	Bodega de barco (1)	1 mes	Media	0.25	+
	Sevilla	Bodega de barco (1)	1 mes	Media	0.75	+
	Sevilla	Bodega de barco (1)	1 mes	Media	25	+
2000	Aranjuez	Río Tajo	5-6 meses	Media	0.047	+
	Valencia	Domicilio	2 meses	Recortes	0.67	+
	Valencia	Domicilio	2 meses	Recortes	0.42	+
	Stª. Cruz Tenerife	Zona montañosa	5-7 años	Media	0.651	+
	Stª. Cruz La Palma	Bosque	4-5 años	Media	1.2	+
2001	Murcia	Río Segura	5-6 meses	Media	13.8	+
	Talavera	Descampado	2-3 semanas	Media	1.89	+
	Castellón	Cuevas de Sagunto	6 años	Media	0.16	+
	Pamplona	Domicilio	1 mes	Recortes	5.12	+
	Santander	Mar abierto	4-5 meses	Media	7.88	+
	Fuengirola	Vehículo	3 meses	Recortes	0.1	+
	Fuengirola	Vehículo	3 meses	Recortes	0.62	+
	Fuengirola	Vehículo	3 meses	Recortes	1.18	+
	Fuenlabrada	Descampado	1 mes	Recortes	0.17	+
	Fuenlabrada	Descampado	1 mes	Recortes	0.30	+
	Fuenlabrada	Descampado	1 mes	Recortes	0.038	+
	Fuenlabrada	Descampado	1 mes	Recortes	0.038	+
	Fuenlabrada	Descampado	1 mes	Recortes	0.026	+
Fuenlabrada	Descampado	1 mes	Recortes	0.64	+	
Madrid	Centro Penitenciario	1 mes	Recortes	0.17	+	
Madrid	Vehículo	1 Semana	Media	2	+	
Barcelona	Garaje	Semanas	Media	1.7	+	
2002	Villarreal	Acequia	6 meses	Media	0.49	+
	Barcelona	Nave industrial	5 años	Media	1.43	+
	A Coruña	Mar abierto	1 mes	Media	25	+
	Alcalá de Guadaíra	Domicilio	6 meses	Media	1.85	+

(1) Conservadas surante un mes en formol.

En la *tabla nº 2* se exponen los resultados obtenidos en los casos en los que ha sido preciso analizar restos de uñas. La cantidad de ADN extraída es muy variable ya que la cantidad de partida y las condiciones de conservación también lo eran. En todos los casos se logró un rendimiento de ADN en la cuantificación y en todos los casos se obtuvo una amplificación positiva, a pesar de las diferentes datas de la muerte y de las

diferentes condiciones ambientales a las que estuvieron sometidas

Año Localidad Origen Data aproximada de la muerte Uña utilizada QB (ngr/_l) PCR
 1999 Sevilla Bodega de barco (1) 1 mes Media 10 +
 Sevilla Bodega de barco (1) 1 mes Media 0.75 +
 Sevilla Bodega de barco (1) 1 mes Media 15 +
 Sevilla Bodega de barco (1) 1 mes Media 0.25 +
 Sevilla Bodega de barco (1) 1 mes Media 0.75 +
 Sevilla Bodega de barco (1) 1 mes Media 25 +

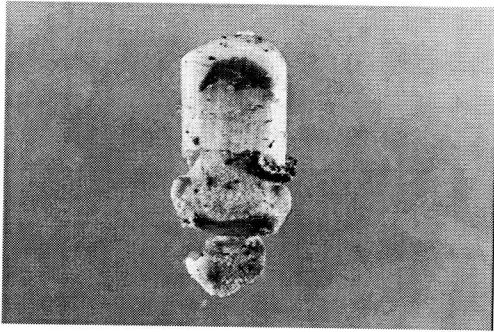


Figura 1.

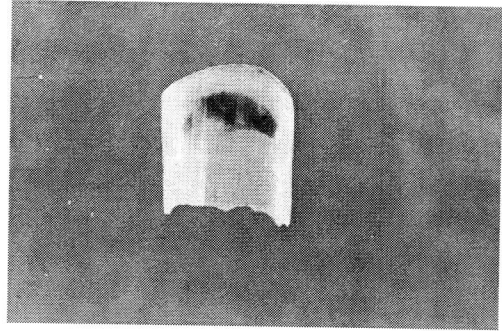


Figura 2.

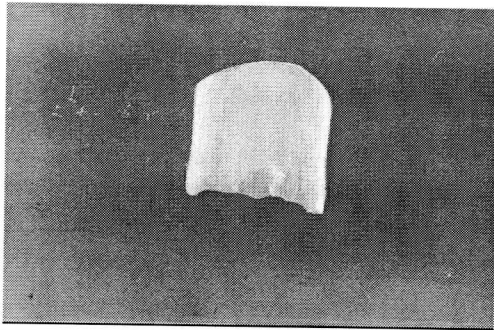


Figura 3.

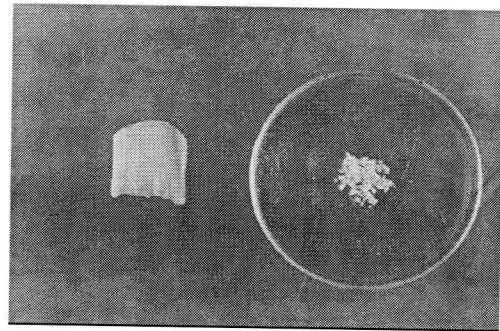


Figura 4.

barco (7) 1 mes Media 25 + 2000 Aranjuez Río Tajo 5-6 meses Media 0.047 + Valencia Domicilio 2 meses Recortes 0.67 + Valencia Domicilio 2 meses Recortes 0.42 + St^a. Cruz Tenerife Zona montañosa 5-7 años Media 0.651 + St^a. Cruz La Palma Bosque 4-5 años Media 1.2 + 2001 Murcia Río Segura 5-6 meses Media 13.8 + Talavera Descampado 2-3 semanas Media 1.89 + Castellón Cuevas de Sagunto 6 años Media 0.16 + Pamplona Domicilio 1 mes Recortes 5.12 + Santander Mar abierto 4-5 meses Media 7.88 + Fuengirola Vehículo 3 meses Recortes 0.1 + Fuengirola Vehículo 3 meses Recortes 0.62 + Fuengirola Vehículo 3 meses Recortes 1.18 + Fuenlabrada Descampado 1 mes Recortes 0.17 + Fuenlabrada Descampado 1 mes Recortes 0.30 + Fuenlabrada Descampado 1 mes Recortes 0.038 + Fuenlabrada Descampado 1 mes Recortes 0.038 +

Fuenlabrada Descampado 1 mes Recortes 0.026 + Fuenlabrada Descampado 1 mes Recortes 0.64 + Madrid Centro Penitenciario 1 mes Recortes 0.17 + Madrid Vehículo 1 Semana Media 2 + Barcelona Garaje Semanas Media 1.7 + 2002 Villarreal Acequia 6 meses Media 0.49 + Barcelona Nave industrial 5 años Media 1.43 + A Coruña Mar abierto 1 mes Media 25 + Alcalá de Guadaíra Domicilio 6 meses Media 1.85 +

ONCLUSIONES:

Los restos de uñas suponen un excelente material para extraer ADN.

La propia naturaleza de estos restos permite una mayor resistencia a las condiciones ambientales que la que presentan los tejidos blandos del cuerpo.

Este ADN se puede extraer por las técnicas habitualmente utilizadas, sin

las exigencias técnicas y materiales de otras metodologías más delicadas.

REFERENCIAS:

Pötsch, L., Penzes, L., Prager-Eberle, M., Rittner, C. (1.991). 'HLA DQa typing of human fingernails'. (*Advances in Forensic Haemogenetics* 4, pp 99-101).

Sambrook, S., Fritsch, E.F., Maniatis, T. (1.989). 'Molecular cloning. A laboratory manual'. 2nd edition. (Cold Spring Harbour Laboratory Press).

Real, P., León, A., Prat, E., García, E., Prieto, L. (2.000). 'Análisis de los resultados en la extracción de ADN y su fenotipado vía PCR en muestras de uñas de casos forenses reales'. (Póster en las V Jornadas de Genética Forense del GEP-ISFG).

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos a todos los compañeros de nuestro laboratorio, y en especial a David Álvarez, por su colaboración en la elaboración de este trabajo.

Identificación de restos cadavéricos: casuística en el periodo comprendido entre 1999 y 2001

Identification of human remains: casework between 1999 and 2001.

Manuel Crespillo, Manuel F Orta, M Paredes, Juan L Valverde.

RESUMEN

En este trabajo se presenta la casuística relacionada con identificación de restos cadavéricos que durante el periodo comprendido entre 1999 y 2001 se llevó a cabo en nuestro laboratorio.

Se recibieron 122 restos cadavéricos para identificar de los cuales se dispuso de muestras de referencia de familiares en el 50 % de los casos. Hemos empleado tanto análisis de ADN nuclear (71 %) como análisis de ADN mitocondrial (20%) para llevar a cabo dichas identificaciones

PALABRAS CLAVE

Restos humanos, identificación, ADN nuclear, ADN mitocondrial

SUMMARY

We present in this paper the forensic identification caseworks that we have analysed in our laboratory during the years 1999 and 2001. We have received 122 human remains. Only we have available reference samples from relatives in the 50 % of cases. We have employed nuclear DNA analysis (71%) and mitochondrial DNA (20%) in order to identify the human remains.

KEY WORDS

Human remains, identification, nuclear DNA, mitochondrial DNA

INTRODUCCIÓN

Los restos cadavéricos son un tipo de muestras biológica que a menudo nos encontramos en los laboratorios forenses. Este tipo de muestra se ve expuesto especialmente a dos variables que son determinantes en el análisis de ADN, la degradación del material genético y la antigüedad. Es por tanto un tipo de muestra que requiere el uso de estrategias sumamente exigentes, y en ocasiones de gran complejidad, para poder obtener resultados satisfactorios. Mostramos en el presente trabajo la casuística, que relacionada con la identificación de restos cadavéricos, se ha llevado a cabo en nuestro laboratorio durante los tres últimos años (1999-2001). Intentamos valorar la evolución de dicha casuística.

MATERIAL Y METODOS:

A lo largo del periodo estudiado se ha solicitado en nuestro laboratorio la identificación de 122 restos cadavéricos, y cuya antigüedad oscilaba entre las tres semanas y seis años. Sólo se remitió muestra de referencia en 66 casos, de manera, que únicamente el 50 % de las identificaciones analizadas se pudo concluir.

Organización del laboratorio

Para evitar los indeseados problemas de contaminación, a menudo frecuentes cuando se trabaja con cantidades mínimas de ADN, el laboratorio y sus protocolos de trabajo pretenden garan-

Correspondencia: Manuel Crespillo.
Instituto Nacional de Toxicología. Dept. Barcelona. Merce, 1. 08002 BARCELONA
manuel.crespillo@mju.es

tizar al mínimo el riesgo de contaminación. Para ello se dispone de un área pre-PCR restringida y estrictamente dedicada a la extracción de muestras con cantidades límite de ADN o altamente degradado (huesos, pelos). Dicha zona, así como el material que en ella se emplean, está físicamente separada de áreas donde se extraen otros tipos de muestras y por supuesto del área post-PCR. Las extracciones se realizan en una campana de flujo laminar y el uso de blancos y controles negativos son empleados en los procesos de extracción y amplificación.

Muestras:

1-Dubitadas:

Se recibieron 239 muestras dubitadas, de las cuales fueron analizadas 118, es decir el 49 % de las mismas, y la muestra mayoritariamente analizada fue el hueso.

2-Indubitadas:

Se recibieron 104 muestras indubitadas (procedentes de familiares) con el fin de llevar a cabo la identificación, y tan sólo se requirió el análisis de 86 de ellas. La muestra mayoritaria de elección fue la sangre, siempre y cuando se dispuso de ella.

Extracción y cuantificación

La extracción orgánica [1] fue el método de elección para obtener el material genético a partir de las muestras, tanto dubitadas como indubitadas. En el caso de los huesos el proceso de extracción se llevó a cabo evitando el paso de descalcificación, siguiendo el protocolo descrito por de Gill y cols [2].

La cantidad y la calidad del material genético extraído se valoró utilizando el kit de cuantificación (Quantiblot â, Applied Biosystems) y minigeles de agarosa.

El proceso de extracción así como el de amplificación se llevó a cabo siguiendo normas estrictas para evitar y en su caso detectar la eventual contaminación de los extractos de ADN.

Amplificación y Tipaje

Los marcadores del sistema CODIS, mediante el uso de los kits comerciales Profiler Plus y Cofilerâ (Applied Biosystems) así como los marcadores FES/FPS y F13A01 (FFv âKit Promega Corporation), fueron los empleados para el tipaje de las muestras que se resolvieron mediante análisis de ADN nuclear.

En las muestras que se precisó el análisis de ADN mitocondrial fueron secuenciadas las regiones HVRI y HVRII, según el protocolo descrito por Wilson y cols [3].

El análisis de secuenciación así como la detección de fragmento se realizó en un ABI PRISM 310 (Applied Biosystems).

RESULTADOS y DISCUSION

Durante estos tres últimos años se solicitó a este laboratorio la identificación de 122 restos cadavéricos, 36 en 1999, 36 en 2000 y 50 en el año 2001. Sólo se remitió muestra de referencia en 66 casos, de manera que únicamente el 50 % de las identificaciones analizadas se pudo concluir.

El análisis de ADN nuclear, mediante el empleo de los 13 marcadores del sistema CODIS más los marcadores FES/FPS y F13A01, fue la herramienta que se utilizó en 47 del total de asuntos resueltos (71%), en 13 (20 %) del total se recurrió al análisis de ADN mitocondrial y tan sólo en 6 (9%) casos se tuvo que emplear ambos sistemas de identificación (Tabla 2).

De los 13 casos en los que se tuvo que recurrir al empleo del análisis de ADN mitocondrial, en 9 de ellos (70%)

muestras de referencia empleadas fueron muestras indubitadas de alguno de los progenitores, dispusimos de muestras de ambos progenitores en 10 de los casos (21%) y en los 11 restantes (24%) se empleó muestras de referencia procedentes de descendientes (Tabla 1).

El 94 % de los casos de restos cadavéricos que sometimos a análisis era compatible y confirmó la identidad del cadáver que se intuía que podía ser. Únicamente en un 6 % de los casos no era compatible con la identidad que se suponía "a priori" (Tabla 3).

La mayor parte de restos cadavéricos identificados fueron hallados a la intemperie bajo diferentes condiciones de exposición (56 %). El siguiente grupo, en frecuencia, lo constituían los restos procedentes individuos carbonizados, fundamentalmente como resultado de accidentes de tráfico.

Para concluir indicar que todos los restos cadavéricos para los que se dispuso muestra de referencia pudieron ser identificados, utilizando alguna de las diferentes herramientas que la genética forense nos brinda (ADN nuclear, ADN mitocondrial).

TABLA 1

Muestras de referencia empleadas procedentes de...	1999	2000	2001	Total
Ambos progenitores	7	1	2	10 (15%)
Un solo progenitor	1	12	13	26 (40%)
Descendiente/s	5	5	4	14 (21%)
Hermano/a	2	9	5	16 (24%)

TABLA 2

Resueltos exclusivamente mediante análisis de...	1999	2000	2001	Total
ADN nuclear	14	16	17	47 (71%)
ADN mitocondrial	2	5	6	13 (20%)
Resueltos mediante análisis combinado de...				
ADN nuclear y ADN mitocondrial	0	4	2	6 (9%)

TABLA 2

Resultado de la identificación	1999	2000	2001	Total
Inclusión -compatible-	16	24	22	62 (94%)
Exclusión -no compatible-	0	1	3	4 (6%)

fue preciso ya que las muestras de referencia de las que se disponía (personas presuntamente emparentadas por vía materna) sólo posibilitaban el mencionado análisis. En los 4 restantes la calidad de la muestra dubitada no permitió el análisis de marcadores nucleares.

En 26 de los 47 casos (55%) resueltos mediante análisis de ADN nuclear Las

Según nuestra opinión y experiencia, a la vista de nuestra casuística, y corroborando estudios previos al respecto, creemos que quizás más importante aún que la antigüedad de la propia muestra, lo que condiciona realmente un éxito en la obtención de material genético con ciertas garantías para el análisis de la muestra, va a ser las con-

diciones medioambientales a la que han estado expuestas las mismas. La existencia, en nuestro laboratorio, del 50 % de los casos de identificación archivados y pendientes de muestras de referencia, nos hace pensar en la urgente y necesaria coordinación con otras bases de datos de desaparecidos, pensamos

que se favorecería de esta manera el objetivo último, que no es otro sino el de esclarecer la identidad de personas que mientras estén en archivos no dejan de ser anónimas.

REFERENCIAS

[1] Sambrook J y cols. (1989) Molecular cloning: A laboratory manual. 2ª

Edn. Cold Spring Harbour Laboratory Press.

[2] Gill P y cols (1994) Nature Genet 6:130-135

[3] Wilson M R y cols. (1995) Validation of mitochondrial DNA sequencing for forensic casework analysis. Int J Legal Med. 108: 68-74.

STRs del cromosoma Y en tres poblaciones diferentes del estado Zulia – Venezuela.

Y STRs in three different populations on Zulia state - Venezuela.

Borjas-Fajardo L, Pineda Bernal L, Sánchez MA, Fernández E, Zabala W, Castillo C, Zocca L, Chin M y Escalona K.

RESUMEN

Presentamos los primeros datos de secuencias STRs del cromosoma Y en tres poblaciones diferentes de Zulia, Venezuela. Haplotipos basados en el análisis de cuatro Y-STRs: DYS19, DYS390, DYS391 y DYS393 se construyeron en una muestra de 160 hombres no relacionados genéticamente. Se observó diferencias en las frecuencias de haplotipos específicos, en particular entre Maracaibo e Isla de Toas sobre Wayúu. En éstos, los haplotipos más frecuentes incluían alelos marcadores de poblaciones amerindias mientras que en poblaciones de Maracaibo e Isla de Toas incluían alelos de poblaciones europeas.

PALABRAS CLAVE

Palabras Claves: Y-STRs, Haplotipo Y, Poblaciones.

SUMMARY

The Y-STRs sequences data are presented in three different Zulia populations from Venezuela. Haplotypes based on the four Y-STRs: DYS19, DYS390, DYS391 and DYS393 were constructed in a sample of 160 men nonrelated genetically. It was observed differences in the frequencies of specific haplotypes, in Maracaibo samples and Toas Island on Wayúu. In the last one, the most frequent haplotypes had allelic marker from amerindian populations, while Maracaibo and Toas Island had allelic marker from european populations.

KEY WORDS

Key Words: Y-STRs, Y Haplotype, Populations.

INTRODUCCIÓN

Según documentación histórica, los primeros habitantes del espacio actual del Estado Zulia, entidad localizada en la región norte-occidental de Venezuela, constituyeron en buena parte una condición indígena liderizada por poblaciones de Arawacos, Caribes y una rama de los Chibchas. A la llegada y desarrollo de la dominación europea a partir de finales del siglo XV, se afirma que predominantemente se consiguieron indígenas Arawacos.

Actualmente, el Estado Zulia conserva diversas poblaciones con características marcadas étnica y culturalmente diferentes, reflejo de un proceso de mestizaje diferencial ocurrido entre la población indígena e inmigrantes en época de la colonia y posterior a ella, por lo que resulta relevante conocer y esclarecer con objetividad la estructura genética de las mismas. Dado que el empleo y análisis de múltiples loci STRs del genoma ha hecho posible los estudios poblacionales con aplicaciones inmediatas tanto en la resolución de casos de parentesco biológico y criminalística como de estudios de antropología molecular, reportamos en este trabajo algunos los primeros resultados de un programa nacional referente al conocimiento de la estructura genética venezolana conformado por varios proyectos, entre los cuales se encuentra el del análisis de secuencias STRs del cromosoma Y.

MATERIAL Y METODO

Preliminarmente, se ha iniciado con tres poblaciones distintas, Maracaibo, de la región capital del estado, Wayúu de la región de la Alta Guajira al norte del estado y población de la Isla de Toas ubicada al noreste del estado en la intersección del Golfo de Venezuela y el Lago de Maracaibo. Cuatro Y-STRs se consideraron: **DYS19**, **DYS390**, **DYS391** y **DYS393** en un total de 160 hombres no relacionados genéticamente, 100 de Maracaibo, 30 de Wayúu y 30 de la Isla de Toas. Las muestras de ADN se extrajeron por métodos convencionales y los Y-STRs se obtuvieron individualmente a través de la PCR y la caracterización molecular con electroforesis en geles de poliacrilamida 10 % y posterior tinción argéntica según técnica de Santos y cols. Los alelos se asignaron de acuerdo a las escaleras loci-específicas respectivas. Los haplotipos resultantes se procesaron empleando el programa Arlequín, versión 2.000. Las frecuencias alélicas de cada sistema fueron comparadas con las promediadas reportadas

TABLA I. FRECUENCIAS ALÉLICAS Y DIVERSIDAD GÉNICA PARA **DYS19 Y **DYS390**.**

Alelos	DYS19			DYS390			
	Maracaibo	Wayúu	I de Toas	Alelos	Maracaibo	Wayúu	I de Toas
<13	0.0004	0	0	21	0.032	0	0.138
13	0.159	0.450	0.172	22	0.1129	0	0.207
14	0.521	0.400	0.483	23	0.306	0.400	0.241
15	0.248	0.150	0.206	24	0.4677	0.600	0.379
16	0.037	0	0.007	25	0.064	0	0.034
17	0.028	0	0.007	26	0	0	0
D	0.64	0.62	0.68		0.67	0.48	0.74

TABLA II. FRECUENCIAS ALÉLICAS Y DIVERSIDAD GÉNICA PARA **DYS91 Y **DYS393**.**

Alelos	DYS91			DYS393			
	Maracaibo	Wayúu	I de Toas	Alelos	Maracaibo	Wayúu	I de Toas
9	0.037	0	0.068	12	0.210	0.05	0.172
10	0.547	0.65	0.586	13	0.561	0.60	0.655
11	0.415	0.35	0.345	14	0.192	0.30	0.069
12	0	0	0	15	0.017	0.05	0.103
D	0.53	0.46	0.53		0.60	0.55	0.53

en la literatura para europeos, asiáticos, africanos y amerindios.

DISCUSION

Las frecuencias alélicas y Diversidad Génica (D) de los 4 Y-STRs se muestran en la tabla I y II. Considerando los sistemas individuales, se observó niveles mayores de D en poblaciones de Isla de

Toas y Maracaibo, sobre la población Wayúu, excepto para el locus **DYS393** y el locus **DYS390**. Los valores de *Fst* mostraron diferencias significativas sólo entre Maracaibo y Wayúu. En éstos últimos, los haplotipos más frecuentes incluyeron alelos marcadores de poblaciones amerindias mientras que en Maracaibo e Isla de Toas incluían alelos

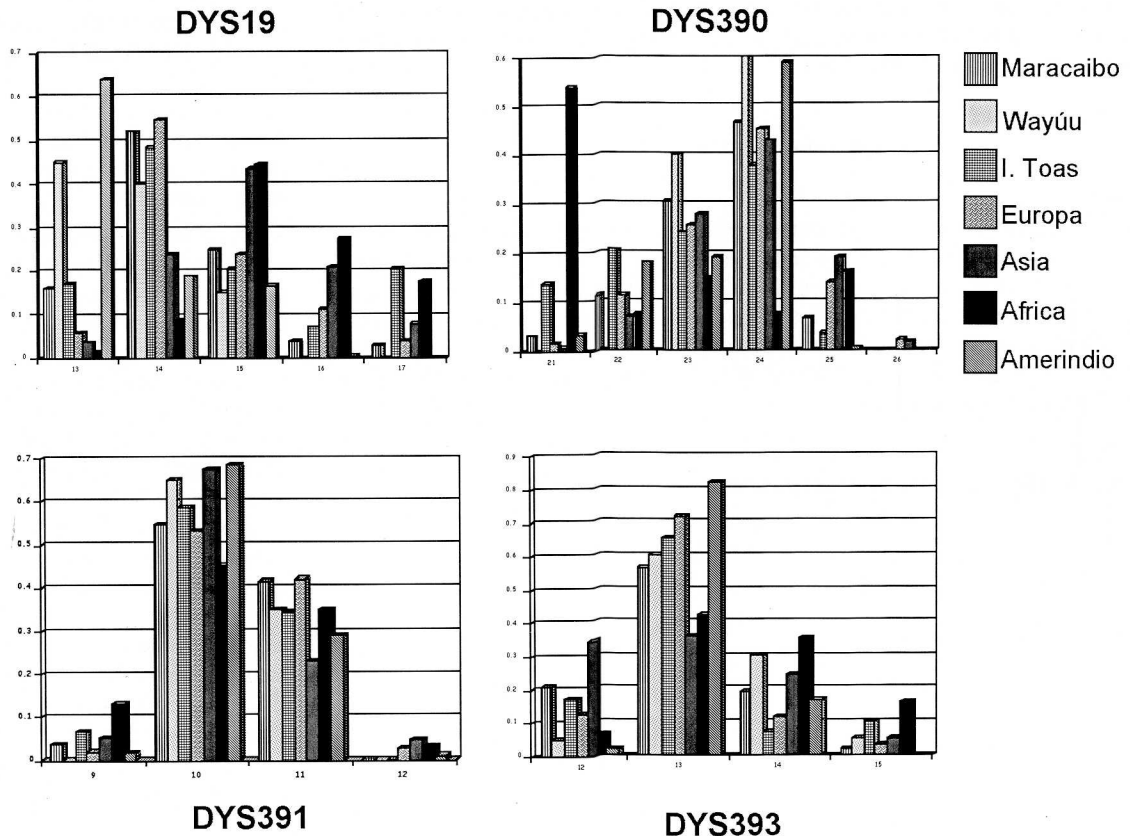


Figura 1. Frecuencias alélicas de los 4 Y-STRs de las tres poblaciones del Zulia, Venezuela comparadas con las frecuencias promediadas de Europa, Asia, Africa y Amerindios

TABLA III. FRECUENCIA HAPLOTÍPICA EN LAS TRES POBLACIONES DEL ZULIA,

Haplotipo	Maracaibo	Wayúu	Isla de Toas
14-24-11-13*	0.176	0.05	0.20
14-24-10-13*	0.082	0.10	0.06
13-24-10-13*	0.035	0.10	0.06
14-22-10-12	0.01	0	0.10
13-23-11-14	0	0.15	0
15-24-10-13	0.01	0.15	0

* Haplotipos compartidos entre las tres poblaciones.

encontrados mayoritariamente en Europa (Ver figura 1). La diversidad haplotípica interpoblacional mostró comportamiento similar entre ellas. La población de Maracaibo resultó con valores de diversidad haplotípica de 0.955 y para la población Wayúu y de Isla de Toas a pesar de impresionar como poblaciones aisladas, mostraron valores de: 0.947 y 0.954 respectivamente.

Se observaron 42 haplotipos diferentes en la muestra de Maracaibo, de los cuales 28 fueron exclusivos de esta población, 12 haplotipos diferentes en la muestra Wayúu con 3 exclusivos y 31 haplotipos diferentes en la muestra de Isla de Toas con 9 exclusivos. Los úni-

cos 3 haplotipos compartidos entre las 3 poblaciones y sus respectivas frecuencias se indican en la tabla II. Se muestra además, los dos haplotipos más frecuentes sólo en Wayúu.

El haplotipo más frecuentemente hallado en la muestra de Maracaibo (17,6 %) es también más frecuente en Isla de Toas (20 %) y aparece con 5 % en población Wayúu. Los dos haplotipos más frecuentes en Wayúu (15 % c/u) están ausentes en Isla de Toas y uno de ellos sólo se presenta una vez en Maracaibo (1 %). Los haplotipos exclusivos de cada población mostraron niveles bajos de frecuencia excepto en población Wayúu,

donde el haplotipo 13-23-11-14 muestra la más alta frecuencia (15 %).

Estos resultados preliminares apoyan un reporte previo de una contribución mayoritariamente europea sobre la población de Maracaibo y de Isla de Toas a través de un locus autosómico. Es recomendable ampliar el número de Y-STRs e incluir algunos marcadores de tipo SNP, afín de profundizar el estudio.

REFERENCIAS

- Arlequin 2.000. [Http://anthro.unige.ch/arlequin](http://anthro.unige.ch/arlequin)
- Fuenmayor W. Atlas del Estado Zulia. Síntesis Socio Histórico y Cultural. 2001. Cuarta Edición
- Hammer M. 1997. 145:787-805
- Kayser M y cols. Int J Legal Med 1997. 110:125-133.
- Kayser y cols. Am J Hum Genet 2001. 68:990-1018.
- Knijff P de y cols. Int J Legal Med. 1997. 110:134-140.
- Pineda L y cols. American Journal of Human Biology. 12(5):616-622 2.000
- Santos FR y cols. Hum Genet 90:655-656

Cuantificación de genomas humanos mediante PCR en tiempo real y sondas Taqman: aplicaciones en genética forense y ADN antiguo.

Quantification of human genomes by real time PCR and Taqman probes: applications to forensic and ancient DNA studies

Antonio Alonso¹, Pablo Martín¹, Cristina Albarrán¹, Oscar García², Manuel Sancho¹, Jose Fernández Piqueras³

1. Instituto de Toxicología. Sección de Biología. Madrid;

2. Area de Laboratorio Ertzaintza. Bilbao

3. Universidad Autonoma de Madrid. Laboratorio de Genética Molecular Humana. Cantoblanco. Madrid.

RESUMEN

La Cuantificación de ADN humano se ha convertido en un análisis indispensable en los laboratorios de genética forense, en especial para evitar (o al menos advertir) la posible presencia de determinados artefactos de amplificación (perdida alélica al azar en sistemas nucleares autosómicos, incorporaciones de nucleótidos erróneas,...) que se producen cuando el número de moléculas con las que se inicia la PCR es muy bajo (Navidi et al. 1992, Handt et al. 1996). Esta es una situación (referida en inglés como LCN: *Low Copy Number*) (Gill 2001) a la que nos enfrentamos de manera muy frecuente tanto en el análisis de marcadores de ADN nuclear en ciertos casos forenses (mezclas desbalanceadas de fluidos, pelos telegénicos, restos óseos, objetos tocados,...) como en el análisis del ADN mitocondrial a partir de restos arqueológicos y paleontológicos (Hofreiter et al. 2001). En este trabajo se exploran distintos diseños de cuantificación de ADN mitocondrial y ADN nuclear humanos basados en la detección de la actividad 5' exonucleasa de la Taq polimerasa utilizando sondas TaqMan MGB en un sistema ABI PRISM 7900HT de Real-Time PCR.

PALABRAS CLAVE

PCR en tiempo real, ADN mitocondrial, ADN nuclear, Sondas Taqman, Genética Forense, ADN antiguo

ABSTARCT

Human DNA quantification has become an essential analysis in the forensic genetics laboratories, specially to avoid (or at least to notice) the possible presence of some artifactual PCR results (random allele dropout for nuclear autosomal markers or nucleotides missincorporation...) that appeared when the number of DNA copies acting as template of a PCR reaction is very low (Navidi et al. 1992, Handt et al. 1996).. This situation (LCN: *Low Copy Number*) (Gill 2001) is very frequent both in the analysis of nuclear DNA markers from forensic samples (imbalanced mixtures of biological fluids, telogenic hairs, bone remains...) as well as in the analysis of mitochondrial DNA (mtDNA) from archeological and paleontological remains (Hofreiter et al. 2001). . In this study we explore different designs for the quantification of both mitochondrial and nuclear human DNA based on the detection of the 5' nuclease activity of the Taq polymerase using TaqMan probes and an ABI Prism 7900HT real-time PCR machine.

KEY WORDS

Real-time PCR, Mitochondrial DNA, Nuclear DNA, Taqman probes, Forensic Genetics, Ancient DNA

Correspondencia: Antonio Alonso.
Instituto de Toxicología. Sección de Biología. Luis Cabrera 9. 28002 Madrid. Spain
Correo electrónico: a.alonso@mju.es

ADN MITOCONDRIAL: NUMERO DE MOLÉCULAS Y ESTADO DE DEGRADACION

La cuantificación de ADN mitocondrial se basa en la amplificación de fragmentos de diverso tamaño (100-400 pb) dentro de la región HV1 utilizando sondas taqman específicas que permiten determinar no solamente la cantidad de moléculas del ADN mitocondrial en la muestra sino también el estado de degradación del ADN. En la Fig1A-B se presentan dos de los diseños ensayados consistentes en la amplificación de un fragmento de 113 bp (A1A1R) detectado con una sonda marcada con VIC y de un fragmento de 287 pb (2F4R) que es detectado por una sonda marcada con FAM. El sistema ha sido aplicado a la cuantificación de ADN a partir de restos óseos antiguos (1000-4000 años) en los que se ha comprobado un alto estado de degradación y a partir de ciertos tallos de pelos (Fig1 G-J)

ADN NUCLEAR: CUANTIFICACION DE FRAGMENTOS ESPECIFICOS DE LOS CROMOSOMAS SEXUALES

El sistema utilizado para la cuantificación de ADN nuclear ha sido la amplificación del fragmento del gen de la Amelo-

genina que es utilizado por la inmensa mayoría de los laboratorios de genética forense (AMG 106-112 pb) y la detección mediante dos sondas taqman del fragmento específico del cromosoma X (sonda marcada con FAM) y del fragmento específico del cromosoma Y (sonda marcada con VIC) de forma simultánea (Fig2 A). El sistema (a pesar de estar basado en la detección de un fragmento de copia única) permite cuantificar con muy alta sensibilidad la cantidad total de ADN nuclear y realizar simultáneamente el diagnóstico de sexo. El sistema ha sido aplicado con éxito a extractos de ADN obtenidos de restos óseos que habían resultado negativos en ensayos convencionales de cuantificación de ADN humano por hibridación son sondas alfa-satélites (Fig2. D-E)

PERSPECTIVAS FUTURAS

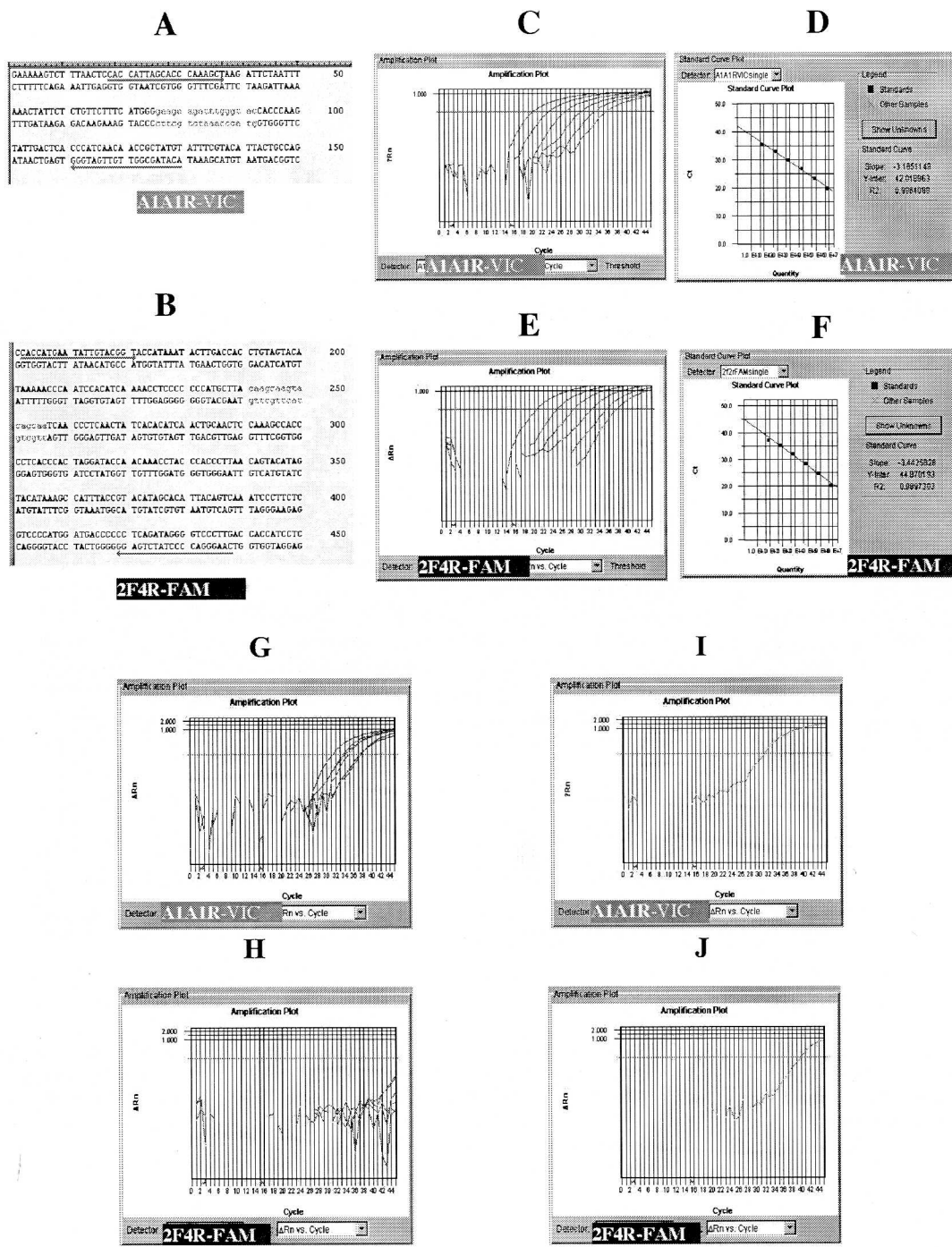
Los resultados preliminares obtenidos en este estudio permiten realizar una valoración muy positiva con respecto a la utilidad de la RT-PCR en la cuantificación de ADN obtenido de muestras forenses y restos antiguos, ofreciendo una serie de ventajas con respecto a los métodos de hibridación (mayor sensibilidad, posibilidad de análisis simultáneo de distintos genomas, automatización,...). Sin embar-

go es necesario llevar a cabo un amplio estudio de validación (precisión, sensibilidad, especificidad,...) para evaluar de forma más precisa las aplicaciones potenciales de esta tecnología.

REFERENCIAS

- Gill, P. (2001) Application of low copy number DNA profiling. *Croat Med J*, 42, 229-232
- Handt, O., Krings, M., Ward, R. H. and Pääbo, S. (1996) The retrieval of ancient human DNA sequences. *Am. J. Hum. Genet.*, 59, 368-376
- Hofreiter, M., Serre, D., Poinar, HN., Kuch, M. and Pääbo S. (2001) Ancient DNA. *Nature Reviews*, 2, 353-359
- Navidi, W., Arnheim, N. and Waterman, MS. (1992) A multiple-tubes approach for accurate genotyping of very small DNA samples by using PCR: statistical considerations. *Am. J. Hum. Genet.*, 50, 347-359

Figura 1.



(A) Primers (A1A1R) y sonda (marcada con VIC) utilizados para la amplificación y detección de un fragmento de 113 bp de la región HV1. (B) Primers (2F4R) y sonda (marcada con FAM) utilizados para la amplificación y detección de un fragmento de 287 bp de la región HV1. (C) Grafica de amplificación de diluciones seriadas de un estándar (diseño A1A1R). (D) Curva de estándares: Ciclo umbral frente a cantidad de ADN templado (diseño A1A1R). (E) Grafica de amplificación de diluciones seriadas de un estándar (diseño 2F4R). (F) Curva de estándares (diseño 2F4R). (G) Amplificación del fragmento A1A1R a partir de diversos Extractos de ADN de restos óseos antiguos (1000-4000 años). (H) Amplificación del fragmento 2F4R a partir de las mismas muestras mostradas en G. (I) Amplificación del fragmento A1A1R a partir de un extracto obtenido de un tallo de un pelo. (J) Amplificación del fragmento 2F4R a partir de la misma muestra mostrada en I.

Inclusión de paternidad con 14 STR en provincia de Buenos Aires, Argentina.

Paternity inclusions with 14 STRs in Buenos Aires province.

Bozzo W.R., Pena M.A., Ortíz M.I., Monzani M., Lojo M.M.

*Servicio de Análisis Comparativo de ADN, Asesoría Pericial La Plata,
Dirección General de Asesorías Periciales,
Suprema Corte de Justicia de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.*

RESUMEN

Se realizaron 546 estudios de filiación por electroforesis capilar utilizando los kits PowerPlex e Identifiler, con un promedio de 14 marcadores STR analizados. El 75,5% de los casos fueron inclusiones, el 18,9% fueron exclusiones y el 1,6% resultó no informativo. El 4% restante correspondió a impugnaciones y reconocimiento de paternidad (dos padres alegados).

Sobre 211 inclusiones (madre, hijo, padre alegado) el 95,3% resultó con índice de paternidad superiores a 10^4 . En 40 inclusiones hijo/padre o madre alegados el 80% de los índices estimados resultó mayor de 10^4 .

En 9 casos se consideró la presencia de una mutación en el hijo.

PALABRAS CLAVE

Índice de paternidad, filiación, STR, inclusión.

ABSTRACT

Over 546 paternity tests were analyzed by capillary electrophoresis and using the kits PowerPlex 16 or Identifiler, the average number of STR reported was 14. The 75.5% of the cases were inclusions, the 18.9% were exclusions and the 1.6% resulted not informative. The rest (4%) were paternity testing with two possible fathers. Over 211 inclusions (father/ mother/ child) 95,3% showed paternity index over 10^4 . In 40 cases with child/father or child/mother allegedated, the 80% of de paternity index were over 10^4 .

The chance of a mutation in the child were considered in 9 cases.

KEY WORDS

Paternity index, STR, inclusion, paternity testing

INTRODUCCIÓN

Los STR constituyen en la actualidad una herramienta imprescindible en el análisis genético de vestigios biológicos de interés forense y en la investigación biológica de la paternidad. Su análisis se ha facilitado enormemente gracias al desarrollo de sistemas multiplex-PCR y equipos semiautomáticos para el análisis de los productos de amplificación (1).

En este trabajo se realiza un análisis de los casos de inclusión de paternidad que se detectaron en nuestro laboratorio durante el año 2001 mediante el uso de kits comerciales con 15 marcadores STR.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron un total de 546 pericias provenientes de los 18 departamentos judiciales en los que se encuentra organizado el Poder Judicial Provincial.

Se utilizó sangre periférica extraída por digitopuntura colocada sobre tarjetas FTA Classic Cards. La extracción de ADN se realizó a partir de un punch de cada muestra siguiendo las instrucciones del fabricante (FTA Purification Reagent y buffer TE) (2).

El ADN fue amplificado con AmpFISTR[®] Identifiler PCR Amplification Kit (Applied Biosystems) o con GenePrint[®] PowerPlex[™] 16 System (Promega). En ambos casos se siguieron los protocolos sugeridos por los fabricantes (3)(4).

El análisis de los amplificados se realizó mediante electroforesis capilar utili-

Correspondencia: Mercedes Lojo
Servicio de Análisis de ADN. Asesoría Pericial La Plata
Calle 41 y 119, La Plata, CP 1900, Argentina, FAX 54-221-4229105
Correo electrónico: mercedeslojo@hotmail.com

zando un equipo ABI Prism™ 310 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) aplicando luego los softwares GeneScan Analysis y Genotyper (5).

El índice y probabilidad de paternidad (IP y W respectivamente) fue calculado para cada pericia siguiendo lo estipulado por Evett y Weir (6). Se utilizaron tablas de frecuencias alélicas para población caucásica provistas por Applied Biosystems (3), excepto para los marcadores PENTA D y PENTA E que fueron suministradas por Promega.

DISCUSION

Se analizaron 546 estudios de filiación de los cuales el 82 % fue tipificado mediante el kit PowerPlex 16 y el resto con Identifiler.

En el total de las pericias estudiadas se registraron: a) 412 inclusiones (75,5%), b) 103 exclusiones (18,9 %), c) 9 casos resultaron no informativos (1,6%) tratándose ellos de paternidades complejas, y d) en 22 pericias (4%) había un padre legal y un padre alegado determinándose una inclusión/exclusión. Estos últimos casos no fueron incluidos en el análisis. I Zupanic Pajnic y cols. (7) estudiando 181 casos de paternidad en disputa (madre, hijo, padre alegado) utilizando 14 loci STR detectaron 152 inclusiones (83,9%). Estos resultados son similares al 80,0% encontrado en nuestra población sin tener en consideración los casos c) y d).

De los 412 casos de inclusión detectados se analizó en forma detallada una muestra tomada al azar de 262 informes. El número promedio de marcadores informados por pericia fue de 14.

Sobre un total de 211 inclusiones madre/ hijo/ padre alegado en el 95,3% de los casos se estimaron IP superiores a 10^5 y en el 76,8% fueron mayores a 10^6 . Sólo en 10 pericias los valores de IP fueron inferiores a 10^5 , dos de las cuales presentaron una mutación en meiosis paterna. Estos resultados están de acuerdo con los de I Zupanic Pajnic y cols. (7) que obtuvieron valores de IP mayores de 10^5 en el 91% de los casos y mayores de 10^6 en el 72 % de los mismos. Los valores de IP variaron de 89 (caso con una mutación) a $9,2 \times 10^{14}$, con la distribución de frecuencias relativas para cada rango que se muestra en el figura N° 1.

En las 40 inclusiones hijo/ padre o madre alegado, el 80% de los índices estimados resultó mayor de 10^5 , con un rango que varió de 259 a 5×10^7 , siendo los IP menores que los encontrados en los casos madre/ hijo/ padre alegado ya que la ausencia de alguno de los progenitores crea indeterminaciones que influyen negativamente en la ponderación de los resultados.

En los 11 casos de filiación post-mortem analizados con abuelos alegados, los índices resultaron superiores a 10^5 .

Sobre el total de las pericias informadas durante el año 2001 (546 estudios), en 8 casos se detectó una incompatibilidad en un solo locus que fue interpretada como una mutación. 7 de ellas fueron de origen paterno y 1 una materna, dicha relación está de acuerdo con lo descrito en la literatura (8). En 6 de los casos hubo un aumento en una unidad de repetición, en 1 caso hubo una disminución en un repeat y en 1 una disminución en dos repeats. Dos mutaciones

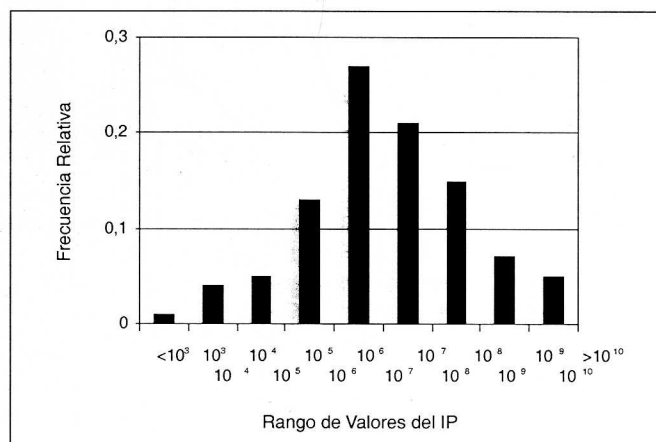
fueron detectadas en D13S317 y D8S1179; mientras que en vWA, D21S11, D7S820 y D16S539 sólo una.

Concluimos que con la incorporación de la técnica de electroforesis capilar y el uso de kits para el análisis de 16 marcadores STRs se ha logrado mejorar sensiblemente la confiabilidad de los resultados para las inclusiones, lo que se pone de manifiesto por los valores estimados para los IP, aún en algunos casos complejos, como así también la detección e interpretación de mutaciones.

REFERENCIAS

1. A. Alonso Alonso. Regiones microsatélites del genoma humano (Short Tandem Repeats). Aplicaciones en genética forense. En: Ma. Begoña Martínez Jarreta. La prueba del ADN en medicina forense. 1999, Masson S.A.
2. Catálogo Whatman BioScience
3. Applied Biosystems. AmpFISTR® Identifiler PCR Amplification Kit. User's Manual, 2001, Applied Biosystems.
4. GenePrint® PowerPlex™16 System. Technical Manual, 2000, Promega Corporation
5. PE Applied Biosystems. ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer, User's Manual, 1998, Perkin Elmer Corporation.
6. Evett, I; Weir, B. Interpreting DNA Evidence. Statistical Genetics for Forensic Scientists. 1998, Sinauer Associates Inc.
7. Zupanic Pajnic I, Sterlinko H, Balazic J, Komel R. Paretage testing with 14 STR loci and population data for 5 STRs in the Slovenian population. Int J Legal Med, 2001, 114,3,178-180.
8. Brinkmann B, Klitschar M, Neuhuber F, Hühne J, Rolf B. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and the length of the tandem repeat. 1998, Am J Hum Genet 62:1408-1415.

Figura 1.



Distribución de la frecuencia relativa de los casos de inclusión de paternidad con relación a los valores de los IP asociados (n=211)

Exclusión de paternidad con 14 STR en provincia de Buenos Aires, Argentina.

Paternity eclusions with 14 STRs in Buenos Aires province

Bozzo W.R., Pena M.A., Ortíz M.I., Monzani M, Lojo M.M.

Servicio de Análisis Comparativo de ADN, Asesoría Pericial La Plata, Dirección General de Asesorías Periciales, Suprema Corte de Justicia de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

Sobre un total de 546 estudios de filiación analizados por electroforesis capilar utilizando los kits PowerPlex 16 o Identifiler, se registraron exclusiones en 103 casos (18,9%). De estos, se analizaron en forma detallada 69 informes. El número promedio de marcadores que excluyeron el vínculo fue de 8. En el 50% de los casos se detectaron de 6 a 8 exclusiones. En un único análisis el número de exclusiones fue de 3. El marcador que puso en evidencia el mayor número de incompatibilidades fue el FGA y el locus que resultó menos informativo el TPOX.

PALABRAS CLAVE

paternidad, STR, exclusión, filiación

ABSTRACT

546 paternity tests were analyzed by capillary electrophoresis using the kits PowerPlex 16 or Identifiler. 103 exclusion cases were found (18,9%) and a sample of 69 cases was studied in detail. The average number of STR that excluded was 8. 6 to 8 exclusions were detected in 50% of the cases and only in one case the exclusionary number was 3. The STR that showed the highest number of mismatches was FGA and the less informative loci was TPOX.

KEY WORDS

Paternity testing, STR, exclusion

INTRODUCCIÓN

Los STRs constituyen en la actualidad una herramienta imprescindible en el análisis genético de vestigios biológicos de interés forense y en la investigación biológica de la paternidad. Su análisis se ha facilitado enormemente gracias al desarrollo de sistemas multiplex-PCR y equipos semiautomáticos para el análisis de los productos de amplificación (1).

En este trabajo se realiza un análisis de los casos de exclusión de paternidad que se detectaron en nuestro laboratorio durante el año 2001 mediante el uso de kits comerciales con 15 marcadores STRs.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron un total de 546 pericias provenientes de los 18 departamentos judiciales en los que se encuentra organizado el Poder Judicial Provincial.

Se utilizó sangre periférica extraída por digitopuntura colocada sobre tarjetas FTA Cards. La extracción de ADN se realizó a partir de un punch de cada muestra siguiendo las instrucciones del fabricante (FTA Purification Reagent y buffer TE) (2).

El ADN fue amplificado con AmpFISTR® Identifiler PCR Amplification Kit (Applied Biosystems) o con GenePrint® PowerPlex™ 16 System (Promega). En ambos casos se siguieron los protocolos sugeridos por los fabricantes (3)(4).

Correspondencia: Mercedes Lojo
Servicio de Análisis ADN. Asesoría Pericial La Plata
41 y 119, La Plata CP. 1900, Argentina FAX 54-221-422 9105
Correo electrónico: mercedeslojo@hotmail.com

El análisis de los amplificadores se realizó mediante electroforesis capilar utilizando un equipo ABI Prism™ 310 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) aplicando luego los softwares GeneScan Analysis y Genotyper (5).

Se siguieron las recomendaciones del GEP-ISFG respecto del número de incompatibilidades genéticas necesarias para determinar los casos de exclusión (6).

DISCUSION

Se analizaron 546 estudios de filiación de los cuales el 82 % fue tipificado mediante el kit PowerPlex 16 y el resto con Identifiler, con un promedio de 14 marcadores informados por pericia.

Del total de las pericias estudiadas se registraron 103 exclusiones (18.9 %), 20 de las cuales estaban caratuladas como impugnación de paternidad y fueron provenientes en su mayoría de juzgados civiles y comerciales. De esta forma, el porcentaje de exclusiones estimado para los reclamos de paternidad dubitada resultó ser 16 %. Estos resultados son similares a los recientemente descritos por I Zupanic Pajnic (7).

De los 103 casos de exclusión detectados se analizó en forma detallada una muestra tomada al azar de 69 informes. En esta muestra el número promedio de marcadores que excluyen el vínculo fue de 8.

En 3 pericias se pusieron en evidencia más de 11 exclusiones, en 20 estudios se detectaron de 9 a 11 exclusiones, en 34 de 6 a 8 exclusiones (50% de los estudios). 11 casos presentaron entre 4 y 5 incompatibilidades, mientras que en un único análisis el número de exclusiones fue de 3, lo cual podría tratarse del caso de que el padre biológico fuera un individuo relacionado al padre alegado (8). (Ver figura N°1).

El marcador que puso en evidencia el mayor número de exclusiones fue el FGA, seguido por el D18S51, D13S317, D2S1338, D5S818 y D16S539. El locus que resultó menos informativo fue el TPOX. Estos datos guardan relación con lo que se espera teniendo en cuenta el poder de exclusión estimado para cada marcador (3). Ver gráfico N°2.

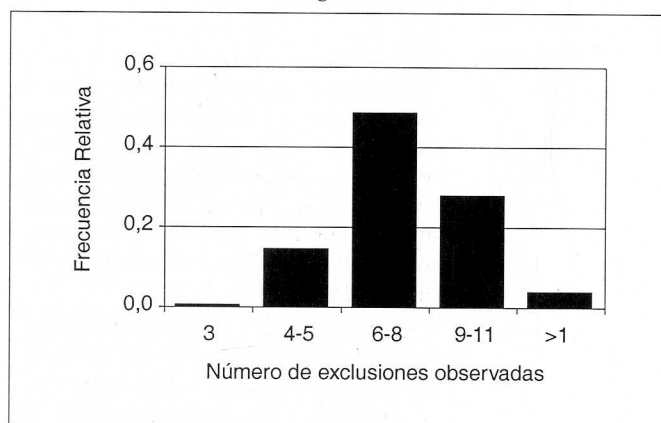
Concluimos que con la incorporación de la técnica de electroforesis capilar y el uso de kits para el análisis de 16 marcadores STRs se ha logrado mejorar

sensiblemente la confiabilidad de los resultados para las exclusiones, sobre todo si se tiene en cuenta que el número mínimo de exclusiones fue de 3 y se registró en un único caso.

REFERENCIAS

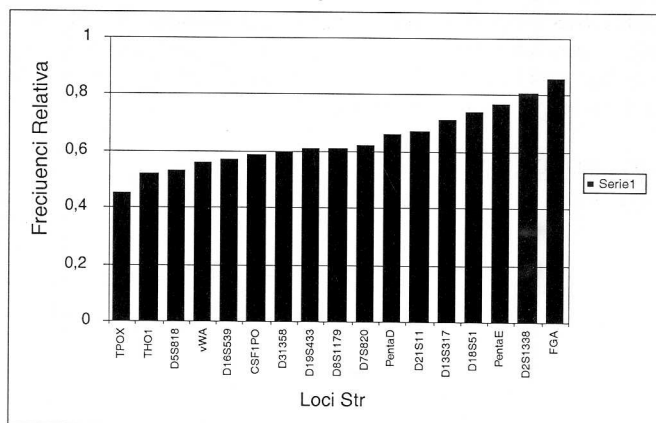
1. Calafell, Francesc. The probability distribution of the number of loci indicating exclusion in a core set of STR markers. *Int J Legal Med* (2000) 114:61-65.
2. A. Alonso Alonso. Regiones microsátélites del genoma humano (Short Tandem Repeats). Aplicaciones en genética forense. En: Ma. Begoña Martínez Jarreta. La prueba del ADN en medicina forense. 1999, Masson S.A.
3. Catálogo Whatman BioScience
4. Applied Biosystems. AmpFISTR® Identifiler PCR Amplification Kit. User's Manual, 2001, Applied Biosystems.
5. GenePrint® PowerPlex™16 System. Technical Manual, 2000 Promega Corporation
6. PE Applied Biosystems. ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer, User's Manual, 1998, Perkin Elmer Corporation.
7. GEP-ISFG. Normas para la aplicación de polimorfismos genéticos a las pericias médico-legales.
8. Zupanic Pajnic I, Sterlinko H, Balazic J, Komel R. Parenthood testing with 14 STR loci and population data for 5 STRs in the Slovenian population. *Int J Legal Med*, 2001, 114,3,178-180.

Figura 1.



Distribución de la frecuencia relativa de los casos de exclusión de paternidad con relación al número de loci en los que se observaron incompatibilidades (n=69 casos).

Figura 2.



Distribución de la frecuencia de las incompatibilidades detectadas por loci en los casos de exclusión analizados.

Validación del sistema DNA IQ para su uso en genética forense

Validation of the DNA IQ™ systems for forensic casework

Miguel Paredes, Manuel Crespillo, Juan A. Luque y Juan L. Valverde

Instituto Nacional de Toxicología. Sección de Biología. Barcelona

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue evaluar el nuevo kit de extracción con fines forenses de Promega DNA IQ. Para ello se emplearon diferentes muestras de las que habitualmente llegan a un laboratorio forense, encontrándose en todos los casos un resultado satisfactorio.

PALABRAS CLAVE

DNA extraction, *DNA IQ System*, Powerplex 16® System

ABSTRACT

The aim of this paper, was to check the efficiency for forensic purposes of the new Promega's extraction DNA IQ system. So different samples presents in routine casework were used and in all cases satisfactory results were obtained.

KEY WORDS

DNA extraction, *DNA IQ System*, Powerplex 16® System

INTRODUCCIÓN

Varios son los métodos de extracción de material genético empleados hoy día por los laboratorios de biología forense, aunque quizás los más universales sean la extracción orgánica con fenol-cloroformo y la extracción inorgánica con Chelex 100.

Ambos métodos ofrecen resultados robustos aunque presentan distintos inconvenientes: (1) en el caso del fenol-cloroformo es un proceso que consume bastante tiempo, en el que se realizan múltiples centrifugaciones y múltiples trasiegos de tubos con el consabido riesgo de contaminación biológica o de intercambio de muestra que ello conlleva y a la vez se emplean sustancias de una toxicidad muy elevada tanto para el operador como para el medio ambiente. (2) En el caso de la extracción de ADN con Chelex 100 el principal inconveniente es el de no eliminar completamente los inhibidores de tipo orgánico presentes en la muestra.

En ambos casos se añade una dificultad más antes de poder amplificar nuestra muestra, y es la de realizar una cuantificación de ADN que nos asegure un buen funcionamiento de la PCR. En nuestro laboratorio hemos comprobado que todos estos problemas quedan minimizados con la utilización del nuevo sistema de extracción DNA IQ System el cual nos garantiza una extracción y una cuantificación en un solo paso que nos permite tener analizados un eleva-

do numero de loci en un mismo día si la urgencia del caso así lo requiere.

MATERIAL Y METODOS

Para el análisis de los loci seleccionados, se tomaron 46 muestras biológicas de 29 donantes diferentes. Los diferentes grupos de muestras extraídas se aprecian en la tabla 1. Cada set de muestras fue extraído por separado utilizándose en todos los casos un blanco como control

El proceso de extracción se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones del fabricante, siendo el protocolo el mismo para los diferentes tipos de muestra pero introduciendo un paso previo de calentamiento a 95°C durante 30 minutos en Lysis Buffer para el caso de material biológico sobre soportes sólidos, tras lo cual se añadió la resina magnética encargada de realizar la purificación de los inhibidores presentes en la muestra.

La purificación se realiza gracias a un nuevo sistema que emplea una resina magnética capaz de capturar una cantidad constante de ADN. Esta resina posee la característica de atrapar hasta una cantidad máxima de ADN de manera que cuando está en presencia de un exceso de material genético la resina queda saturada no permitiendo la unión de más

ADN. Esta cualidad es utilizada para extraer 100ng de ADN por muestra que finalmente se eluyen en 100µl de Elution Buffer dando una concentración aproximada de 1ng/µl. En el caso de las colillas donde la cantidad de ADN a priori era menor se eluyó en 25µl de Elution Buffer.

Se amplificaron en una única reacción los 16 marcadores del sistema PowerPlex: Penta E, D18S51, D21S11, TH01, D3S1358, FGA, TPOX, D8S1179, vWA, Amelogenina, Penta D, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317 y D5S818. De cada una de las muestras se usó directamente 1µl llevándolo a un volumen final de 25 µl y utilizando un termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 2400. El análisis del material amplificado se realizó mediante electroforesis capilar en condiciones desnaturalizantes, utilizando un analizador de fragmentos automático ABI PRISM 310 Genetic Analyzer.

DISCUSION

De las 46 muestras analizadas únicamente en una (pelo arrancado) no se obtuvieron resultados debido posiblemente a que el pelo fue arrancado sin la raíz, puesto que la donante presentaba un tipo de cabello muy frágil.

En todos los demás casos los resultados obtenidos fueron satisfactorios,

observándose unos picos bien definidos y balanceados y siendo muy pequeña la presencia de bandas stutter, como se puede apreciar en la fig. 1. Todos los blancos control confirmaron la ausencia de amplificación.

El sistema DNA IQ ha demostrado ser una herramienta que presenta las siguientes ventajas:

Es un procedimiento sencillo que se realiza en muy poco tiempo y que no implica la utilización de disolventes orgánicos nocivos.

Permite saltarse el paso de cuantificación y realizar la amplificación por PCR de la muestra directamente, disminuyendo por tanto el tiempo de espera previo a la obtención de resultados, que en caso de asuntos en los que hay algún detenido es tan necesario.

Este Kit está especialmente indicado para todas aquellas muestras en las que se espera obtener gran cantidad de material genético de calidad, aunque también puede emplearse con aquellas muestras donde se espera tener menor cantidad de ADN, si bien en este caso se debería realizar una cuantificación del eluido si queremos garantizar el éxito de la PCR.

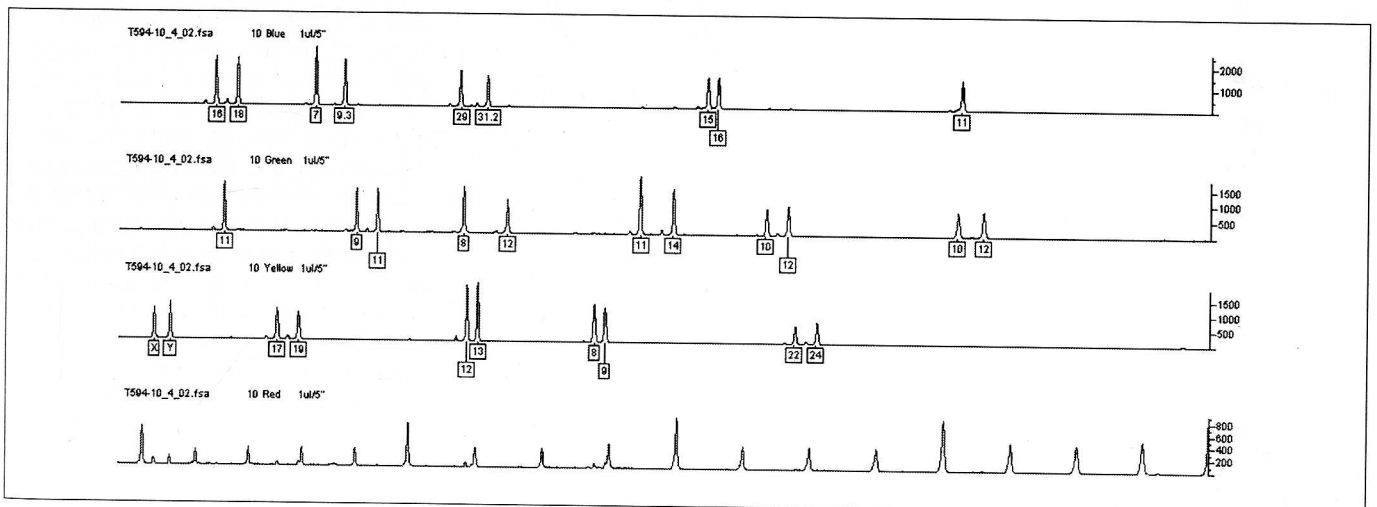
REFERENCIAS

1. DNA IQ[®] System Protocol. Promega
2. Profiles in DNA Vol. 4, No.3. July 2001

TABLA 1. MUESTRAS ANALIZADAS

Item	Num.muestras	Volumen
Sangres completas	9	15m
Manchas de sangre de 5x5 cm sobre ropas	9	25m
Cabellos arrancados	9	-
Hisopos con toma bucal	9	-
Colillas	5	-

Figura 1. Hisopos con toma bucal



Probabilidad de exclusión a priori en paternidades incestuosas sin madre.

Mean exclusion chance in incestuous paternity lacking mother

Juan A. Luque, Juan L. Valverde

Sección de Biología. Instituto de Toxicología. Departamento de Barcelona.

RESUMEN

En el presente trabajo presentamos el desarrollo de la fórmula general para calcular la probabilidad de exclusión a priori (MEC, del inglés Mean Exclusion Chance) en casos incestuosos sin madre para cualquier relación familiar. Veremos que se trata del valor para casos no incestuosos, modificado por un valor relacionado con el coeficiente de consanguinidad

PALABRAS CLAVE

Probabilidad de exclusión a priori, incesto, paternidad

ABSTRACT

In the present work we show the general formula for the Mean Exclusion Chance (MEC) in incestuous paternity cases. The value is the same that in non incestuous cases modified with a parameter related to the inbreeding coefficient.

KEY WORDS

Mean Exclusion Chance

INTRODUCCION.

La valoración de la prueba de paternidad cuando no se dispone de la madre supone una pérdida de información genética que redundará en una disminución de la probabilidad de discriminación a priori y en caso de no exclusión en la fuerza de la prueba. Si además nos enfrentamos a un caso de presunta paternidad incestuosa (el presunto padre acusado es familiar de la madre de la que no disponemos de perfil genético), es mucho más probable que el presunto padre y el hijo compartan alelos que si no estuvieran relacionados genéticamente. Por tanto, la capacidad de excluir a un familiar de la madre como padre de un hijo en ausencia de esta disminuye respecto a un caso de no consanguinidad.

En un trabajo previo [1] vimos unos ejemplos de paternidad incestuosa y la forma de calcular el índice de paternidad cuando el presunto padre era un hermano o el padre de la madre, en ausencia de esta. De forma intuitiva ya indicamos que el sistema contaba con bastante menos información genética, por lo que era necesario aumentar el número de marcadores o intentar disponer de la madre. Sin embargo nos faltaba la herramienta necesaria para poder cuantificar de forma más precisa dicha necesidad, y poder calcular la probabilidad de exclusión a priori, que debe alcanzar como mínimo el 99%.

Aplicando la probabilidad de transmisión de alelos entre familiares podemos

Correspondencia: Juan A. Luque
Sección de Biología. Instituto de Toxicología. Departamento de Barcelona
Merced, 1. 08002 Barcelona
Correo electrónico: biolog@bcn.inaltox.es

deducir la fórmula correspondiente a la paternidad incestuosa sin madre, no solo para padre o hermano de la madre sino para cualquier tipo de relación familiar.

DESARROLLO DE LA FORMULA.

La exclusión entre un presunto padre y un hijo en ausencia de la madre puede producirse en dos supuestos:

- El presunto padre y el hijo son homocigotos para alelos diferentes (siempre que sean homocigotos verdaderos). Por ejemplo P.Padre 9.3/9.3 e Hijo 7/7.
- El presunto padre es heterocigoto y el hijo no presenta ninguno de los dos alelos del padre (sea el hijo homocigoto o heterocigoto). Por ejemplo P.Padre 9/9.3 y el hijo 7/7 o 7/8.

En un sistema con n alelos, la probabilidad de exclusión será la suma (para todos los perfiles posibles del presunto padre) de la probabilidad del perfil de éste multiplicado por la probabilidad de que el hijo no tenga ningún alelo como él, en ambos supuestos:

- Presunto padre homocigoto ($A_i A_i$)

La probabilidad del genotipo del padre es p_i^2 .

La probabilidad de que el alelo materno del hijo sea A_i es $2\theta_{PP,M} + (1 - 2\theta_{PP,M})p_i$ [2]. La probabilidad de que el hijo no tenga como alelo materno el alelo i es 1 menos el valor anterior.

La probabilidad de que el alelo paterno no sea A_i es $1 - p_i$.

Por tanto, tendremos:

$$\sum_1^n p_i^2 \left[1 - (2\theta_{PP,M} + (1 - 2\theta_{PP,M}) p_i) \right] (1 - p_i)$$

Reorganizando

$$\sum_1^n p_i^2 (1 - 2\theta_{PP,M})(1 - p_i) (1 - p_i)$$

Como $(1 - 2\theta_{PP,M})$ es una constante se puede "sacar" del sumatorio

$$(1 - 2\theta_{PP,M}) \sum_1^n p_i^2 (1 - p_i)^2$$

- Presunto padre heterocigoto ($A_i A_j$)

La probabilidad del genotipo del padre es $2p_i p_j$.

La probabilidad de que el alelo materno sea A_i es $\theta_{PP,M} + (1 - 2\theta_{PP,M})p_i$ y que sea A_j es $\theta_{PP,M} + (1 - 2\theta_{PP,M})p_j$ [2]. La probabilidad de que el hijo no tenga como alelo materno el alelo i ni el alelo j es 1 menos ambos valores anteriores.

La probabilidad de que el alelo paterno no sea A_i ni A_j es $1 - p_i - p_j$.

Por tanto, tendremos:

$$\sum_{i < j}^n 2 p_i p_j \left[1 - (\theta_{PP,M} + (1 - 2\theta_{PP,M}) p_i) - (\theta_{PP,M} + (1 - 2\theta_{PP,M}) p_j) \right] (1 - p_i - p_j)$$

Reorganizando

$$\sum_{i < j}^n 2 p_i p_j (1 - 2\theta_{PP,M})(1 - p_i - p_j)(1 - p_i - p_j)$$

Como $(1 - 2\theta_{PP,M})$ es una constante se puede "sacar" del sumatorio

$$(1 - 2\theta_{PP,M}) \sum_{i < j}^n 2 p_i p_j (1 - p_i - p_j)^2$$

Si unimos ambos supuestos obtenemos la fórmula general:

$$MEC(\text{incesto_sin_madre}) = (1 - 2\theta_{PP,M}) \left[\sum_1^n p_i^2 (1 - p_i)^2 + \sum_{i < j}^n 2 p_i p_j (1 - p_i - p_j)^2 \right]$$

$\theta_{PP,M}$ es el coeficiente de consanguinidad entre la madre y el presunto padre.

Como puede verse, la probabilidad de exclusión a priori es la misma de los casos no incestuosos [3] multiplicada por un coeficiente $(1-2\theta_{PP,M})$. Si el presunto padre es padre o hermano de la madre, por tanto tío o abuelo del hijo, $\theta_{PP,M}$ será 1/4 y la probabilidad de exclusión a priori (MEC) será 1/2, la mitad, que un caso normal sin madre. (El caso normal tiene $\theta_{PP,M} = 0$, no emparentados).

EJEMPLOS NUMÉRICOS.

Hemos aplicado la fórmula para los 13 marcadores del núcleo del CODIS en casos con diferentes relaciones familiares y se ha comparado con el caso normal y con el caso de trío PMH. Los resultados pueden verse en la siguiente tabla:

	Incesto P.Padre/hijo				Normal	
	Padre de madre $\theta_{PP,M} = 1/4$	Hermano Madre $\theta_{PP,M} = 1/4$	Tío de madre $\theta_{PP,M} = 1/8$	Primo de madre $\theta_{PP,M} = 1/16$	P.Padre/Hijo $\theta_{PP,M} = 0$	Trío -
D3S1358	0,21	0,21	0,31	0,36	0,41	0,59
VWA	0,21	0,21	0,31	0,36	0,41	0,59
FGA	0,29	0,29	0,43	0,51	0,58	0,73
D8S1079	0,23	0,23	0,34	0,40	0,45	0,63
D21S11	0,26	0,26	0,38	0,45	0,51	0,68
D18S51	0,30	0,30	0,45	0,52	0,60	0,75
D5S818	0,15	0,15	0,22	0,26	0,29	0,47
D13S317	0,20	0,20	0,29	0,34	0,39	0,57
D7S820	0,23	0,23	0,34	0,40	0,46	0,63
D16S539	0,19	0,19	0,29	0,33	0,38	0,56
TH01	0,20	0,20	0,30	0,35	0,40	0,58
TPOX	0,11	0,11	0,16	0,19	0,22	0,37
CSF1PO	0,15	0,15	0,23	0,26	0,30	0,47
Acumulado	0,953021	0,953021	0,992872	0,997562	0,999255	0,999993

Como podemos ver, el valor obtenido para el padre o el hermano de la madre es claramente insuficiente, y tendríamos más que duplicar el número de marcadores para conseguir un valor similar a un caso no incestuoso (datos no mostrados). En el resto de casos la disminución de la probabilidad de exclusión a priori no es tan marcado, y lógicamente, cuanto menos relación de parentesco, más difícil es que compartan alelos por parentesco, y por tanto, más se acerca el valor al caso de no parentesco.

CONCLUSIONES

Es posible calcular la probabilidad de exclusión a priori en casos de incesto, cuando no se dispone de la madre. De hecho, debería calcularse siempre que se aborde un caso de este tipo, y realizar el número de análisis necesarios para conseguir un valor mínimo de 99%, o incluso de 99,9%, para garantizar mínimamente que un familiar al que se le imputa falsamente la paternidad pueda ser excluido de forma directa.

BIBLIOGRAFIA

1. Luque JA, Paredes M y Valverde JL. Paternidad incestuosa: La importancia de disponer del perfil de la madre en el cálculo de probabilidad. Tres ejemplos reales. VI Jornadas de Genética Forense. 4-7 de Octubre de 2001. Villa Carlos Paz. Córdoba. Argentina.
2. Evett, IW y Weir, WS (1998) Interpreting DNA evidence: statistical genetics for forensic scientists. Sinauer Associates, INC. Sunderland (MA)
3. Garber RA, Morris JW (1983) In: Walker RH (ed) Inclusion probabilities in parentage testing. AABB, Arlington (VA)

PATCAN: UN PROGRAMA PARA ANALIZAR PATERNIDADES Y OTRAS RELACIONES FAMILIARES

PATCAN: a software to study paternity and other family relationships

José A. Riancho, María T. Zarrabeitia

*Departamento de Medicina (JAR) y Unidad de Medicina Legal (MTZ)
Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria. Santander*

RESUMEN

Se presenta un programa nuevo de libre distribución basado en Windows para analizar relaciones familiares a partir de datos del ADN. Este programa se puede usar para calcular relaciones de verosimilitud y probabilidad de paternidad en tríos convencionales, en casos en que la madre está ausente y cuando falta uno de los padres, pero existen los datos de los abuelos. Puede también usarse para calcular la probabilidad de que dos sujetos sean hermanos o hermanastros.

PALABRAS CLAVE

PROGRAMA, ADN, ANALISIS DE PATERNIDAD

ABSTRACT

A new Windows-based freeware for kinship analysis from DNA data is presented. This software can be used to calculate likelihood ratios and probabilities of paternity in trio and motherless cases, as well as in cases when a parent is lacking but there are data from the grandparents. It can also be used to compute the probability of two subjects being full-brothers or half-brothers.

KEY WORDS

SOFTWARE, DNA, PATERNITY ANALYSIS

INTRODUCCIÓN

Existen varios programas informáticos que facilitan el análisis de los casos de paternidad. Sin embargo, algunos de ellos utilizan entornos relativamente complejos, poco intuitivos, y otros no son de libre distribución, sino que tienen un coste elevado (1,2).

Nos hemos planteado desarrollar un programa en entorno Windows, que sea de uso fácil y que permita analizar los casos habitualmente planteados en investigación biológica de la paternidad.

MATERIAL Y METODOS

Descripción

El programa PATCAN está constituido por una serie de módulos interrelacionados entre sí, que a su vez constan de varias hojas de cálculo Microsoft Excel97.

Uno de los módulos es una base de datos en la que se introducen los resultados del análisis de los polimorfismos génicos estudiados, así como las frecuencias alélicas poblacionales. Se incluyen en la plantilla los microsátélites más comúnmente utilizados en el ámbito forense, pero el usuario tiene la posibilidad de introducir otros de su interés. Esta base de datos puede archivar, de manera que los análisis pueden repetirse en el futuro, sin necesidad de reintroducir los resultados; alternatively, pueden modificarse los datos parcial o totalmente.

Los módulos de cálculo capturan los datos de los genotipos presentes en la base de datos y estiman el coeficiente de verosimilitud (índice de paternidad) y la probabilidad de paternidad derivados de los resultados de cada locus individual, así como los valores acumulados para el conjunto de los loci.

Se calculan los valores para la hipótesis de paternidad verdadera, frente a las hipótesis alternativas, bien de paternidad de un individuo no relacionado, bien de paternidad de un familiar del supuesto padre.

Asimismo, se plantea un análisis bayesiano, de manera que se calcula la probabilidad de paternidad para diferentes situaciones de probabilidad «a priori».

Para los cálculos se utilizan las fórmulas generalmente aceptadas y se permite considerar valores de coeficiente de consanguinidad diferentes de cero (3-6). Es posible introducir el mismo coeficiente para todos los loci, o valores diferentes para cada uno de ellos.

Las situaciones que se pueden analizar son las siguientes:

- a) trío convencional (madre, hijo y presunto padre);
- b) casos sin madre;
- c) casos sin madre y/o sin padre, pero con resultados disponibles de los abuelos maternos y/o paternos;
- d) casos en los que se analiza si dos sujetos presentan algún otro tipo de relación familiar (hermanos, medio hermanos, primos, etc.).

Se incluye también una rutina para calcular las frecuencias alélicas mínimas en función del tamaño de la base de datos de referencia y la heterocigosidad observada (7).

DISCUSION

Se ha comprobado el funcionamiento del programa en más de 100 casos, siendo correctos los resultados obtenidos en todos ellos.

PATCAN permite analizar las situaciones comunes de investigación de paternidad o fraternidad, incluyendo los tríos convencionales y los casos en los que la madre no está disponible, los cuales en conjunto suponen más del 95% de la casuística de los laboratorios que reali-

zan pruebas biológicas de paternidad. El desarrollo en un entorno Windows hace que su uso resulte sencillo.

PATCAN es un programa de distribución libre, que se puede obtener solicitándolo a los autores.

BIBLIOGRAFIA

1. Brenner CH. Symbolic kinship program. *Genetics* 1997; 145:535-42. (www.dna-view.com).
2. Mostad PF, Egeland T. Probability assessments of family relations using the program «Pater» (www.nr.no/familias).
3. Ayres KL. Relatedness testing in subdivided populations. *Forensic Sci Int* 2000; 114:107-15.
4. Evett IW and Weir BS: *Interpreting DNA evidence*. Sinauer. Sunderland, 1998.
5. Balding DJ, Nichols RA. A method for quantifying differentiation between populations at multi-allelic loci and its implications for investigating identity and paternity. *Genetica* 1995; 96:3-12
6. Lee HS, Lee JW, Han GR, Hwang JJ. Motherless case in paternity testing. *Forensic Sci Int* 2000; 114:57-65.
7. Budowle B, Monson KL, Chakraborty R. Estimating minimum allele frequencies for DNA profile frequency estimates for PCR-based loci. *Int J Legal Med* 1996;108:173-6.

Determinación del volumen de sangre en manchas de sangre sobre ropas

Blood volume determination from blood stains on clothes

Àlex Pifarré, Elisabet Ramírez, Dácil Solá, Rosa M. Fernández, Juan A. Luque, Manuel Crespillo y Juan Luis Valverde.

Sección de Biología. Instituto Nacional de Toxicología, Departamento de Barcelona. C/ Mercè, 1. 08002 Barcelona.

RESUMEN

La muerte por choque hipovolémico tiene lugar cuando el volumen de sangre perdido alcanza aproximadamente un tercio del volumen total contenido en un adulto. Ropas y otros objetos manchados de sangre fueron hallados en un coche y remitidos a nuestro laboratorio. El objetivo del análisis era la investigación tanto de la entidad como de la cantidad de la sangre existente en ropas y objetos con el fin de determinar si dicha cantidad de sangre era suficiente como para haber causado la muerte a la supuesta víctima.

PALABRAS CLAVE

Choque hipovolémico, volumen de sangre, peso seco, superficie de las manchas, STRs.

ABSTRACT

Death due to hypovolemic shock may occur when lost blood volume reaches about one third of the whole volume contained in an adult human body. Bloodstained clothes and other objects found in a car were sent to our laboratory. The aim was to investigate the entity and the amount of blood present on clothes and objects in order to determine if the amount of blood present on them was enough to cause death.

KEY WORDS

Hypovolemic shock, blood volume, dry weight, stain surface, STRs.

INTRODUCCIÓN

La muerte provocada por choque hipovolémico sucede cuando el volumen de sangre perdido oscila entre un 25% i un 30% del volumen total contenido en un cuerpo humano adulto [1]. El hallazgo de una cantidad importante de sangre, pero no así de un cadáver, constituye un motivo de suficiente peso como para que un juez decrete una investigación a fondo de los posibles hechos [2].

Un varón de 65 años fue visto por última vez el mes de febrero de 1998. Paralelamente, diversas ropas y objetos manchados con sangre fueron encontradas en un turismo interceptado por la policía una noche del mismo mes y remitidas a nuestro laboratorio. Se trataba de investigar la entidad de las manchas (tipaje genético) y el volumen de sangre existente en las muestras para poder así determinar si dicho volumen era suficientemente grande como para provocar la muerte por hipovolemia, ya que no se había hallado cadáver alguno.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras sometidas a análisis consistieron en dos mantas, dos camisas y una camiseta. El resto de objetos igualmente manchados fue descartado por presentar las manchas poco definidas o en forma de salpicaduras muy pequeñas. De cada muestra analizada se extrajo el ADN mediante digestión en acetato sódico 0,2 M en presencia

de proteinasa K y SDS 10%. Los extractos fueron purificados con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (Gibco BRL) y concentrados con membranas Microcon-100 (Millipore) [3, 4].

Para confirmar la procedencia común de las manchas de sangre, éstas fueron tipadas mediante los kits AmpliFSTR Profiler Plus y COfiler (Applied Biosystems) [5] y electroforesis capilar desnaturizante utilizando un ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) [6]. Se empleó también el kit PowerPlex-16™ (Promega Corporation) [7] para determinar la entidad de un alelo del marcador FGA que aparecía fuera de rango en el análisis con los kits anteriores.

Paralelamente, se calculó el peso seco de la sangre de las ropas mediante el método de Strassmann y Ziemke [8]. Realizando un muestreo a base de recortes de idéntico tamaño de ropa completamente manchados y de otros completamente limpios, se calcularon las medias de pesos tanto para los recortes manchados como para los limpios. El peso seco de la sangre de las manchas por unidad de superficie se obtuvo calculando la diferencia entre los valores medidos de los recortes manchados y limpios. Utilizando papel vegetal (densidad 90 g/cm²) se pudo obtener la superficie total de las manchas. Las manchas fueron calcadas y el pedazo de papel resultante fue pesado. Aplicando la relación peso/superficie del papel vegetal, se obtuvo la superficie de cada mancha.

La aplicación de la relación de Harmstem (1 L de sangre equivale a 211 g de peso seco) [9] permitió la obtención de los volúmenes correspondientes a cada ropa y su suma el volumen total de sangre perdido.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los perfiles genéticos obtenidos a partir del análisis de las manchas de sangre eran todos idénticos, indicando la pertenencia a un mismo individuo. Se observó en el análisis con el kit AmpliFSTR Profiler Plus (Applied Biosystems) la aparición de un alelo fuera de rango en el marcador FGA. El uso del kit PowerPlex-16™ (Promega Corporation) confirmó que se trataba del alelo 17 de dicho marcador, el cual no consta en el *ladder* correspondiente al kit AmpliFSTR Profiler Plus.

La superficie total de las manchas de sangre, calculada a partir de las ropas analizadas, fue de 1,69 m². El volumen total calculado de sangre presente en las ropas fue de 1,79 L.

Es importante indicar que la técnica propuesta por Strassmann y Ziemke confiere una discrepancia no superior al 20% del valor total obtenido. Así, los volúmenes mínimo y máximo de sangre perdida por el mismo individuo han sido de 1,4 y 2,1 L, respectivamente. No obstante, y teniendo en cuenta otras cantidades de sangre encontradas (aparte de las salpicaduras existentes en los objetos, se halló un charco de dimensiones considerables de sangre

en el maletero del vehículo), se consideró que la cantidad de sangre perdida era lo suficientemente grande como para causar la muerte por choque hipovolémico. Estos resultados, junto con las conclusiones deducidas a partir de las investigaciones policiales sobre otras evidencias, contribuyeron a la acumulación de pruebas suficiente como para que los sospechosos (una mujer y dos hombres) fuesen declarados culpables de asesinato y condenados, a pesar de no encontrarse el cuerpo de la víctima.

REFERENCIAS

1. Iselbacher KJ *et al* (eds.) *Harrison. Principles of Internal Medicine*. 13th edition. McGraw-Hill. 1992.
2. Ley de Enjuiciamiento Criminal, Arts. 330 i 339.
3. Sambrook J *et al* (eds.) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd edition. Cold Spring Harbour Laboratory Press. 1989.
4. Budowle B *et al*. *DNA Typing Protocols: Molecular Biology and Forensic Analysis*. Eaton Publishing. BioTechniques Books, Natick, MA. 2000.
5. AmpliFSTR Profiler Plus and COfiler PCR Amplification Kits. Applied Biosystems.
6. ABI PRISM 310 Genetic Analyzer. Perkin-Elmer Corporation/Applied Biosystems. 1995.
7. PowerPlex-16™ Amplification Kit. Promega Corporation.
8. López L. *Técnica Médico-Legal*. Ed. Saber. Valencia. 1953.
9. Lentner C (ed.) *Geigy Scientific Tables*. Vol 3. Ciba-Geigy Limited. Basel, Switzerland. 1984.

DetECCIÓN mediante análisis de ADN, falsificación en documento público (Tasa de alcoholemia).

Breath alive drivers alcohol in blood valuation. Subsequent DNA analysis to compare switched samples blood

R. Fernández, D. Solà, A. Pifarré, JA Luque y JL Valverde.

Instituto Nacional de Toxicología. Servicio de Biología. Departamento de Barcelona. Ministerio de Justicia.

RESUMEN:

Muestras de sangre analizadas previamente para la determinación del grado de alcoholemia, fueron contrastadas mediante el estudio de polimorfismos del ADN con el fin de esclarecer un supuesto delito de falsificación en documento público y poder así confirmar si pertenecían a la misma persona. En los resultados obtenidos no se detectó la presencia de alcohol etílico en ninguna de las muestras. Los perfiles genéticos obtenidos en las muestras analizadas no eran coincidentes con el perfil genético obtenido de las muestras indubitadas.

PALABRAS CLAVE:

Falsificación, polimorfismo, PCR

ABSTRACT

The Spanish Traffic Law doesn't permit to drive with more than 0,3 g/l. of alcohol in blood. When the police breath alive a driver, the driver with positive result have the right to ask for blood test to contrast it with the breath test. Normally the results of breath analysis and the results of alcohol in blood are the same.

A number of positives breath test were not confirmed by subsequent blood test. These samples of bloods were extracted in the same hospital.

The police suspected that the blood samples have been switched with free alcohol blood sample. To confirm our suspicious we run DNA analysis of the blood samples in our laboratory and compared them with a fresh blood samples from the drivers. We proved that the alcohol negative samples, they were different to the authentic driver's bloods samples.

The DNA analysis proved that the original driver's blood samples were switches at the hospital before being sent to the laboratory for the analysis.

KEY WORDS

Breath analysis, alcohol in blood, positives and negatives breath, drivers samples, DNA analysis, switched samples

INTRODUCCIÓN

Unas muestras de sangre, analizadas previamente para la determinación del grado de alcoholemia, fueron contrastadas mediante el estudio de polimorfismos del ADN con el fin de esclarecer un supuesto delito de falsificación en documento público y poder así confirmar si pertenecían a la misma persona. Este trabajo pone de manifiesto que la prueba del ADN constituye una herramienta de peso en la identificación de individuos.

MATERIAL Y METODOS

Material

Fueron analizadas muestras de sangre dubitadas, de las cuales dos (muestras 1 y 2) pertenecían supuestamente a una misma persona (muestra 3 indubitada). Otra (muestra 4) perteneciente a una segunda persona, (muestra 6 indubitada) y las dos restantes (muestras 5 y 7) pertenecientes a dos personas más. Todas las muestras dubitadas provenían de controles de alcoholemia llevados a cabo por la policía local, con el denominador común, que todos superaban los niveles permitidos de alcohol en sangre por la prueba de detección alcohólica mediante aire aspirado. Además, la prueba de contraste de alcoholemia dirigida a nuestro laboratorio fue solicitada por un varón. En esta solicitud se hacía constar siempre que las muestras pertenecían a un mismo grupo sanguíneo. Las muestras

Correspondencia:
Sección de Biología. Instituto de Toxicología. Departamento de Barcelona
Merced, 1. 08002 Barcelona
Correo electrónico: biolog@bcn.inaltox.es

dubitadas y las indubitadas fueron recepcionadas en diferentes fechas, cubriendo un periodo de tiempo aproximado de dos años. El análisis mediante cromatografía de gases con inyección por espacio de cabeza obtenido en nuestro laboratorio en esas mismas muestras dio resultado negativo.

Método

La determinación del grado de alcoholemia en sangre se realizó mediante cromatografía de gases con inyección por espacio de cabeza.

El ADN de las muestras de sangre fue extraído y cuantificado para luego ser amplificado mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando los Kits Amplitype Profiler Plus y Cofiler (Applied Biosystems), que incluyen un total de 13 marcadores polimórficos del tipo STR, más un marcador determinante del sexo situado en el gen de la amelogenina humana. La detección de los alelos para los diferentes marcadores genéticos polimórficos fue realizada mediante electroforesis capilar automática en condiciones desnaturalizantes.

DISCUSION

El cromatógrafo de gases no detectó la presencia de alcohol etílico en ninguna

de las muestras analizadas. Los perfiles genéticos obtenidos de las muestras 1 y 2 no eran coincidentes con el perfil genético obtenido de la muestra indubitada 3. Igualmente, el perfil genético de la muestra 4 no coincidió con el perfil genético obtenido en la muestra indubitada 6.

Por otra parte, el análisis del gen de la amelogenina determinó el origen femenino para las muestras dubitadas 5 y 7, consideradas inicialmente de procedencia masculina.

En definitiva, el acusado sustituyó las muestras por otras sin restos de alcohol y con grupo sanguíneo igual al suyo. El control de sangres, que el sospechoso supuso que se realizaría con la determinación de grupos sanguíneos, ya en desuso en nuestro laboratorio, se realizó mediante análisis de ADN, quedando así al descubierto los cambios de sangres.

Este estudio ha permitido poner de manifiesto una vez más, que la prueba de ADN puede ser decisiva en la detección de delitos como el que se describe y en todas aquellas pruebas en las que exista la posibilidad de sustitución de unas muestras biológicas por otras, de manera fortuita o de forma intencionada por intereses de otro tipo.

En determinados casos, el análisis de un solo marcador genético (amelogenina humana) permite detectar el cambio o sustitución de tales muestras cuando supuestamente pertenecen a diferentes sexos.

REFERENCIAS

1. Sambrook, J. *et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd edition. Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1989.
2. Quantiblot (Human DNA quantitation Kit) Perkin-Elmer Corporation.
3. AmpliFISTR Profiler Plus and Cofiler. PCR Amplification Kit. Applied Biosystems.
4. DNA commission of the ISFH (1992) Report concerning recommendations of the DNA commission of the International Society for Forensic haemogenetics relating to the use of DNA polymorphisms. *Int J Leg Med* 104: 361-364.
5. DNA commission of the ISFH (1992) Recommendations of the DNA commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Int J. Leg med* 105: 63-64.
6. Editorial (1994) DNA recommendations 1994 report concerning further recommendations of DNA Comision of the IDFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (Short tandem repeat) systems. *Forensic Sci Int* 69: 103-104.
7. Editorial (1997) DNA recommendations-further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems *Forensic Sci Int* 87:179-184.

TABLA 1.

Marcador	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6	Muestra 7
D3S1358	16/17	16/18	15/18	14/15	17/18	15	18
VWA	18	17/18	16/18	15/16	16/17	16	17
FGA	23	21/23	22/23	20/26	20/21	21/24	20/23
D8S1179	11/12	13/15	12/15	9/10	14	8/11	12/13
D21S11	27/29	30/31	29/30	24.2/29	31.2/32.2	29/32.2	29/30
D18S51	15/16	12	9/15	14	13/16	15/17	14
D5S818	12	12	11/13	11/12	10/11	12	11/12
D13S317	8/12	12	11/12	11/12	13	12/13	13/14
D7S820	8/10	11	8/10	7/8	10/12	9/12	9/12
D16S539	8/9	11/12	NA	9/12	10/12	9	11
TH01	8	6/8	NA	7/8	9.3/10	8/9.3	8/9
TPOX	8	8/11	NA	8/11	8	8/10	8/12
CSF1PO	11	10/11	NA	10/11	11/12	10/11	10/12
Amelogenina	XY	XY	XY	XY	X	XY	X

Muestra 1: Sangre dubitada de persona 3.
 Muestra 3: Sangre indubitada de persona 3.
 Muestra 5: Sangre dubitada persona 5.
 Muestra 7: Sangre dubitada de persona 7.

Muestra 2: Sangre dubitada de persona 3.
 Muestra 4: Sangre dubitada de persona 6.
 Muestra 6: Sangre indubitada de persona 6.
 NA: No analizado.

Un nuevo Pentaplex para el análisis de STRs del cromosoma X

A new Pentaplex to analyze STRs on X-chromosome

M^a Teresa Zarrabeita, José A. Riancho*, Ana L. Zarrabeitia*, Carolina Sañudo, Teresa Amigo

*Unidad de Medicina Legal y *Departamento de Medicina.
Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria. Santander.*

RESUMEN

Se describe un nuevo método para amplificar cinco marcadores de STRs del cromosoma X de interés en medicina legal: fosforribosil transferasa humana (HPRTB), DXS101, el receptor de andrógenos (ARA), DXS 7423 y DXS 8377. Los marcadores se amplificaron adecuadamente con amplimeros marcados con fluorocromos, en una única reacción PCR, para posteriormente proceder al análisis de los fragmentos en un sistema de electroforesis capilar. Los alelos más comunes de cada locus se secuenciaron y se utilizaron como control para tipar las muestras desconocidas.

PALABRAS CLAVE:

ADN; CROMOSOMA X; MICROSATÉLITES; FORENSES

ABSTRACT

A new method has been optimised to amplify five X chromosome short tandem repeat (STR) markers of interest in forensic medicine: human phosphoribosyl transferase (HPRTB), DXS101, androgen receptor (ARA), DXS7423 and DXS 8377. Markers were conveniently amplified in a single PCR reaction with fluorochrome-labelled primers, which allowed the analysis of fragment sizes after injection into a capillary electrophoresis system. The most common alleles of each locus were sequenced and used in a control ladder to designate unknown samples.

KEY WORDS

DNA; SHORT TANDEM REPEATS; X-CHROMOSOME; FORENSIC

INTRODUCCIÓN

En los últimos años los marcadores del cromosoma Y han sido amplio objeto de estudio y se han descrito más de 20 microsatélites (STRs) de dicho cromosoma. Ellos son de gran utilidad para los casos de investigación biológica de paternidad de un varón en ausencia de padre, ya que todos los individuos de la línea paterna van a compartir el mismo haplotipo.

Así como los padres transmiten a todos sus hijos el cromosoma Y, también transmiten el mismo cromosoma X a todas sus hijas. De ahí que el análisis de STRs del cromosoma X sería de gran utilidad para resolver casos de investigación biológica de paternidad, en ausencia de padre, cuando el hijo es de sexo femenino. Sin embargo, los STRs del cromosoma X han sido muy poco estudiados en el campo de la genética forense y tan sólo uno (HPRTB) puede ser analizado por un método comercial.

El objetivo de este estudio ha sido desarrollar un multiplex para analizar conjuntamente cinco microsatélites del cromosoma X que pueden ser de utilidad en casos forenses.

MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron 5 loci del cromosoma X: HPRTB (Fosforribosil-transferasa), DXS 101, ARA (receptor de andrógenos), DXS7423 y DXS8377. Los tres primeros ya se habían estudiado en el ámbito forense (1,2,3). Los dos últimos

se describieron en estudios de una miopatía tubular congénita (4) y su utilidad forense ha sido descrita recientemente por nuestro grupo (5).

Se extrajo el ADN genómico de sangre periférica mediante un kit comercial (Quiagen). Se utilizaron 10-30 ng de ADN para amplificar las regiones de interés mediante PCR con los amplímeros descritos en la tabla 1, marcados con FAM, TET y HEX.

Se realizaron varios experimentos para optimizar las concentraciones de los componentes de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), así como las temperaturas idóneas de amplificación de cada locus, en reacciones separadas y conjuntas. El análisis de fragmentos se llevo a cabo mediante electroforesis capilar en un ABI 310. Se construyeron estándares (ladder) con los alelos más comunes de cada locus, cuya estructura se confirmó por secuenciación.

Se analizaron las frecuencias alélicas de cada locus en una población de 125 individuos de Cantabria. El poder de discriminación se estimó mediante las fórmulas propuestas por Desmarais y col.(1)

RESULTADOS

Las concentraciones de amplímeros y las condiciones de amplificación que resultaron idóneas para un volumen total de PCR de 25 microlitros fueron: Amplímeros (HPRTB 2 pmol, DXS 101 7

pmol, ARA 5 pmoñ, DXS 7423 4 pmol, DXS 8377 10 pmol), Mg Cl₂ 1,5 mM, dNTP 5 pmol y Taq-Polimerasa 2 U. Las condiciones de amplificación fueron: Desnaturalización inicial de 10' a 94°C; 8 ciclos (94°C 1'; T^h hibridación entre 62°C – 59°C, descendiendo un grado cada dos ciclos; extensión a 72°C 1'); 24 ciclos a 94°C 1', 58°C 1' y 72°C 1'; extensión final durante 30' a 72°C.

Las amplificaciones obtenidas bajo estas condiciones han sido consistentes y satisfactorias. No obstante, hemos comprobado que existen loci (HPRTB y DXS 7423) en los que la eficiencia es mejor, así como otros (DXS 101) que son muy sensibles a la congelación-descongelación de los amplímeros.

El análisis estadístico de las frecuencias poblacionales indican un grado de polimorfismo que hace interesantes estos marcadores para su aplicación forense (tabla 2).

DISCUSION

Existen muy pocos protocolos de análisis de STRs del cromosoma X en la literatura. El protocolo aquí descrito representa un adecuado procedimiento de amplificación de 5 loci del cromosoma X en una única reacción. Además presenta un buen grado de sensibilidad ya que es eficaz con cantidades pequeñas de ADN (1 ng).

Su principal utilidad sería en aquellos casos de investigación biológica de paternidad en los que se estudia a una

hija, en ausencia de padre (con o sin madre) y existan otras hijas del mismo padre. En este caso, el presunto padre tiene que haber transmitido a todas sus hijas el mismo cromosoma X. Todos los marcadores utilizados en este pentaplex se encuentran localizados en el brazo largo el cromosoma X. En los estudios realizados por nosotros no se han evidenciado desequilibrio de unión entre los loci, pero ello ha de ser comprobado en grupos de población más amplios.

REFERENCIAS

1. D. Desmarais, Y. Zhong, R. Chakraborty, C. Perreault, L. Busque. Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA). J. Forensic Sci. 1998; 43: 1046-1049.
2. J. Edelman, R. Szibor. DXS101:a highly polymorphic X-linked STR. Int. J. Legal Med. 2001; 114: 301-304.
3. R. Szibor, S. Lautsch, I. Plate, N. Beck. Population data on the X chromosome short tandem repeat locus HumHPRTB in two regions of Germany. J. Forensic Sci. 2000; 45: 231-233.
4. L. J. Hu, J. Laporte, P. Kioschis, S. Heyberger, C. Kretz, A. Poustka, J. L. Mandel, N. Dahl. X-linked myotubular myopathy:refinement of the gene to a 280-kb region with new and highly informative microsatellite markers. Hum. Genet. 1996; 8: 178-181.
5. M. T. Zarrabeitia, T. Amigo, C. Sañudo, M. A. Martinez, J. A. Riancho. Sequence structure and population data of two X-linked markers: DXS7423 and DXS8377. Int. J. Legal Med. 2002; 116: 368-372.

TABLA 1. SECUENCIAS DE AMPLIMEROS

Locus	Secuencias de los amplímeros	Fluorocromo
HPRTB		
1	5'-ATGCCACAGATAATACACATCCC-3'	FAM
2	5'-CTCTCCAGAATAGTTAGATGTAGG-3'	-
DXS101		
1	5'-ACTCTAAATCAGTCCAAATATCT-3'	TET
2	5'-AAATCACTCCATGGCACATGTAT-3'	-
ARA		
1	5'-TCCAGAATCTGTTCCAGAGCGTGC-3'	TET
2	5'-GCTGTGAAGGTTGCTGTTCCCTCAT-3'	-
DXS7423		
1	5'-TAGCTTAGCGCCTGGCACATA-3'	HEX
2	5'-GTCTTCTGTCATCTCCCAAC-3'	-
DXS8377		
1	5'-CACTTCATGGCTTACCACAG-3'	HEX
2	5'-GACCTTTGGAAAGCTAGTGT-3'	-

TABLA 2. EFICIENCIA FORENSE. PD: PODER DE DISCRIMINACION EN IDENTIFICACION DE MUESTRAS DE ORIGEN MASCULINO O FEMENINO

	HPRTB	DXS101	ARA	DXS7423	DXS8377
PD, mujer	0.900	0.972	0.973	0.868	0.991
PD, varón	0.756	0.874	0.878	0.712	0.929

Caracterización del locus D1S80 en varias poblaciones del estado Zulia, Venezuela.

Characterization of the D1S80 locus in several populations of the Zulia State, Venezuela

L. Pineda Bernal, C. Castillo, L. Borjas-Fajardo, W. Zabala, E. Fernández, M. Chin, K. Escalona, M.A. Sánchez, A. Socca

Laboratorio de Genética Molecular. Unidad de Genética Médica. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia

RESUMEN

Como parte de un estudio para describir la variabilidad genética en la región del Zulia, un estado al noroeste de Venezuela, en este trabajo se ha estudiado el locus hipervariable D1S80 en individuos nativos de cuatro diferentes poblaciones de ese estado, tres de ellas, predominantemente caucasoides y una amerindia. El Índice de Fijación, *F_{st}*, reveló diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas y las distancias genéticas fueron también significativas entre todas las poblaciones excepto entre dos de las poblaciones de origen caucásico. Los resultados indican la utilidad del locus D1S80 para evaluar la contribución étnica diferencial de poblaciones mezcladas.

PALABRAS CLAVE

D1S80, índice de fijación, población mezclada.

ABSTRACT

As a part of a research to describe the genetic variability in Zulia State, at the north-west of Venezuela we have studied the hypervariable locus D1S80 in individuals natives in four different populations in that region, three of them Caucasian derived and one, from an Amerindian tribe. The Fixation Index, *F_{st}*, reveals important differences among populations studied and the genetic distances were significantly different, except between two of the Caucasian derived populations. The results indicate the utility of D1S80 locus to evaluate differential ethnic contribution of mixed populations.

KEY WORDS

D1S80, Fixation Index, mixed population

INTRODUCCIÓN

El locus D1S80 es un minisatélite que se localiza en el extremo distal del brazo corto del cromosoma 1 (1p35-p36) y presenta una segregación codominante. (7). Está constituido por una unidad básica de 16 pb, que se repite en forma variable dependiendo del alelo, desde 14 hasta 41 repeticiones, con un rango de tamaño alélico que varía entre 387 pb y 1000 pb. Diversos estudios poblacionales sobre este locus han llevado a la conclusión de que el locus D1S80 puede ser usado para discriminar entre grupos raciales y subpoblaciones, y en la identificación de poblaciones que se originan de contribuciones genéticas diversas (2, 3, 4, 5, 8)

El Estado Zulia, en la costa noroeste de Venezuela está conformado en toda su extensión por poblaciones que muestran una gran variabilidad étnica que no es más que el producto del mestizaje diferencial como consecuencia de la colonización europea, a partir de 1499. (6).

En esta investigación se realiza un estudio de la diversidad intra e interpoblacional de cuatro muestras de poblaciones zulianas a través del locus D1S80.

MATERIAL Y METODOS

El material estuvo constituido por 673 personas de ambos sexos, nativos de cuatro localidades diferentes: Maracaibo, localizado en la costa noroccidental del

Correspondencia: Lennie Pineda Bernal
Lab. de Genética Molecular. Universidad de Zulia. Maracaibo, Venezuela.
Correo electrónico: lenniepineda@cantv.net.

Lago de Maracaibo; Isla de Toas, isla ubicada al norte, en la intersección del Golfo de Venezuela y el Lago de Maracaibo; La Villa del Rosario, al suroeste de Maracaibo, todas con fenotipo caucásico amerindio, y la cuarta, de la etnia amerindia Wayuu, de extracción Arawaka, al noroeste del Estado Zulia. En cada población, al interrogatorio, las personas eran no emparentadas. Tanto la extracción de ADN como la amplificación por PCR del D1S80 fueron realizadas por técnicas descritas previamente en la literatura. La caracterización genotípica se realizó en geles de poliacrilamida y coloración argéntica, comparando las bandas con la escalera comercial específica del locus. El análisis genético poblacional fue realizado con el programa Arlequín e incluyó: cálculo de frecuencias alélicas, prueba de equilibrio de Hardy y Weinberg, diversidad génica o heterocigosis, el Índice de diferenciación génica o índice de fijación (Fst), obtenido a través del AMOVA (Análisis de Varianza Molecular) y la distancia genética entre las poblaciones analizadas, así como su significación estadística. (1).

DISCUSION

El número de alelos encontrado en las cuatro poblaciones varió de 9 para Wayuu y 23 para Maracaibo. Las frecuencias de los alelos 18 y 24 fueron las más altas en las cuatro poblaciones, sin embargo, éstas variaron marcadamente entre ellas. El alelo 18 osciló entre 0.26 y 0.64, correspondiendo el menor valor para Maracaibo y el mayor para la etnia Wayuu; así mismo, el alelo 24, presentó su menor frecuencia, 0.16 en La Villa del Rosario y la mayor para Isla de Toas, 0.32. (Fig 1). Las heterocigosis observadas oscilaron entre 0.80 para Maracaibo e Isla de Toas, 0.75 para la Villa y 0.55 para la muestra Wayuu. Todas las poblaciones se encon-

traron en equilibrio de Hardy y Weinberg. La comparación de las distribuciones de las frecuencias alélicas para este locus en relación a grupos raciales principales muestra que Maracaibo e Isla de Toas tienen patrones similares a los encontrados en poblaciones derivadas de europeos y derivadas de éstos, mientras que La Villa de Rosario y la muestra poblacional Wayuu, se asemejan más a poblaciones amerindias. En términos globales, el Fst entre poblaciones fue de 3.85, indicando diferencias entre ellas con relación a este locus, y a la vez, una gran variabilidad intrapoblacional. (Fig 2). Las distancias genéticas, en términos de Fst por pares de poblaciones, a excepción de Maracaibo e Isla de Toas, fueron todas significativamente diferentes, obteniéndose la mayor distancia entre Maracaibo y la muestra de la etnia Wayuu.

Los resultados obtenidos en este trabajo constituyen un aporte al conocimiento de la composición genética del Estado Zulia. De manera similar, a lo reportado por la literatura para grupos raciales principales, poblaciones o subpoblaciones en el mundo, utilizando marcadores genéticos clásicos o de ADN, la mayor variabilidad genética de este locus es generada por variabilidad intrapoblacional y un componente menor a diferencias entre las poblaciones comparadas (Fst: 3.85), indicando la utilidad de este locus para estudios de diversidad genética poblacional y de poblaciones mezcladas. Así mismo, localmente, fue posible encontrar semejanzas y/o diferencias para este locus entre las poblaciones analizadas y que son el reflejo del origen de cada una de ellas, su evolución histórica y particularidades geográficas. Este trabajo corrobora la utilidad de este locus para estudios poblacionales que intenten

demostrar la estrecha relación de los factores genéticos y socioculturales para definir las características actuales de la región zuliana.

REFERENCIAS

1. ARLEQUIN ver 2.000. A software for population genetics data analysis. <http://anthro.unige.ch/arlequin>.
2. Bortolini, M.C.; Castro de Guerra, D.; Salzano, F.M. and Azevedo Weimer, T. (1995). Inter and intrapopulation genetic diversity in Afro-Venezuelan and African populations. *Interciencia* 20: 90-93.
3. Budwole, B.; Baechtel, F.S.; Smerick, J.B.; Presley, K.W.; Giusti, A.M.; Parsons, G.; Alevy, M.C. and Chakraborty, R. (1995). D1S80 population data in African Americans, Caucasians, Southeastern Hispanics, Southwestern Hispanics and Orientals. *J. Forensic Sci.* 40(1): 38-44.
4. Deka, R.; DeCroo, S.; Jin, L.; McGarvey, S.T.; Rothhammer, F.; Ferrell, R.E. and Chakraborty, R. (1994). Population genetic characteristics of the D1S80 locus in seven human populations. *Hum. Genet.* 94: 252-258.
5. Duncan, G.; Thomas, E.; Gallo, J.C.; Baird, L.S.; Garrison, J. and Herrera, R.J. (1996). Human phylogenetic relationship according to the D1S80 locus.
6. Fuenmayor; W. Atlas del Estado Zulia. Síntesis socio histórica y cultural. E. Splanos CA. (2.000)
7. Nakamura, Y.; Carlson, M.; Krapcho, K. And White, R. (1988). Isolation and Mapping of a Polimorphic DNA Sequence (pMCT118) on chromosome 1p (D1S80). *Nucleic Acids Research* 16: 9364.
8. Pineda, L.P.; Castro-Guerra, D.; Villasmil, M.G. and Borjas-Fajardo, L. (2000). VNTR locus D1S80: Application to the study of a mixed Venezuelan sample. *Am. J. Hum. Biol.* 12(5): 616-622.
9. Vallinoto, A.C.R.; Cayres-Vallinoto, I.M.V.; Zago, M.A.; Santos, S.E.B. and Guerreiro, J.F. (1998). D1S80 polymorphism in Amerindians from the Amazon region of Brazil. *Human Biology* 70(3): 507-516.

FIGURA 1. DISTRIBUCION DE LAS FRECUENCIAS ALÉLICAS DEL LOCUS D1S80 EN DIVERSAS POBLACIONES DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA.

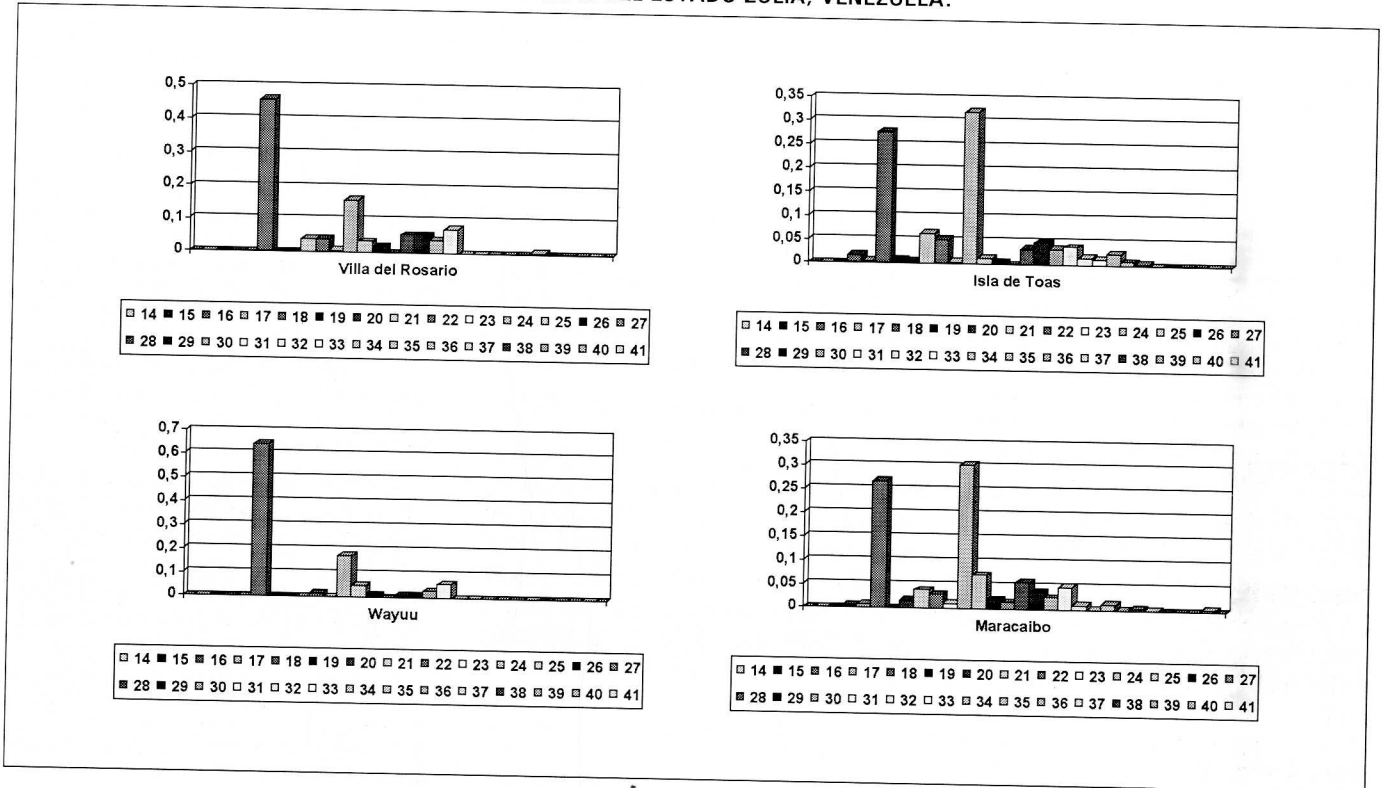


FIGURA 2. EL LOCUS D1S80 EN CUATRO POBLACIONES ZULIANAS. VENEZUELA: ANALISIS DE VARIANZA MOLECULAR

Fuente de Variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	3	13.018	0.01570	3.85
Dentro de poblaciones	1342	526.250	0.39214	96.15
Total	1345	539.267	0.40784	

Indice de Fijación Fst: 0.0385 (p<0.01)

'Locus-specific brackets' como alternativa às escadas alélicas na designação de genótipos em locos STR: Uma avaliação preliminar.

Locus-specific brackets as an alternative to allelic ladders in genotype assignment in STR locus typing: preliminary evaluation

V.A.C.Negreiros e M.R.Whittle

Genomic Engenharia Molecular Ltda, São Paulo, Brasil

RESUMEN

O uso de escadas alélicas é considerado obrigatório na designação correta de genótipos de locos STR em identificação humana e em testes de paternidade. Descrevemos nossa avaliação inicial de uma nova abordagem para designar alelos de locos STR baseada no conceito de *locus-specific brackets* (LSBs). Estes são alelos verdadeiros gerados no laboratório cujos tamanhos flanqueiam aqueles observados em populações humanas. Comparamos o uso dos LSBs com o nosso sistema de amplificação de locos STRs, que dependem de escadas alélicas, e encontramos resultados favoráveis no primeiro.

PALABRAS CLAVE

loci STR; escaleras alélicas; genótipos

ABSTRACT

The use of allelic ladders is considered indispensable in human identification and parentage testing to designate correctly the genotypes after STR loci amplification. We describe our preliminary evaluation of a novel approach to STR allele assignment which uses the concept of locus-specific brackets (LSBs). These are true alleles generated in vitro whose sizes flank those of the alleles seen in human populations. We compare the use of the brackets with that of our own STR multiplexes which rely upon allelic ladders, and demonstrate that LSBs are a welcome alternative to the ladders.

KEY WORDS

STR loci; genotyping; allelic ladders.

INTRODUCCIÓN

O uso de escadas alélicas é considerado indispensável na identificação humana e em exames de paternidade para designar corretamente os genótipos após amplificação de locos STR. Os genótipos são atribuídos comparando os tamanhos dos fragmentos obtidos nas amostras com aqueles das escadas. Além do uso de escadas alélicas, é necessário também um padrão interno de peso molecular marcado com um fluoróforo que é adicionado à cada amostra.

Avaliamos o uso de uma nova abordagem de designar os alelos de locos STR que é baseada no conceito de *locus-specific brackets* (LSBs), disponibilizado no kit Oligomark™ Multiplex I da empresa *Oligotrail*, na qual os 13 locos STR do CODIS e a amelogenina são analisados. Os LSBs são verdadeiros alelos gerados in vitro cujos tamanhos flanqueiam aqueles observados na população humana. Portanto eles podem ser usados para definir corretamente os alelos encontrados nas amostras, bem como podem ser utilizados como padrão interno de peso molecular. Sendo assim, os LSBs dispensam o uso do padrão interno disponibilizando um fluoróforo para a análise multi-componente de fluorescência.

Neste trabalho comparamos a utilização dos LSBs com nosso sistema de amplificação de locos STR que depende de escadas alélicas para análise, e mos-

Correspondencia:
Rua Itapeua 500/5AB. 01332-903 Sao Paulo, Brasil
Correo electrónico: mwhittle@genomic.com.br

tramos que os LSBs são uma alternativa desejável na determinação correta de genótipos.

MATERIAL Y METODOS

Extração de DNA genômico: Discos, diâmetro 2 mm, de papel FTA (*Whatman*) contendo sangue humano foram extraídos conforme protocolo do fabricante.

PCR: *Multiplex I e II*. Neste sistema desenvolvido «in house» são necessários 2 tubos de reação para amplificação dos 19 locos STR e amelogenina. Em cada reação, os locos STRs são amplificados a partir de um disco de papel FTA acrescidos dos Multiplex I e II, e demais reagentes usuais necessários à reação de PCR. *Oligomark™ Multiplex I kit*. Na reação de amplificação, para cada amostra, é utilizado 1/3 do disco de papel FTA acrescidos dos reagentes contidos no kit, conforme o protocolo do fabricante.

Eletroforese e análise: *Multiplex I e II*. Aos amplicons e às escadas alélicas são adicionados o padrão interno de peso molecular (GS-500 ROX, *ABI*), e posteriormente estas misturas são submetidas à eletroforese em poços individuais no sequenciador automático *ABI Prism 377*. A análise dos fragmentos encontrados é feita através dos softwares *Genescan* e *Genotyper (ABI)*. *Oligo-*

mark™ Multiplex I kit. Após a amplificação, às amostras são acrescidos aos LSBs deste kit e esta mistura é aplicada em poços individuais no sequenciador automático *ABI Prism 377*. O alinhamento e análise destes fragmentos serão feitos utilizando o software *Genescan (ABI)* cujos dados são exportados para o programa *Oligocode™ DNA Analysis v 1.2*.

DISCUSION

O *Oligomark™ Multiplex I kit* é desenhado para amplificar 1 ng de DNA genômico. Este kit contém:

- Uma mistura de primers (marcados com fluoróforos) para amplificar os locos CODIS e o loco da amelogenina em uma reação PCR multiplex.
- Uma mistura dos LSBs para todos os locos.
- Um DNA controle de genótipo conhecido.

Como exemplo dos resultados obtidos, mostramos os genótipos de um trio em exame de paternidade com os quatro fluoróforos: FAM, JOE, TAMRA e ROX:

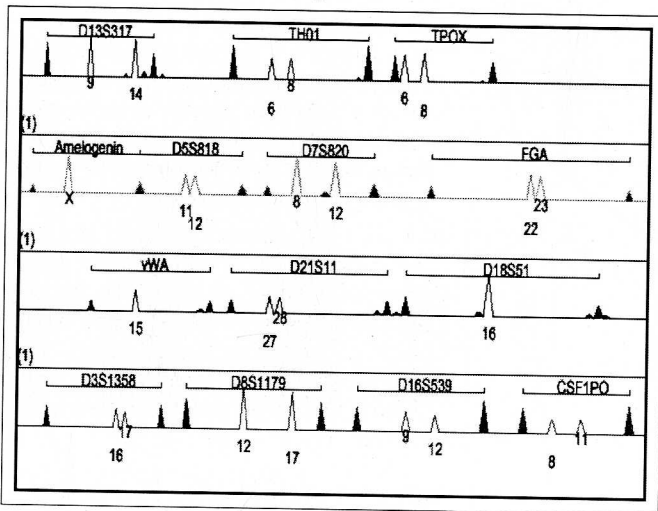
Fizemos análises comparando os resultados obtidos utilizando os LSBs e as escadas alélicas, e não encontramos diferenças nos genótipos. Por outro

lado, a designação dos genótipos era significativamente mais rápida usando os LSBs do que empregando os macros que acompanham os kits *ProfilerPlus / CoFile (ABI)* e *PowerPlex 16 (Promega)*. Será necessário realizar mais estudos para confirmar que o uso dos LSBs é uma melhor alternativa ao uso das escadas alélicas em rotina (Bär *et al.*, 2000; Frégeau *et al.*, 1999; Smith, 1995). Além disso, o número de locos STR estudados no *Oligomark™ Multiplex I kit* deverá ser aumentado para a utilização em alguns casos específicos de investigação de vínculo genético de filiação, como por exemplo, aqueles onde a mãe biológica não participa.

REFERENCIAS

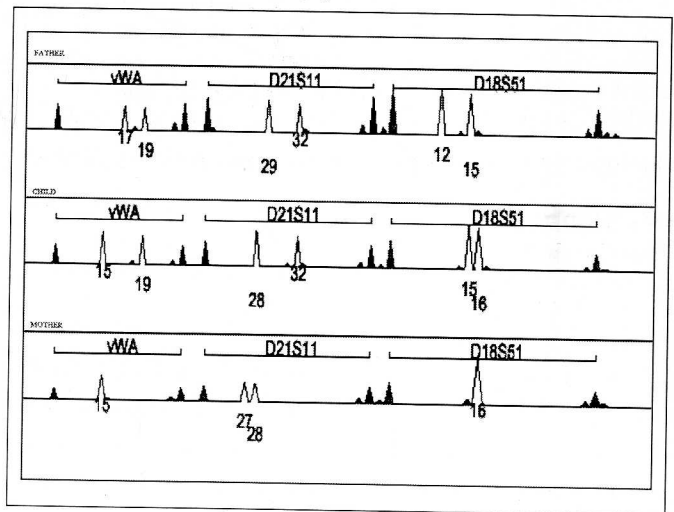
1. Bär W, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Gill P, Holland M, Lincoln PJ, Mayr W, Morling N, Olaisen B, Schneider PM, Tully G, Wilson M (2000) DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Int.J.Legal Med.* **113**:193-196.
2. Frégeau CJ, Bowen KL, Fourney RM (1999) Validation of highly polymorphic fluorescent multiplex short tandem repeat systems using two generations of DNA sequencers. *J.Forensic Sci.* **44**:133-166.
3. Smith RN (1995) Accurate size comparison of short tandem repeat alleles. *BioTechniques* **18**:122-128.

Figura 1.



Nesta figura, os alelos de cada loco são flanqueados por um LSB de menor e de maior tamanho; os alelos são determinados usando os próprios LSBs como padrão, no mesmo poço do gel (ou capilar). Deste modo, a calibração dos tamanhos é mais precisa e o uso de um padrão interno de peso molecular, como GS-500 ROX, é desnecessário.

Figura 2.



Na figura acima é mostrado os genótipos obtidos com um trio (suposto pai, filho e mãe), com o compartilhamento dos alelos entre os três indivíduos.

Influencia de la base de datos utilizada sobre el índice de paternidad

Paternity index in studies developed in Venezuela. Use of native allelic frequencies versus foreign ones

Maritza Alvarez¹, Raúl Ferreira², Anna Chiarello¹, Miguel Marrero¹,
Anabel Arends³, Yelitza Zambrano¹

1. Laboratorio Genomik, Maracay, Venezuela,

2. Laboratorio de Genética Molecular, Hospital C.O. Hermanos Ameijeiras, La Habana, Cuba,

3. Hospital Universitario, Caracas, Venezuela.

RESUMEN

Para evaluar las diferencias que puede motivar el empleo de distintas bases de datos en el cálculo del Índice de Paternidad (IP) obtenido en estudios de paternidad convencionales no excluyentes en la población central de Venezuela, se seleccionaron 30 estudios en los que se analizaron los mismos 9 marcadores STR y se calculó el IP a partir de tres bases de datos diferentes: la correspondiente a la población central de Venezuela y las reportadas por la firma PROMEGA para las poblaciones negroide e hispánica de EUA.

Los resultados obtenidos indican la conveniencia de utilizar la base de datos autóctona.

PALABRAS CLAVES

Índice Paternidad, estudio de paternidad.

ABSTRACT

In order to evaluate differences due to the use of different data bases for Paternity Index (PI) calculation in non-exclusion paternity studies developed in central region of Venezuela, 30 studies with the same 9 STR markers were selected and PI was calculated using three different data bases: the regional one and those reported by PROMEGA corresponding to black and Hispanic populations living in USA.

Our results support the convenience of using the native one.

KEY WORDS

Paternity Index, paternity study

INTRODUCCIÓN

En los estudios de Paternidad en los que no se demuestra la exclusión es recomendado realizar análisis probabilísticos que permitan evaluar la confiabilidad del resultado no excluyente, siendo el Índice de Paternidad (IP) el principal parámetro utilizado con estos fines, el cual es calculado a partir de la frecuencia que presentan en la población los alelos cuyo origen se atribuye al padre biológico (1).

No obstante, establecer las frecuencias alélicas en una población con anterioridad al empleo de los marcadores en los estudios de paternidad resulta costoso y requiere tiempo, por lo que es frecuente que los laboratorios establezcan sus bases de datos poblacionales sobre la marcha del trabajo y utilicen bases de datos foráneas mientras no dispongan de las propias.

Pero esta sustitución puede resultar perjudicial, principalmente cuando se realiza en poblaciones en las que se presenta un heterogéneo nivel de mezcla racial, pues no siempre es posible seleccionar como base de datos foránea de referencia una que sea representativa de la composición étnica del país.

En este trabajo comparamos los resultados obtenidos en un conjunto de estudios de paternidad convencionales realizados en la población de la región central de Venezuela cuando se utilizan las bases de datos propias y correspondientes a otras poblaciones.

Correspondencia: Maritza Alvarez
Correo electrónico: genomik@cantv.net

MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron seleccionados 30 estudios de paternidad no excluyentes conformados por el trío convencional (Madre, Hijo, Supuesto Padre) en los que el componente racial negroide estaba presente. En cada estudio se calculó el Índice de Paternidad (IP) (1) para cada uno de los marcadores analizados (TPOX, THO1, CSFFPO, FESPSP, F13A01A, wWA, D16S539, D7S820 y D13S317) y el IP Acumulado, tanto a partir de la base de datos de frecuencias alélicas para estos marcadores confeccionada por nuestro Laboratorio (integrada por 400 individuos de la población residente en la región central de Venezuela, **BASE AUTÓCTONA**), como a partir de las bases de datos reportadas por la firma **PROMEGA** (2) para las poblaciones de origen africano (**BASE AFROAMERICANA**) y de origen hispano (**BASE HISPÁNICA**) residentes en Estados Unidos de Norteamérica. Para el cálculo de las Probabilidades de Paternidad (PP) de cada estudio se utilizó una probabilidad *a priori* de 0.5.

Se consideró como criterio suficiente para considerar concluido el estudio (criterio de cierre) el alcanzar una Probabilidad de Paternidad ≥ 0.9999 .

DISCUSIÓN

La comparación entre los valores de Índices de Paternidad Acumulados cal-

culados a partir de las diferentes bases de datos (expresada como el cociente entre los IP comparados, ver Leyenda de la Tabla) indica que en el 90% de los estudios se presenta un incremento del IP (cociente > 1) cuando se utiliza la base de **datos AFROAMERICANA** con respecto al empleo de la **AUTÓCTONA**.

Este incremento es de al menos un orden de magnitud (cociente > 10) en el 30% de los estudios. Al compararse los IP obtenidos a partir de las bases de datos **HISPÁNICA** y **AUTÓCTONA** se observa que en el 43% de los estudios se obtiene un valor mayor del IP a partir de la base de datos **HISPÁNICA** (cociente < 1) y en el 57% un valor mayor a partir de la base de datos **AUTÓCTONA** (cociente > 1), no siendo en ningún caso el incremento superior a un orden de magnitud.

Al compararse el empleo de las bases de datos en función de la posibilidad que ellas reportan de alcanzar el criterio de cierre del estudio ($PP \geq 0.9999$) (ver Tabla), se observa que en el 64% de los estudios el resultado hubiese sido el mismo independientemente de la base de datos utilizada. El nivel de coincidencia con el resultado obtenido con la base de datos **AUTÓCTONA** es mayor cuando se emplea la base de datos **HISPÁNICA** (87%) que con la **AFROAMERICANA** (74%).

También pudo comprobarse (datos no mostrados) que el 42% de los estudios

que no alcanzaron el criterio de cierre con la base de datos **AUTÓCTONA** hubiese sido concluidos si se utiliza la base de datos **AFROAMERICANA**, pero este valor es de sólo el 3 % para la base de datos **HISPÁNICA**.

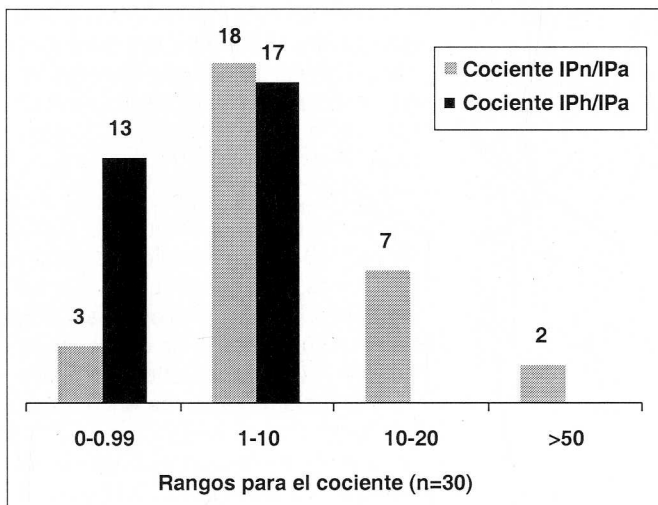
El análisis realizado indica que hay diferencias importantes cuando para analizar una población mestiza con componente negroide se utilizan bases de datos no autóctonas.

Estas diferencias son mayores cuando se emplea la base de datos **AFROAMERICANA** que la **HISPÁNICA**, a pesar del componente negroide presente en los individuos incluidos en el estudio. El empleo de la base de datos **AFROAMERICANA** tiende a permitir que se alcancen mayores valores de IP y, por tanto a que se alcance el criterio de conclusión del estudio más fácilmente, lo cual consideramos peligroso al exigir un menor número de marcadores a utilizar y al reportar mayores niveles de Probabilidad de Paternidad.

REFERENCIAS

1. Brenner, C. y J. Morris. Paternity index calculations in single locus hypervariable DNA probes: validation and other studies, p. 21-53. In Proceedings for the International Symposium on Human Identification 1989. Promega Corporation, Madison, WI
2. PROMEGA CORP. Gene Print STR Systems, Technical Manual TMD004 (revised 7/99)

FIGURA 1.



Distribución de los cocientes IPn/IPa (donde IPn representa los índices de paternidad Acumulados calculados a partir de la base de datos **AFROAMERICANA** (IPn) o **HISPÁNICA** (IPh) reportadas por la firma **PROMEGA** e IPa representa los índices de paternidad Acumulados calculados a partir de la base de datos **AUTÓCTONA** de nuestro laboratorio).

TABLA 1. COINCIDENCIA EN EL EMPLEO DE LAS DISTINTAS BASES DE DATOS PARA EL CIERRE DE LOS ESTUDIOS (CRITERIO DE CIERRE: $PP \geq 0.9999$)

Bases de datos comparadas	Todas permiten el cierre		Ninguna permite el cierre		Total de coincidencia	
	n	%	n	%	n	%
Las 3 Bases	8	27	11	37	19	64
Afroamericana (Promega) vs Autóctona	11	37	11	37	22	74
Hispanica (Promega) vs Autóctona	8	27	18	60	26	87

BDGen, base de datos y herramienta de análisis estadístico de patrones genéticos.

BDGen, statistical analysis tools and database software for genetic patterns

Gustavo G. Martínez^a, Bruno S. Vázquez^b, Ariel Vicentin^b y Laura E. Vázquez^a

^a Servicio de Genética Forense, Superior Tribunal de Justicia, Laprida 251, CP:3100, Paraná, Entre Ríos, Argentina.

^b SIMEDIC Bioingeniería, Av. Ramírez 2551, CP:3100, Paraná, Entre Ríos, Argentina.
ggmartinez@arnet.com.ar

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es describir un nuevo software a modo de banco de datos como herramienta de análisis de patrones genéticos para laboratorios de genética forense que utilizan sistemas de Short Tandem Repeats (STR's). Este se enmarca en el Programa de Mejora de Calidad llevado a cabo en Servicio de Genética Forense del Poder Judicial de Entre Ríos, Argentina, y reviste importancia en la necesidad de mejoras con el objeto de disminuir errores en el análisis estadístico de los datos genéticos obtenidos en este tipo de laboratorios. El enfoque a modo de banco de datos de este software lo hace de gran utilidad en la búsqueda de compatibilidad entre patrones genéticos de evidencias tipificadas en el laboratorio, y a su vez facilita la manera de llevar a cabo los cálculos necesarios para un informe pericial.

PALABRAS CLAVE

BDGen, STR, software, Argentina, calidad.

SUMMARY

The objective of this work is to describe a new database software like tool of analysis of genetic patterns for forensic genetics laboratories that use Short Tandem Repeats systems (STR's). It's framed in the Quality Improvement Program carried out in Service of Forensic Genetics of the Judicial Power of Entre Ríos, Argentina, and become important in the necessity of improvements in order to diminishing errors in statistical analysis of the genetic data obtained in this kind of laboratories. The focus by way of database of this software makes it of great utility in the search of compatibility among genetic patterns of typed evidences in the laboratory, and in turn facilitates the way to carry out the necessary calculations for an expert report.

KEY WORDS

BDGen, STR, software, Argentina, quality.

INTRODUCCIÓN:

Dada la gran cantidad de datos que se generan cotidianamente en un laboratorio de genética forense y la importancia que dichos datos poseen en función de las decisiones que se tomarán con ellos, resulta indispensable la aplicación de sistemas de gestión de calidad que permitan el control y los registros de todas las actividades que en el mismo se desarrollan. En este marco se conjugan el advenimiento continuo de nuevos desarrollos tecnológicos en las áreas técnicas, como la disposición de numerosos programas informáticos que plantean soluciones a las actividades de rutina, por ejemplo, las relacionadas con los cálculos de diversos índices estadísticos utilizados en la pericia.

La normas internacionales con formato ISO (International Organization for Standards) proponen un modelo de gestión orientado a objetivar la calidad real en base a procedimientos escritos y registros, en contraposición a la subjetividad que caracteriza al trabajo individual no organizado. Esta última, es quizás una de las causas de errores más frecuentes que se puede encontrar en cualquier tipo de organización. En el contexto de implementación de la Norma Internacional ISO/IEC 17025 (1999)¹, nuestro laboratorio tomó la iniciativa de crear una solución informática a la administración de los datos generados en el laboratorio que surgen del análisis de patrones genéticos, y el pre-

Correspondencia: Gustavo Martínez
Servicio de Genética Forense. Poder Judicial.
Laprida 250. C.P. 3100. Paraná. Entre Ríos. Argentina

sente trabajo pretende describir las características de dicha herramienta:

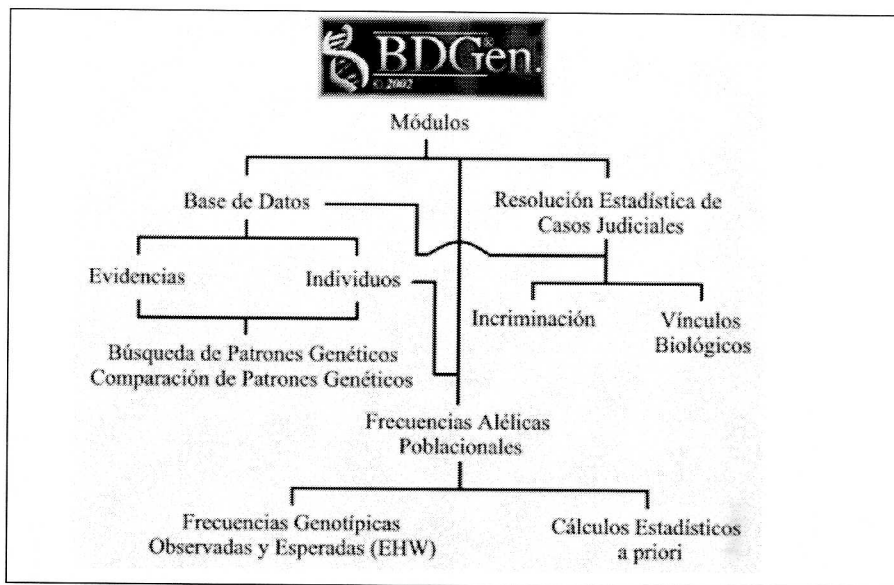
MATERIAL Y METODOS

El software BDGen se desarrolló completamente en lenguaje Delphi® (Borland International, Inc.), y para el mismo se plantearon los siguientes objetivos: 1. Formato amigable y compatible con entorno Windows® (Microsoft Corp.), 2. Utilidad como base de datos de evidencias forenses y sus patrones genéticos, 3. Posibilidad de hacer búsquedas y comparaciones de patrones genéticos, 4. Resolución estadística de índices forenses en causas de filiación e incriminación, 5. Herramienta de cálculo de frecuencias alélicas y genotípicas, y 6. Cálculo de índices forenses a priori.

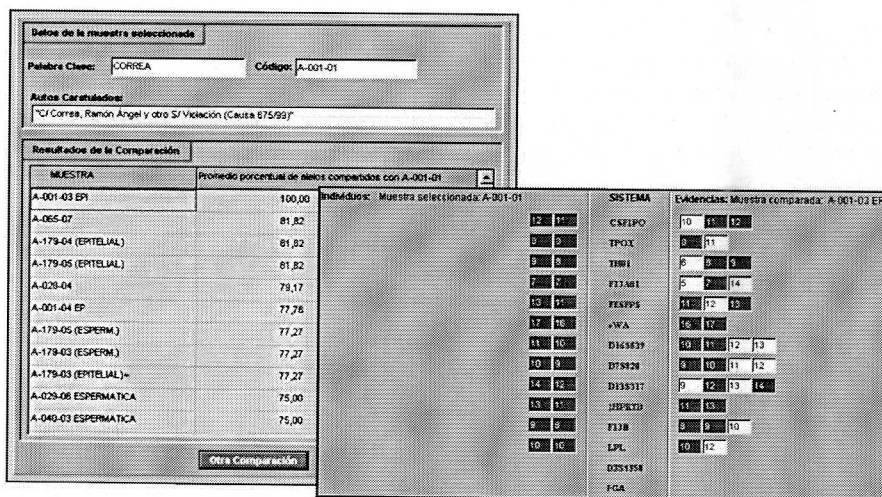
Los dos primeros objetivos se trataron de respetar utilizando un formato estándar de base de datos (Cuadro nº 1) a modo de fichas individuales para el almacenamiento de datos correspondientes a individuos y a evidencias forenses involucrados en la casuística del laboratorio. Estas dos bases de datos funcionan en paralelo lográndose una interacción ágil entre ambas y permitiendo de manera sencilla efectuar búsquedas cruzadas de compatibilidad entre patrones genéticos. Los resultados de estas búsquedas se muestran en orden de mayor a menor grado de compatibilidad alélica entre la muestra a comparar con las muestras que observan algún grado de correlación (Cuadro Nº 2).

La resolución estadística de los casos judiciales se efectúa de manera ágil seleccionando el tipo de caso (vínculo filial o incriminación) que se desea resolver, debido a que el programa reconoce la relación de cada muestra en la causa (Ej.: padre, madre, abuelo, hijo, imputado, víctima, etc.) y lleva los datos de sus patrones genéticos a los cálculos que correspondan. Las fórmulas utilizadas en dichos cálculos se basan en las recomendaciones publicadas por el Grupo de Trabajo de Estadística en Genética Forense del GEP-ISFG², y por las publicadas por el NRC II³.

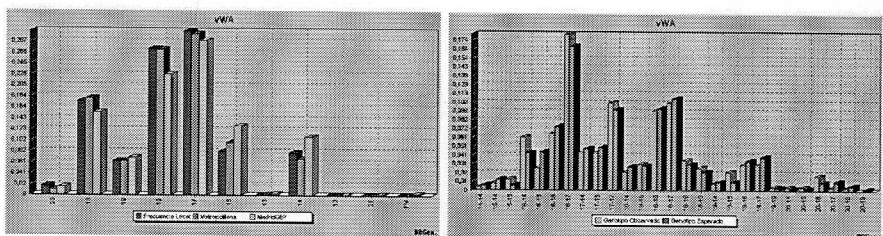
BDGen permite llevar a cabo cálculos de frecuencias alélicas y frecuencias genotípicas poblacionales, calculando las frecuencias genotípicas esperadas bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg y permitiendo incorporar bases de datos



Cuadro nº 1 Esquema que muestra el diagrama de trabajo utilizado por el soporte informático



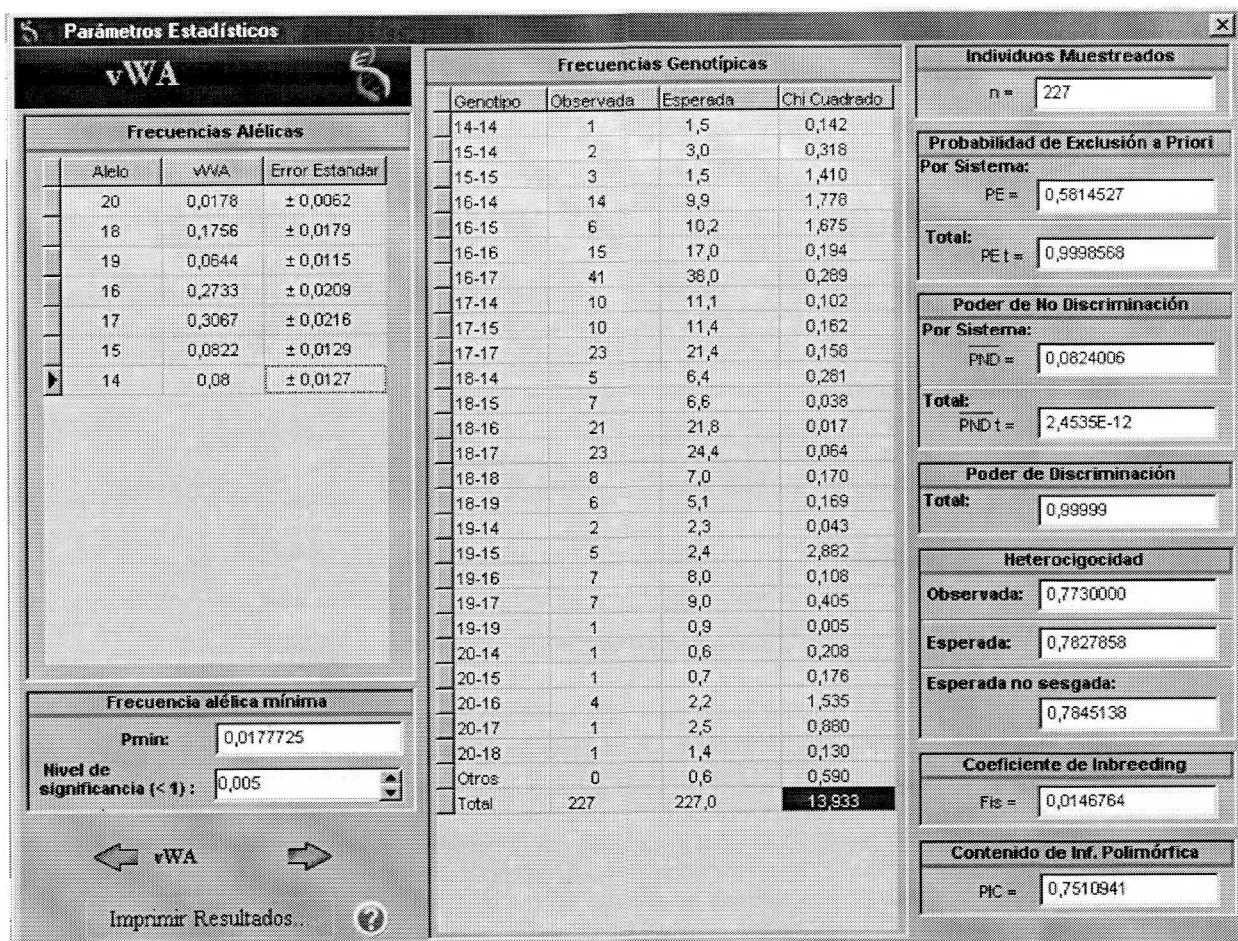
Cuadro nº 2 Búsqueda y comparación de patrones genéticos.



Cuadro nº 3 Gráfico de comparación entre distintas frecuencias alélicas (izquierda) y las frecuencias genotípicas esperadas y observadas (derecha)

de frecuencias poblacionales obtenidas en otros laboratorios o en estudios previos; esto último otorga la posibilidad de llevar a cabo los cálculos estadísticos con diferentes bases de datos de fre-

cuencias alélicas y hacer gráficos comparativos entre estas como se muestra en el Cuadro Nº 3. Adicionalmente se implementó la posibilidad de calcular frecuencias haplotípicas de STR's pre-



Cuadro nº 1
Esquema que muestra el diagrama de trabajo utilizado por el soporte informático

sentes en cromosoma Y, así como la posibilidad de incorporar dichas frecuencias de otras bases de datos.

Como herramienta adicional, se implementó la posibilidad de obtener ciertos parámetros estadísticos a priori de los sistemas polimórficos utilizados, con el objeto de adquirir una visualización rápida del potencial de los mismos en las pericias realizadas, los cuales se pueden observar en el Cuadro nº 4.

DISCUSIÓN:

el soporte informático descrito en este trabajo, desarrollado en el sentido de mejora en la administración de los

datos generados en un laboratorio que lleva a cabo estudios de genética forense, ha cumplido sobradamente las expectativas que se enmarcaron en sus objetivos y constituye una herramienta poderosa al momento de resolver estadísticamente las pericias en la materia. Al contemplar todos los aspectos básicos necesarios para resolver dichos casos judiciales, y hacerlo de una manera ágil y amigable para el usuario, este programa constituye una excelente plataforma de partida para futuros desarrollos que se puedan adicionar en relación a cálculos de mayor complejidad, en los cuales actualmente se está trabajando. Por estas características, podemos con-

cluir que el objetivo de mejora en la administración de datos contemplado en la implementación de un programa de mejora continua de la calidad, se ha podido cumplir y se puede seguir avanzando en la implementación de la resolución de casos de mayor complejidad.

REFERENCIAS

[1] ISO/IEC 17025 (1999). "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories".
 [2] <http://www.gep-isfg.org>
 [3] National Research Council. The Evaluation of Forensic DNA Evidence. National Research Council, National Academy Press, Washington, DC, 1996.

Concordancia entre perfil genético en zona externa de preservativo y víctima.

Genetic profile matching between victims and outer surface of preservatives

D Solá, R.Fernández, E. Ramírez, A. Pifarré y JL Valverde.

*Instituto Nacional de Toxicología. Servicio de Biología. Ministerio de Justicia. Barcelona. España.
biolog@bcn.inaltox.es*

RESUMEN

Se analizó la fracción no espermática de la zona externa de tres preservativos procedentes de tres asuntos no relacionados entre sí, de supuesta agresión sexual. Los perfiles genéticos obtenidos fueron posteriormente cotejados con el perfil genético de la víctima correspondiente a cada caso, con el fin de comprobar la compatibilidad existente. El estudio de los perfiles genéticos dió, en dos de los asuntos investigados, como resultado la ausencia de concordancia entre las zonas externas de los preservativos y sus víctimas. Se concluye que la recogida y conservación correcta de las muestras así como la aportación de una información más completa de las circunstancias de los hechos son cruciales para obtener resultados satisfactorios. (No más de 100 palabras)

PALABRAS CLAVE

Violación, preservativos, perfiles genéticos

SUMMARY

En casos de supuesta agresión sexual en la que ha sido utilizado un preservativo, las células "no espermáticas" que puedan hallarse en la zona externa de dicho preservativo son objetos de análisis, con el fin de ser cotejadas con el perfil genético de la víctima. Esto nos ayuda a conocer, por una parte, si pudo haber penetración, sobre todo en el caso de no haber detectado espermatozoides o restos espermáticos en los vestigios de la víctima analizados y, por otra parte, si existió intención de inculpar a alguien o bien se produjo algún error en la recogida de las muestras.

KEY WORDS

Rape, preservatives, genetic profiling

MATERIAL Y METODOS

Material

Se analizó la fracción no espermática de la zona externa de tres preservativos procedentes de tres asuntos no relacionados entre sí. Los perfiles genéticos obtenidos fueron posteriormente cotejados con el perfil genético de la víctima correspondiente a cada caso, con el fin de comprobar la compatibilidad existente. La víctima del primer asunto era de sexo masculino, mientras que las víctimas del segundo y tercer asunto eran de sexo femenino.

Método

En el primer y tercer asuntos, el ADN de referencia, correspondiente a las víctimas, se extrajo a partir de sangre y en el segundo asunto a partir de un hisopo vaginal.

El ADN de la zona externa de cada preservativo se extrajo mediante lisis diferencial, que nos separó los espermatozoides del resto de células no espermáticas.

El ADN obtenido a partir de cada muestra y de sus fracciones fue tipado mediante los Kits Amplitype Profiler Plus y Cofiler (Applied Biosystems), que incluyen un total de 13 marcadores polimórficos del tipo STR más un marcador determinante del sexo situado en el gen de la amelogenina humana. La detección de los alelos para los diferentes marcadores genéticos polimórficos fue realizada mediante electroforesis

Correspondencia: D. Solá
Sección de Biología. Instituto de Toxicología. Departamento de Barcelona
Merced, 1. 08002 Barcelona
Correo electrónico: dacil.sola@mju.es

capilar automática en condiciones desnaturalizantes, utilizando un analizador de fragmentos genéticos ABI PRISM 310.

Finalmente se cotejaron los perfiles genéticos obtenidos para las fracciones no espermáticas de la zona externa de cada preservativo y el perfil de la víctima correspondiente.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el primer caso (ver tabla) nos indican que el perfil genético del preservativo 1 (fracción no espermática de la zona externa) no coincidió con el perfil genético obtenido a partir de la sangre 1 (muestra indubitada de sexo masculino).

Este hecho también se manifestó en el tercer caso en el que, además, el perfil genético del preservativo 3 (fracción no espermática de la zona externa) lo constituyó una mezcla de material genético. El perfil genético mayoritario obtenido a partir de dicha mezcla no era compatible con el perfil genético de la sangre 3 (muestra indubitada de sexo femenino), en el cual se observaron exclusiones en cuatro de los marcadores estudiados.

En definitiva, el estudio de los perfiles genéticos dio, en ambos casos, como resultado la ausencia de concordancia entre las zonas externas de los preservativos y sus víctimas. Esta falta de concordancia hace pensar que, o bien dichos preservativos no se utilizaron con las víctimas, o bien en la existencia de algún error en la recogida de las muestras. De aquí se deriva que este punto (de recogida de muestras) es crucial en la cadena de custodia, así como la conservación adecuada de las muestras hasta la llegada al laboratorio y la aportación de una información más completa de las circunstancias de los

TABLA						
Marcador	Preservativo 1	Sangre 1	Preservativo 2	Hisopo vaginal	Preservativo 3	Sangre 3
D3S1358	15/17	17/18	15/16	15/16	15/16/17	16/18
vWA	15	16/18	16/19	16/19	14/17/16	14/17
FGA	21/26	19/24	23	23	19/21/23	21/23
Amelogenina	XY	XY	X	X	XY	X
D8S818	11/12	11/13	10/11	10/11	12/14	14/15
D21S11	28/32.2	29	28/31.2	28/31.2	28/30/32.2	30/31
D18S51	12/14	14/17	14/19	14/19	13/15/17	19
D5S818	10/12	12/13	11	11	12	11
D13S317	11/12	8/11	8/12	8/12	9/10/11/12	9/12
D7S820	10/11	11/13	8/9	8/9	9/10/11	8/9
D16S539	9/13	11	11	11	9/11/13	8/10
HUMTH01	9/9.3	6	9.3	9.3	6/8/9	9.3
HUMTPOX	8/11	8/11	8/11	8/11	8/10/12	8/11
HUMCSF1PO	10/11	10/11	10/12	10/12	11/12/13	11

- Preservativo 1:** Fracción no espermática de la zona externa de preservativo del asunto 1
- Sangre 1:** Sangre indubitada de víctima de sexo masculino del asunto 1.
- Preservativo 2:** Fracción no espermática de la zona externa de preservativo del asunto 2.
- Hisopo vaginal 2:** Hisopo con muestra vaginal del asunto 2.
- Preservativo 3:** Fracción no espermática de la zona externa de preservativo del asunto 3.
- Sangre 3:** Sangre indubitada de víctima de sexo femenino del asunto 3.

hechos, para la obtención de unos resultados satisfactorios.

Por último, en el segundo asunto, el perfil genético obtenido del preservativo 2 (fracción no espermática de la zona externa) coincidió con el perfil genético del hisopo con muestra vaginal (muestra de referencia de la víctima).

En este caso se confirma la concordancia de los perfiles genéticos entre la parte externa del preservativo y la víctima, se concluiría con el cálculo de la probabilidad de encontrar en la población a un individuo que presente idéntico perfil genético, para los marcadores genéticos analizados, con el obtenido en la sangre de la víctima.

REFERENCIAS

Sambrook, J *et al.* *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd edtion. Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1989.
 Gill P. y cols 1985. *Nature* 318:577-579.
 Quantiblot (Human DNA quantitation Kit) Perkin-Elmer Corporation.

AmplifISTR Profiler Plus and Cofiler. PCR Amplification Kit. Applied Biosystems.

DNA commision of the ISFH (1992). Report concerning recommendations of the DNA Commision of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of DNA polymorphisms. *Int J Leg Med* 104:361-364.

DNA Commision of the ISFH (1992). Recommendations of the DNA commision of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Int J Leg med* 105:63-64.

Editorial (1994) DNA recommendations 1994 report concerning further recommendations of DNA Commision of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (Short tandem repeat) systems. *Forensic Sci Int* 69:103-104.

Editorial (1997) DNA recommendations-further report of the DNA Commision of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems *Forensic Sci Int* 87:179-184.

Extensión máxima de cada artículo 4 páginas tamaño A4, incluyendo los cuadros y gráficos.

Delitos sexuales: relevamiento de las solicitudes de cotejo durante el 2001.

Sexual offenses: relevance of comparison requests for 2001

Gomez MA, Monzani M, Colussi AG, Arrechea ME, Lojo MM.

Servicio de Análisis Comparativo de ADN, Asesoría Pericial La Plata, Dirección General de Asesorías Periciales, Suprema Corte de Justicia de la Provincia de Buenos Aires.
Calle 41 y 119 La Plata. CP1900. Argentina. FAX: 54-221-4229105
magomez@fcv.unlp.edu.ar

RESUMEN

El Laboratorio de Inmunogenética es un organismo dependiente de la Suprema Corte de Justicia de la provincia de Buenos Aires.

Durante el año 2001 ingresaron 295 pedidos de delitos sexuales, abarcando violaciones (41,4%), violaciones agravadas (18,7%), violaciones seguidas de muerte (2,2%), abuso sexual (28,4%), abuso deshonesto (7,2%) y estupro (2,1%). En un 22% las víctimas fueron menores. En un 34% el autor permanece desconocido.

En el 45% del total de los casos analizados, se observó correspondencia entre el genotipo detectado en las evidencias y el imputado, mientras que un 20 % resultaron exclusiones.

Como conclusión del relevamiento surge la necesidad de implementar una base de datos.

PALABRAS CLAVE

delito sexual, violacion, STR`s

SUMMARY

The Forensic Laboratory is an organism dependent on The Supreme Court of Justice of the Bs As province.

During the year 2001 we received 295 cases of sexual crimes, including rapes (41.4%), rape with increase penalty (18.7%), rapes followed by death (2.2%), sexual abuse (28.4%), child molesting (7.2%), and rape against a person younger than 16 years (2.1%).

A 22% of the victims were minors (To the argentinian law a person is a minor until they have reached the age of 21).

In a 34% of the cases, the author is unknown. A 45% of all the analysed cases, the detected genotype on the evidences and the suspect matched. A 20% did not match.

In conclusion, the investigation requires the construction of database.

KEY WORDS

sexual crime, rape, STR's

INTRODUCCION:

El análisis de los polimorfismos de ADN con fines forenses representa un método de identificación ampliamente conocido y utilizado desde el año 1985 (Gill P et al, 1985). En el caso de delitos sexuales, el estudio de las evidencias puede permitir la obtención del perfil genético del o de los agresores. El empleo de esta información probaría la inocencia o culpabilidad de un individuo sospechoso. La fuerza del resultado obtenido es de tal magnitud que su valor es muy importante en todos los sistemas de administración de justicia, independientemente del país que este-mos considerando.

Este trabajo, realizado en la Dirección General de Asesorías Periciales de la Suprema Corte de Justicia de la Provincia de Buenos Aires, Argentina, se describe el estudio de 295 casos de delitos sexuales que alcanzaron la instancia de solicitud de análisis comparativo de ADN, durante el año 2001.

La metodología empleada incluyó protocolos tradicionales para la obtención de ADN purificado, cuantificación y análisis de polimorfismos en STRs para la tipificación de las muestras.

Objetivos: a-Analizar y clasificar los delitos sexuales ingresados durante el año 2001.

b-Estudiar la composición en sexo y edad de las víctimas.

Correspondencia:

Correo electrónico: magomez@fcv.unlp.edu.ar

c-Análisis e interpretación de los resultados obtenidos de las pericias realizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de muestras:

Se tomaron muestras sanguíneas de imputados y víctimas. Y las muestras tomadas como evidencia se trataban de hisopados anales, vaginales, bucales, prendas con manchas de fluidos biológicos y filamentos pilosos.

Toma y preparación de las muestras:

Las muestras sanguíneas fueron extraídas por punción digital y colocadas en tarjetas FTA classic card,; las extracciones de ADN se realizaron según protocolo de rigor.

En el caso de los hisopados anales, vaginales, bucales y prendas, las muestras consideradas evidencias fueron seleccionadas en el laboratorio de Inmunohematología en base a los resultados de PSA y Fosfatasa ácida prostática para el hallazgo de semen y la determinación de sangre de origen humano.

Las extracciones de ADN de las muestras post-coitales se realizaron por lisis diferencial según protocolo (Manual Perkin Elmer Cetus User Guide 3.7, Singer-Sam J et al 1989; Walsh S et al 1991)

La extracción de ADN de los filamentos pilosos se realizó por lisis en condiciones alcalinas (NaOH 200 mM) a 99 °C durante 15 minutos y posterior neutralización con Tris HCl 500 mM pH 8,5).

Las extracciones post-lisis son purificadas en columnas QIAamp de QIAGEN, y cuantificadas.

Las genotipificación se realizó utilizando los kits Profiler plus, Cofiler plus e Identifier (Applied Biosystems, USA 2001). Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis capilar (Equipo ABI prism 310- Applied Biosystem).

Los cálculos estadísticos se realizaron siguiendo los protocolos y los lineamientos establecidos por SWGDAM (Scientific Working Group on DNA Analysis Methods)(Evet et al.1998)

RESULTADOS Y DISCUSION:

Durante el año 2001 ingresaron 590 pedidos de los cuales un 50% correspondió a delitos sexuales, abarcando violaciones (41,4%), violaciones agravadas (18,7%), violaciones seguidas de

muerte (2,2%), abuso sexual (28,4%), abuso deshonesto (7,2%) y estupro (2,1%) (Figura 1). En un 22% las víctimas fueron menores. En los casos en que la víctima fue de sexo masculino (10%) el 53% fueron menores. Por otro lado, para las víctimas femeninas el porcentaje de menores de edad fue mucho menor (19%). (Tabla 1)

tamos aún con sistema de base de datos para ingresar los perfiles genéticos de las evidencias. En el 17% de los casos no se ha podido cumplimentar aún el cotejo, por no contar con la muestra de sangre del imputado.

En el 45% del total de los casos analizados, se observó correspondencia

TABLA 1: DISTRIBUCION DE SEXOS Y EDAD EN LA POBLACION DE VICTIMAS

Femeninas		Mascullinos	
Mayores	Menores	Mayores	Menores
72,9 %	17,1%	4,7 %	5,3%

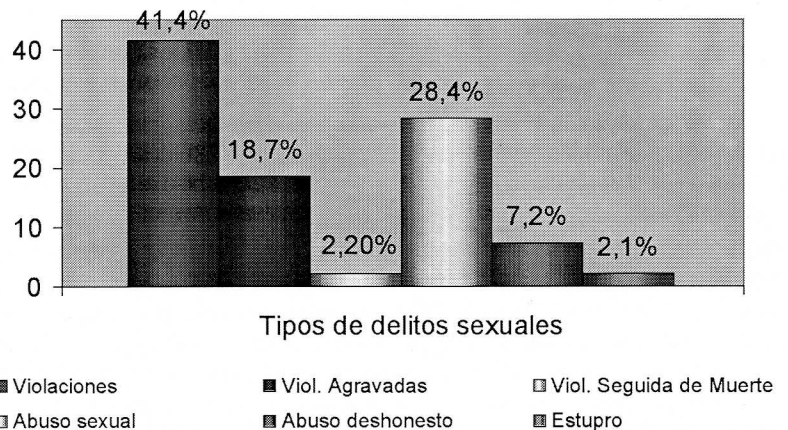


Figura 1: Distribución porcentual de los tipos de delitos sexuales ocurridos en la provincia de Buenos Aires durante el año 2001.

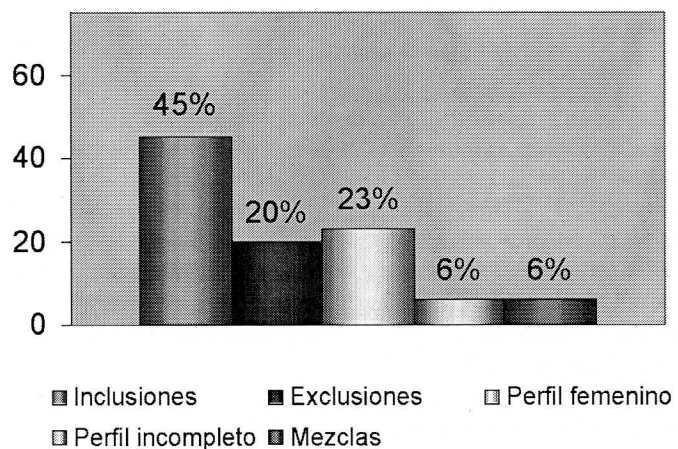


Figura 3: Resultados obtenidos expresados en porcentajes.

De los 295 pedidos en la investigación de delitos sexuales, un 34% correspondió a casos con autor desconocido. En estos casos el material a analizar fue dejado en guarda debido a que no con-

entre el genotipo detectado en las evidencias y el imputado, mientras que un 20 % de los informes periciales producidos resultaron exclusiones. En un 23% de los estudios se recuperó solamente

el perfil genético de la víctima (en su mayoría la evidencia correspondía a hisopados anales y/o vaginales). En el 6% de los cotejos se obtuvieron perfiles masculinos incompletos y en el 6 % restante los resultados fueron mezclas de contribuyentes masculinos (violaciones múltiples, relaciones previas al hecho).(Figura 3)

Como conclusión del relevamiento realizado surge la necesidad de implementar una base de datos que permita la investigación de los casos no resueltos lo que considerando las exclusiones abarcan un 44% del total.

En la Asesoría Pericial Departamental La Plata la principal causa de pedido de tipificación de ADN corresponde a delitos sexuales.

Las figuras penales atribuibles a cada circunstancia varía ampliamente, siendo más numerosos los casos de violaciones, abuso sexual y violaciones agrava-

das. Con menor incidencia aparecen las violaciones seguidas de muerte, el estupro y los abusos deshonestos.

Las víctimas mujeres representan el 90% de la población de víctimas de abusos sexuales (1 de cada 4 víctimas es menor de edad)

Las víctimas masculinas representan el 10% de la población de víctimas de abusos sexuales, siendo 1 de cada 2 víctimas menor de edad.

El 71% de los pedidos recibidos pudo ser resuelto utilizando la metodología descripta, considerando inclusiones, exclusiones y mezclas.

La implementación de una base de datos de perfiles genéticos permitiría la investigación de los casos no resueltos, que representan el 49% pedidos incluyendo las exclusiones, obtención de perfil femenino y el perfil incompleto.

AGRADECIMIENTOS: se agradece la colaboración de la Dra Elisa Pozzi y la Dra. Patricia Percow quienes hicieron posible la realización del presente relevamiento.

REFERENCIAS:

Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. 1985. Forensic application of DNA fingerprints. *Nature* 318: 577-579.

Singer-Sam J, Tanguay RL, Riggs A. 1989. Use of CHELEX to improve the PCR signal from a small number of cells. *Amplifications: A Forum for PCR Users* 3:11.

Walsh S, Metader DA, Higuchi R. 1991. CHELEX 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Bio Techniques* 10:506-513.

Applied Biosystems AmpFISTR® Identifier PCR amplification kit. User's Manual, 2001, Applied Biosystems.

Secuencias de la HVRI del mtDNA en poblaciones de Valencia y Baleares.

HVRI mtDNA in Valencia and Balearic populations

Picornell A., Gómez-Barbeito L., Tomàs C., Castro J.A., Ramon M.M.

*Laboratori de Genètica. Departament de Biologia.
Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca. Illes Balears*

RESUMEN

Se ha analizado el DNA mitocondrial (mtDNA) de 231 individuos no relacionados y autóctonos de las islas Baleares y Valencia. La isla de Ibiza resultó la población más homogénea y Valencia fue la más variable. La baja diversidad de haplotipos mitocondriales detectada en Ibiza y en Chuetas indican un efecto fundador, así como diversos cuellos de botella poblacionales que han sufrido las dos poblaciones. Los resultados ponen de manifiesto la necesaria prudencia en el momento de utilizar las secuencias de mtDNA en el análisis de filiación e identificación de restos en estas poblaciones.

PALABRAS CLAVE

Valencia, Islas Baleares, HVRI del mtDNA, secuenciación.

SUMMARY

The DNA mitochondrial (mtDNA) of 231 non-related and autochthonous individuals of the Balearic islands and Valencia has been analyzed. The island of Ibiza turned out to be the most homogeneous population and Valencia was the most variable. The low diversity of mitochondrial haplotypes detected in Ibiza and in Chuetas, indicated a founder effect, as well as diverse populational bottlenecks that both populations have suffered. The results demonstrate the necessary prudence in the moment to use the sequences of mtDNA in the analysis of filiation and identification of remains in these populations.

KEY WORDS

Valencia, Balearic islands, HVRI mtDNA, sequencing

INTRODUCCIÓN

El análisis de secuencias del mtDNA es un método actual y con una aplicación muy eficiente a los estudios evolutivos y forenses. Ello es debido al alto nivel de polimorfismo que presenta la región control y al alto número de copias de la molécula de mtDNA que encontramos en cada célula. La herencia materna y la ausencia de recombinación son aspectos específicos de esta molécula que permiten establecer comparaciones matrilineales entre individuos vivos, así como la identificación de restos humanos. Se han establecido bases de datos de secuencias de mtDNA en varias poblaciones, principalmente europeas, que permiten conocer las frecuencias de los distintos haplotipos. Pero la alta frecuencia de haplotipos específicos detectados en cada población, la comprobación de que el número de haplotipos existente se incrementa con el aumento de los datos, y la ausencia de recombinación en la molécula que podría afectar a la identidad por probabilidad, recomiendan ampliar al máximo y en el plazo más breve posible, los datos sobre el polimorfismo del mtDNA en las poblaciones.

MATERIAL Y METODOS

Fueron analizados 231 individuos no emparentados pertenecientes a la población autóctona de Mallorca, Menorca, Ibiza, Chuetas y Valencia. El DNA fue extraído a partir de un protocolo

Correspondencia: A. Picornell
Laboratori de Genètica. Dpto. Biología. Ctra. Valdemosa, km. 7,5. 07122 Palma de Mallorca
Correo electrónico: apicornell@uib.es

lo estándar de fenol/cloroformo. El DNA fue amplificado mediante *primers* específicos de la región HVRI. El producto fue purificado (Qiaquick PCR purification kit) y posteriormente secuenciado (Big Dye Terminator kit). Se secuenciaron 406 pb entre la posición 15996 y la 16401 de la región HVRI, mediante un ABI Prism 310. Las secuencias fueron analizadas mediante el programa *sequencing Analysis 2.0*. La relación entre haplotipos fue establecida con el programa TCS. Las distancias *pairwise* entre haplotipos permitieron la elaboración de un árbol entre poblaciones con el programa PHYLIP.

DISCUSION

Cada secuencia define un haplotipo y hemos detectado 127 distintos, definidos por 92 posiciones variables. De estos haplotipos, algunos son únicos y otros compartidos entre las distintas poblaciones estudiadas. En la Figura 1 se indica con un máximo de 6 pasos mutacionales, la relación entre los distintos haplotipos. Adicionalmente se indica el haplogrupo en el que están comprendidos estos haplotipos.

El número y la frecuencia de los haplotipos resultó variable entre las poblaciones estudiadas, siendo la isla de Ibiza, la población más homogénea muestreada con solo 19 haplotipos, 26 sitios polimórficos y 8 haplotipos únicos. Valencia fue la población más variable con 39 haplotipos, 50 sitios polimórficos y 31 haplotipos únicos. De los resultados obtenidos podemos deducir los valores de la capacidad discriminatoria, que alcanzó un valor de 92.86% en Valencia y sólo de 38% en la Isla de Ibiza. Las poblaciones de Menorca, Mallorca y Chuetas presentaron valores intermedios, decrecientes en el orden indicado (Tabla 1).

La diversidad génica obtenida osciló entre 0.995 (Valencia) y 0.937 (Chuetas). El cálculo de la probabilidad de que dos individuos no relacionados presenten la misma secuencia se estableció en el margen entre 2.8 en Valencia y 9.6 en Ibiza (Tabla 1).

Es interesante resaltar de los resultados obtenidos, la baja diversidad de haplotipos mitocondriales detectada en la isla de Ibiza y en la comunidad Chuerta. Pueden ser responsables de ello, un marcado efecto fundador, junto con los

TABLA 1. PARAMETROS DE DIVERSIDAD DE LAS SECUENCIAS DE BALEARES Y VALENCIA.

	Mallorca	Menorca	Ibiza	Chuetas	Valencia
N	45	46	50	48	42
K	31	35	19	28	39
A	40	40	26	41	50
CD	68.89%	76.09%	38.00%	58.33%	92.86%
GD	0.957± 0.022	0.987± 0.007	0.938± 0.014	0.937± 0.025	0.995± 0.006
p	0.011± 0.006	0.011± 0.006	0.009± 0.005	0.011± 0.006	0.011± 0.006
Pi	4.765± 2.373	4.802± 2.388	3.838± 1.963	4.710± 2.346	4.555± 2.284
P	7.0%	3.4%	9.6%	8.2%	2.8%

N = número de individuos; K = número de haplotipos; A = número de sitios polimórficos; CD = capacidad de Discriminación; GD = diversidad génica; p = diversidad nucleotídica; Pi = diferencias nucleotídicas medias pairwise; P = probabilidad de que dos individuos no relacionados compartan la misma secuencia.

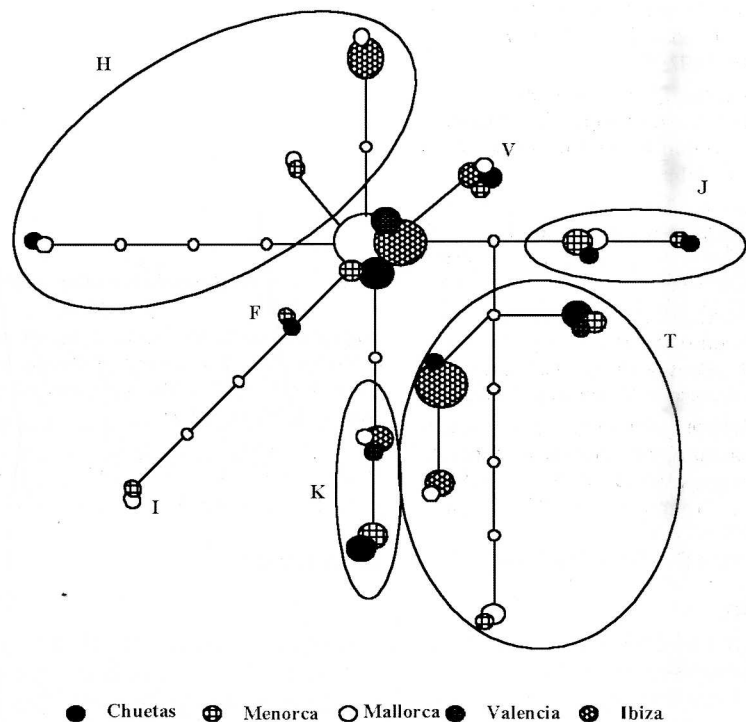


Figura 1.- Network de los haplotipos mitocondriales compartidos en las poblaciones insulares Baleares y en Valencia. Las letras indican los correspondientes haplogrupos.

diversos cuellos de botella poblacionales, que han sufrido las dos poblaciones.

Al comparar las poblaciones estudiadas con datos procedentes de la bibliografía mediante el método de las distancias *pairwise*, se obtuvo el árbol indicado en la Figura 2. En él se puede ver la proximidad de la población Chuerta a la población de Oriente Medio, confirmando, así, el origen judío de esta población. Además, se observa la separación de la población de Ibiza del resto de las poblaciones baleares, apoyando un efecto fundador diferencial de esta población (fundada por los cartagineses según datos históricos) o un efecto de

deriva genética, originado por reducciones en el tamaño efectivo de la población.

Estos procesos se reflejan en una reducción de la capacidad de discriminación de este marcador en estas dos poblaciones y además la probabilidad de que dos individuos no emparentados compartan la misma secuencia se ve claramente incrementada en estas poblaciones.

Estos resultados ponen de manifiesto la necesaria prudencia en el momento de utilizar la secuencia de la region hipervariable I del mtDNA en el análisis

de filiación, y en la identificación de estas poblaciones.

REFERENCIAS

Brakez, Z., Bosch, E. & *et al.* (2001) Human mitochondrial DNA sequence variation in the Moroccan population of the Souss area. *Ann. Hum. Biol.* 28, 295-307.

Cali, F., Le Roux, M.G. & *et al.* (2001) MtDNA control region and RFLP data for Sicily and France. *Int. J. Legal Med.* 114, 229-231.

Crespillo, M., Luque, J.A. & *et al.* (2000) Mitochondrial DNA sequences for 118 individuals from north-eastern Spain. *Int. J. Legal Med.* 114, 130-132.

Di Rienzo, A. & Wilson, A.C. (1991) Branching pattern in the evolutionary tree for human mitochondrial DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 88, 1597-1601.

Salas, A., Comas, D. & *et al.* (1998) mtDNA analysis of the Galician population: a genetic edge of European variation. *Eur. J. Hum. Genet.* 6, 365-375.

Tagliabracci, A., Turchi, C. & *et al.* (2001) Polymorphism of the mitochondrial DNA control region in Italians. *Int. J. Leg. Med.* 114, 224-228.

Figura 1.- Network de los haplotipos mitocondriales compartidos en las poblaciones insulares Baleares y en Valencia. Las letras indican los correspondientes haplogrupos.

Figura 2. Árbol filogenético NJ de las secuencias mitocondriales que incluye las poblaciones de Baleares y Vascos: Salas *et al.* (1998); NE España: Crespillo *et al.* (2000); Italia: Tagliabracci *et al.* (2001); Sicilia: Cali *et al.* (2001); Marruecos: Brakez *et al.* (2001); Galicia: Salas *et al.* (1998); Oriente Medio: Di Rienzo & Wilson (1991)

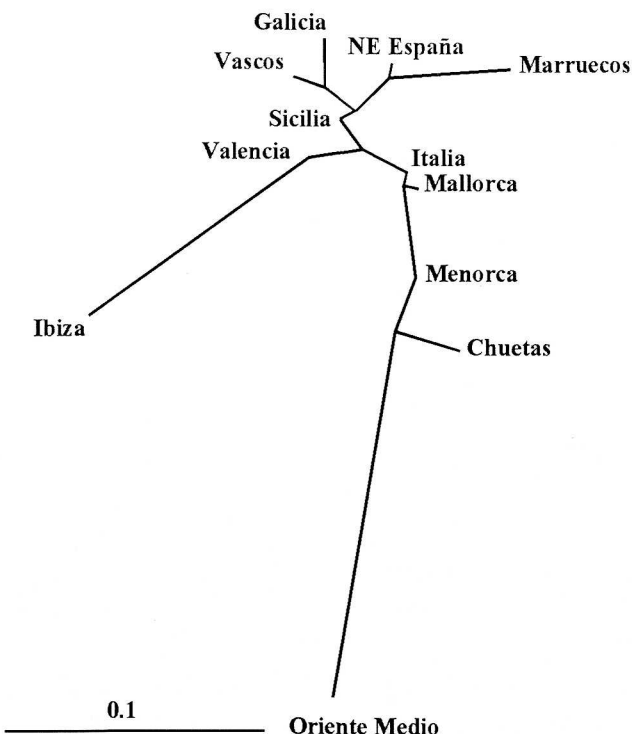


Figura 2. Árbol filogenético NJ de las secuencias mitocondriales que incluye las poblaciones de Baleares y Vascos: Salas *et al.* (1998); NE España: Crespillo *et al.* (2000); Italia: Tagliabracci *et al.* (2001); Sicilia: Cali *et al.* (2001); Marruecos: Brakez *et al.* (2001); Galicia: Salas *et al.* (1998); Oriente Medio: Di Rienzo & Wilson (1991)

Tagliabracci *et al.* (2001); Sicilia: Cali *et al.* (2001); Marruecos: Brakez *et al.* (2001); Galicia: Salas *et al.* (1998); Oriente Medio: Di Rienzo & Wilson (1991)

Variabilidad haplotípica del cromosoma-Y en una población descendiente de judíos mallorquines (chuetas).

Y-chromosome haplotypes in descendants of majorcan jews (chuetas).

Picornell A., Jiménez G., Castro J.A., Ramon M.M.

Laboratori de Genètica. Departament de Biologia. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca. Illes Balears
apicornell@uib.es.

RESUMEN

El objeto del estudio fue analizar en los Chuetas (descendientes de judíos mallorquines), los STR del cromosoma-Y del denominado «haplotipo mínimo» y el polimorfismo YAP. Conjuntamente se analizaron poblaciones de su entorno geográfico y poblaciones judías. Los resultados indicaron una reducida capacidad de discriminación en los Chuetas. Por otra parte, los Chuetas presentaron una clara similitud con las poblaciones judías, especialmente con los sefarditas. Este resultado contrasta con la mezcla previamente observada, a nivel de marcadores autosómicos y mitocondriales y refleja, por tanto, una mayor contribución paterna de la población judía original al *pool* genético de la población chuenta actual.

PALABRAS CLAVE

Chuetas, Baleares, cromosoma Y, haplotipo mínimo

SUMMARY

The object of the study was to analyze in the Chuetas (descendants from Majorcan Jews), the STR of the Y-chromosome of the so called «minimal haplotype» and the YAP polymorphism. Moreover, we analyzed populations of its geographical environment and Jewish populations. The results indicated a reduced capacity of discrimination in the Chuetas. On the other hand, the Chuetas presented a clear similarity with the Jewish populations, specially with the sephardics. This result contrasts with the previous observed mixture in autosomic and mitochondrial markers and reflects, therefore, a higher paternal contribution of the Jewish original population to the genetic pool of the present Chueta population.

KEY WORDS

Chuetas, Balearic Islands, Y-chromosome, minimal haplotype.

INTRODUCCION

Las poblaciones judías han sido estudiadas desde un punto de vista genético, en un intento de descifrar lo que debe ser un complejo sistema de interrelaciones entre estas comunidades y sus vecinos no-judíos, con quienes han convivido durante la Diáspora. Los resultados han sido controvertidos en relación a la proporción de mezcla con los no-judíos. En Mallorca, se encuentra un grupo de descendientes de los judíos sefarditas que habitaron España hasta el siglo XV, son los llamados «Chuetas», que a pesar de su conversión al cristianismo, han permanecido socialmente aislados del resto de la población hasta fechas recientes. Estudios realizados con marcadores autosómicos, han mostrado la diferenciación genética de los Chuetas, situándolos en una posición intermedia entre las poblaciones no-judías de su entorno geográfico y las poblaciones judías (mezcla aproximada del 50%). Los *short tandem repeats* o STR son un grupo de marcadores altamente polimórficos que, desde su descripción a finales de los ochenta, se han utilizado ampliamente como marcadores poblacionales, forenses y clínicos. Concretamente, los STR del cromosoma Y detectan diferencias en la dinámica poblacional materna/paterna y también tienen aplicaciones en genética forense.

MATERIAL Y METODOS

Se han estudiado un total de 289 muestras: 46 hombres chuetas, 168 de poblaciones del entorno geográfico

Correspondencia: A. Picornell
Laboratori de Genètica. Dpto. Biologia. Universitat de les Illes Balears
Ctra. Valdemosa, km. 7,5. 07122 Palma de Mallorca
Correo electrónico: apicornell@uib.es

(Mallorca, Menorca, Ibiza y Valencia) y 75 individuos judíos (ashkenazíes, sefarditas, norte-africanos y orientales, procedentes de la colección de *The National Laboratory for the Genetics of Israeli Populations at Tel-Aviv University*). Se han determinado los siguientes 9 polimorfismos del cromosoma Y: DYS19, DYS385, DYS389 I / II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393 y DYS287 (YAP). Todos los loci fueron amplificados en un GeneAmp PCR System 2400 (PE Applied Biosystems), mediante una reacción *pentaplex* (DYS19, DYS389 I y II, DYS390 and DYS391, siguiendo el método de Gusmão *et al.*, 1999), una *duplex* (DYS385 y DYS392, siguiendo el método de Füredi *et al.*, 1999) y dos reacciones *singleplex* (DYS393 y DYS287). Los productos de PCR fueron analizados con un ABI 310 automatic sequencer (Perkin-Elmer) con el *software* GENESCAN 2.1 Analysis; excepto el sistema DYS393, que fue resuelto en PAGE (6%) en condiciones no-desnaturalizantes y el DYS287, en geles de agarosa al 2%. Los resultados fueron analizados mediante el paquete estadístico ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 2000).

DISCUSION

En la Figura 1 se muestran las frecuencias obtenidas para cada uno de los marcadores, en Chuetas, poblaciones baleares (*pooled*) y poblaciones judías (*pooled*). Se pueden observar diferencias claramente significativas entre los tres grupos de poblaciones. A nivel haplotípico, se encontraron en Chuetas sólo 24 haplotipos diferentes de un total de 43 (Tabla 1), con una probabilidad del 7%, aproximadamente, de que dos hombres chuetas no emparentados compartan el mismo haplotipo. Estos resultados indican un número claramente reducido de haplotipos en esta población, respecto a lo encontrado en otras, ya que en las poblaciones judías, por ejemplo, cada individuo pudo ser caracterizado por un haplotipo único. Esta

baja diversidad es un hecho a tener en cuenta en las aplicaciones de estos marcadores a la práctica forense, ya que conlleva una capacidad de discriminación muy baja (55.8%). Por otra parte, se debe indicar que el polimorfismo YAP no ha incrementado, en ninguna de las poblaciones estudiadas, la diversidad haplotípica.

Los haplotipos basados en estos 9 marcadores discriminan claramente entre poblaciones de origen judío y las poblaciones no-judías estudiadas, como se puede observar en la Figura 2. El grupo de las poblaciones baleares, junto con Valencia, muestra una gran semejanza genética. Los Chuetas, sin embargo, presentan una clara similitud con las poblaciones judías estudiadas, agrupándose en el *cluster* que incluye a estas poblaciones, en una posición muy próxima a la de los judíos sefarditas, de quienes descienden. Este resultado contrasta con la mezcla previamente observada a nivel de marcadores autosómicos (Picornell *et al.*, 1992,1997; Tomas *et al.*, 2000) y mitocondriales (Picornell *et al.*, 2003) y refleja, por tanto, una mayor contribución paterna de la población judía original en el *pool* genético de la población chuetas actual.

REFERENCIAS

Füredi, S.; Woller, J.; Pádár, Z.; Angyal, M. (1999). Y-STR haplotyping in two Hungarian populations, *Int. J. Legal Med.* 113: 38-42.
 Gusmão, L.; González-Neira, A.; Pestoni, C.; Brión, M.; Lareu, M.V.; Carracedo, A. (1999). Robustness of the Y STRs DYS19, DYS389 I and II, DYS390 and DYS393: optimization of a PCR pentaplex, *Forensic Sci. Int.* 106: 163-172.
 Picornell, A.; Castro, J.A.; Ramon, M.M. (1992). PI and TF subtypes in Chuetas (Majorcan Jews). *Hum. Hered.* 42: 321-323.
 Picornell, A.; Castro, J.A.; Ramon, M.M. (1997). Genetic of the Chuetas (Majorcan Jews): A Comparative Study. *Hum. Biol.* 69: 313-328.
 Picornell, A.; Gómez-Barbeito L.; Castro, J.A.; Ramon, M.M. (2003). Mitochondrial DNA HVRI variation in the Balearic and Valencian populations. *Enviado*.
 Schneider, S.; Roessli, D.; Excoffier, L. (2000). A Software for Population Genetics Data Analysis, Genetics and Biometria Laboratory, Arlequin Ver 2.000, University of Geneva, Switzerland.
 Tomàs, C.; Picornell, A.; Castro, J.A.; Ramon, M.M.; Gusmão, L.; Lareu, M. V.; Carracedo, A. (2000). Genetic variability at nine STR loci in the Chuetas (Majorcan Jews) and the Balearic populations investigated by a single multiplex reaction. *Int. J. Legal Med.* 113: 263-267.

TABLA 1.- PARAMETROS ESTADISTICOS DE LOS HAPLOTIPOS ESTUDIADOS.

POBLACIÓN	Nº INDIVIDUOS	Nº HAPLOTIPOS	DC(%)	HD ±SD
JUDIÓS				
Ashkenazies	14	14	100	1,000±0,027
Orientales	13	13	100	1,000±0,030
N. Africanos	23	23	100	1,000±0,013
Sefarditas	21	21	100	1,000±0,015
Pooled	71	71	100	1,000±0,002
CHUETAS				
	43	24	55,8	0,934±0,027
BALEARES				
Mallorca	51	42	82,4	0,988±0,008
Menorca	38	33	86,8	0,984±0,014
Pooled	89	74	83,1	0,988±0,006
Ibiza*	51	31	60,8	0,973±0,010
VALENCIA*	24	19	79,2	0,978±0,019

DC= Capacidad de discriminación. HD= Diversidad haplotípica. SD= Desviación estándar.
 * Basado en 7 polimorfismos (excluidos DYS385 y DYS392)

Estudio de 9 loci microsatélite en población residente en el País Vasco

Nine loci microsatellite study in human resident population in Basque Country

A. Castro¹, I. Fernández-Fernández¹, J.L. Rodríguez-Filgueira² and M. M. de Pancorbo²

1. *Datagene, Sangróniz 6, 48150 Sondika (Bizkaia).*

2. *Dpto. de Z. Dinámica Celular A., Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco, Vitoria-Gasteiz,*

RESUMEN

Se han analizado 9 loci STRs tetranucleotídicos D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 y D7S820 en la población residente en el País Vasco para poder aplicarlos a la Identificación Genética. Se han analizado 179 individuos y se han calculado sus frecuencias alélicas, el estado de equilibrio según la ley de H-W y la falta de ligamiento entre los loci estudiados, para así poder calcular los parámetros genético-forenses de probabilidad de exclusión «a priori» (Pex) y poder de discriminación (PD). Además se ha realizado la comparación con otras poblaciones previamente estudiadas.

PALABRAS CLAVE

STRs, Pex, PD, población vasca.

ABSTRACT

The tetranucleotide microsatellites D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 and D7S820 have been analysed in human resident population from Basque Country. All studied loci were according to Hardy-Weinberg equilibrium law except D5S818. The Pex and PD obtained values were 0.999 and 0.999999999858 respectively. Genetic distances with Caucasoid, Negroid and Mongoloid populations were calculated, showing that Basque resident population is similar to Caucasoids and validating the use of this data in Basque Country..

KEY WORDS

D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, Basque population.

INTRODUCCION

La población residente en el País Vasco está formada por tres grupos: individuos autóctonos, foráneos y descendientes de ambos grupos. La proporción de individuos autóctonos es muy reducida, pero se trata de un grupo que presenta características étnicas muy acusadas y un cierto grado de aislamiento genético. Cabe por tanto la posibilidad de que el conjunto de los individuos residentes en el País Vasco muestre algún sesgo con respecto a otras poblaciones caucasoides, lo que podría influir en las frecuencias alélicas de los marcadores que se utilizan en identificación genética. Para descartar esta posibilidad se han analizado 9 loci microsatélites (D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820), que son habitualmente utilizados en genética forense, en 179 individuos de la población residente en el País Vasco y se han comparado los resultados obtenidos con los previamente hallados en población vasca autóctona y otras poblaciones estudiadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestra Poblacional: se han analizado 179 muestras de saliva de individuos residentes en el País Vasco.

Amplificación y tipaje genético: el ADN extraído de cada muestra y purificado mediante fenol-cloroformo fue amplificado para los nueve loci STRs

Correspondencia: M.M. de Pancorbo
Dpto. de Z. y Biología Celular. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco
Paseo de la Universidad, 7. 01006 Vitoria-Gasteiz
Correo electrónico: gcpmagom@lg.ehu.es

más el gen de la amelogenina en un termociclador Perkin-Elmer 9600, usando el Kit de amplificación AmpFISTR Profiler Plus (Applied Biosystems). Los productos de PCR fueron separados mediante electroforesis capilar (ABI Prism 310 DNA Genetic Analyzer, Applied Biosystems) y analizado el tamaño de sus fragmentos.

Análisis de datos: se calcularon las frecuencias alélicas, el equilibrio de Hardy-Weinberg (1) y la independencia alélica entre los loci (2) usando el programa GENEPOP 2.0. Los parámetros genético-forenses de eficacia "a priori", Pex (3) y PD (4) se determinaron para cada loci individual y para la combinación de todos ellos. El análisis de independencia entre poblaciones se llevó a cabo mediante el test χ^2 , y su relación a partir de la distancia Chi-Cuadrado, representada mediante escalamiento multidimensional fue determinada con el programa SPSS9.0. El análisis de agrupamiento entre la población residente del País Vasco y otras poblaciones recopiladas en la bibliografía se efectuó utilizando Phylip 3.5 (Phylogeny Inference Package). Se efectuaron remuestreos aleatorios Bootstrap (1000 iteraciones) de las matrices de frecuencias génicas para el conjunto de los 9 loci analizados y a continuación, se calculó la matriz de distancia genética de Reynolds; tras el agrupamiento de las poblaciones según sus distancias utilizando UPGMA, se utilizó el programa Consense y la opción Treeview para obtener el dendrograma.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los loci analizados poseen un elevado grado de heterocigosidad que oscila entre 0.869 en el locus D18S51 y 0.716 en el locus D5S818. El análisis del estado de equilibrio según la ley de H-W muestra que todos los loci se encuentran en equilibrio excepto el locus D5S818 donde se observa un ligero defecto de heterocigotos, teniendo en cuenta que el resto de los loci analizados se hallan en equilibrio, y que el locus D5S818 no parece estar ligado a loci sometidos a selección, cabe suponer

que el desequilibrio hallado se debe al azar en la toma de muestras.

La probabilidad de exclusión "a priori" combinada de los 9 loci analizados alcanza el 0.9999 y el valor PD combinado es 0.999999999858. El valor de Pex obtenido indica que estos loci fracasan en excluir a 1 de cada 10.000 individuos falsamente acusados de paternidad, cifra que supera ampliamente el valor de Pex recomendado. Asimismo, el valor PD obtenido es muy alto, similar al que se observa en otras poblaciones e indica que la posibilidad de que dos individuos residentes en el País Vasco coincidan en sus genotipos combinados es muy reducida, de hecho cabe esperar tan sólo 5 coincidencias ya que la población es de aproximadamente 2.000.000 de habitantes.

Las comparaciones entre la población del País Vasco y otras poblaciones muestran diferencias estadísticamente significativas con algunas de las poblaciones caucasoides estudiadas aunque la comparación con otras poblaciones no caucasoides muestra un número de marcadores con diferencias estadísticamente significativas mucho más elevado. Los resultados de la comparación χ^2 se corresponden con los obtenidos en el análisis de escalamiento multidimensional, la varianza explicada es del 97.7% y el valor de "stress" es de 0.008 lo que indica que no hay una deformación muy grande en la representación de los datos que se muestra en la figura 1. La figura 1A muestra buena separación entre las poblaciones pertenecientes a distintos grupos raciales, quedando las poblaciones mongoloides separadas de las caucasoides por el eje X y las poblaciones negroides separadas por el eje Y. Las poblaciones caucasoides se muestran más dispersas cuando se procede al análisis de escalamiento multidimensional excluyendo a las poblaciones de los grupos raciales mongoloide y negroide (figura 1B).

El análisis filogenético (figura 2) muestra tres conglomerados de poblaciones correspondientes a los tres grupos raciales, en concordancia con la dis-

tribución de las poblaciones observada en la representación del análisis de escalamiento multidimensional (figura 1). Como puede observarse la población del País Vasco se sitúa en la proximidad de las poblaciones de habla hispana.

En conclusión, los resultados obtenidos muestran que los distintos grupos de población del País Vasco son homogéneos en cuanto a los marcadores microsatélites utilizados en genética forense y que las bases de datos genéticas obtenidas en este trabajo pueden utilizarse tanto si se trata de individuos autóctonos como foráneos.

Los marcadores analizados en este trabajo pertenecen al sistema CODIS, lo que facilita el contraste de datos en casos forenses entre el País Vasco y las bases de datos de otros países.

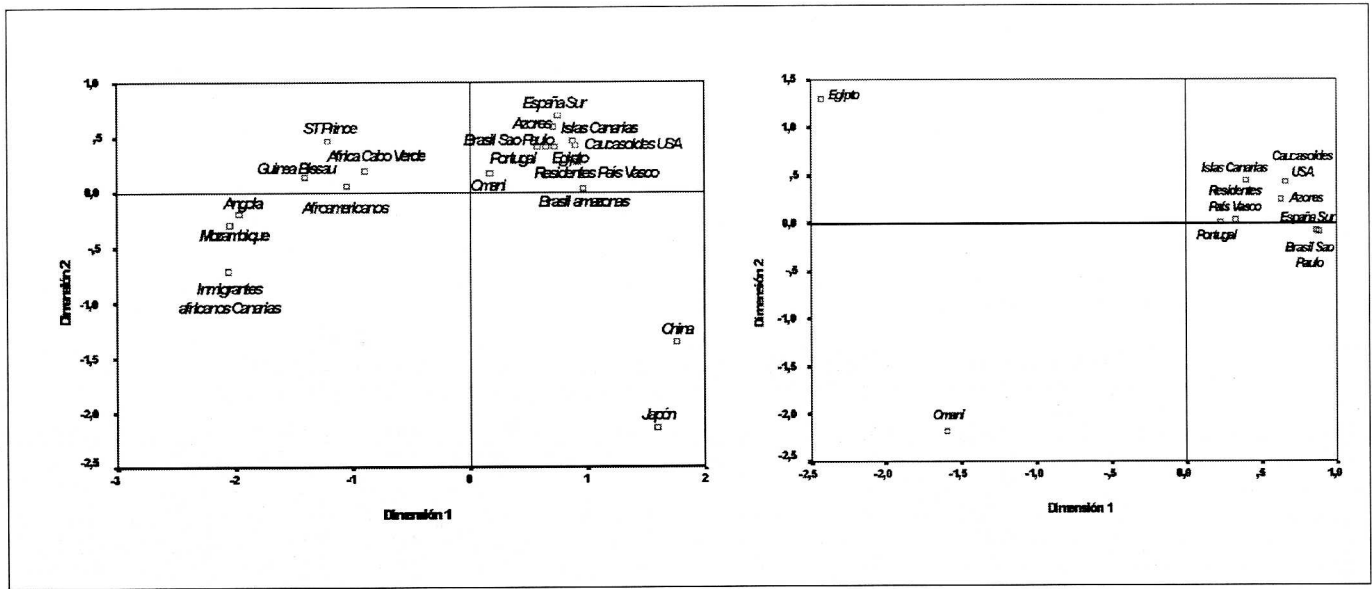
REFERENCIAS

1. Guo y Thompson, *Biometrics* 48: 361-372, 1992
2. Raymond y Rousset, *J. Heredity* 86:248-249, 1995
3. Smouse y Chakraborti, *Am. J. Hum. Genet.*, 38:918-939, 1986
4. Wong, *Ann. Hum. Genet.*, 51:269-288, 1987
5. Anjos *et al.*, *Progress in Forensic Genetics* 8:208-211, 2000.
6. Corte-Real *et al.*, *Progress in Forensic Genetics* 8:212-214, 2000
7. Gamero *et al.*, *Progress in Forensic Genetics* 8:224-226, 2000
8. Nakamura *et al.*, *Progress in Forensic Genetics* 8:236-238, 2000
9. Espinheira *et al.*, *Progress in Forensic Genetics* 8:230-232, 2000
10. Hou *et al.*, *Progress in Forensic Genetics* 8:242-244, 2000
11. Andrés *et al.*, *Progress in Forensic Genetics* 7:243-245, 2000
12. Klitschar *et al.*, *Forensic. Sci. Int.* 104:23-31, 1999
13. Tahir *et al.*, *Forensic. Sci. Int.* 109:81-85, 2000
14. Promega corporation, 1996
15. Garcia *et al.*, *Int. J. Legal Med* 111:162-164, 1998
16. García *et al.* *Forensic. Sci. Int.* 115:111-112, 2001

TABLA 1. FRECUENCIAS GÉNICAS DE LOS LOCI D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 Y D7S820 (N = 179) EN POBLACION RESIDENTE EN EL PAIS VASCO.

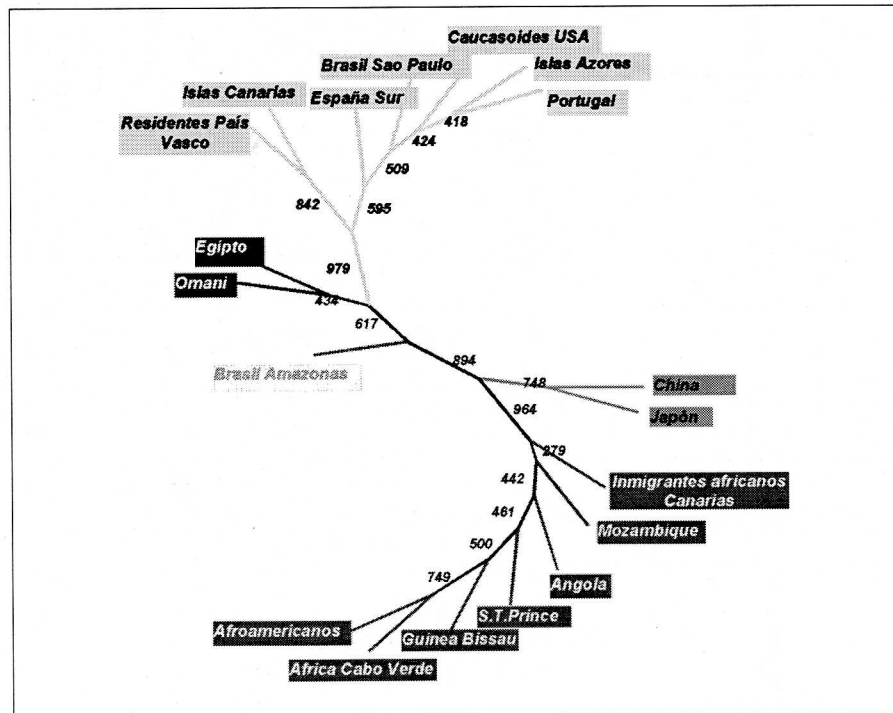
Alelos	D3S1358	VWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820
6	-	-	-	-	-	-	-	.00279	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	.01404
8	-	-	-	-	-	-	.00559	.19553	.15730
9	-	-	-	-	-	-	.01955	.06145	.14607
10	-	-	-	-	-	.00559	.09777	.06704	.28652
11	-	-	-	-	-	.01397	.34916	.25978	.21629
12	.00279	-	-	-	-	.16201	.36592	.27374	.14888
13	-	-	-	.01117	-	.12849	.14246	.10894	.02809
14	.10894	.10894	-	.00279	-	.21229	.01955	.02514	.00281
15	.27095	.17039	-	.07821	-	.13128	-	.00279	-
15-2	.00279	-	-	-	-	-	-	-	-
16	.23743	.28212	-	.07542	-	.11732	-	.00279	-
17	.17598	.23464	.00279	.14804	-	.07263	-	-	-
18	.19832	.16201	.01397	.29330	-	.08101	-	-	-
19	.00279	.03911	.06425	.24581	-	.03352	-	-	-
20	-	.00279	.12291	.11453	-	.02514	-	-	-
20-2	-	-	.00279	.03073	-	-	-	-	-
21	-	-	.17039	-	-	.01117	-	-	-
21-2	-	-	.00279	-	-	-	-	-	-
22	-	-	.17039	-	-	.00559	-	-	-
22-2	-	-	.00838	-	-	-	-	-	-
23	-	-	.15084	-	-	-	-	-	-
24	-	-	.16201	-	-	-	-	-	-
25	-	-	.08380	-	-	-	-	-	-
26	-	-	.03073	-	-	-	-	-	-
27	-	-	.01117	-	.01676	-	-	-	-
28	-	-	-	-	.12570	-	-	-	-
29	-	-	.00279	-	.21508	-	-	-	-
30	-	-	-	-	.27654	-	-	-	-
30-2	-	-	-	-	.03911	-	-	-	-
31	-	-	-	-	.03911	-	-	-	-
31-2	-	-	-	-	.08939	-	-	-	-
32	-	-	-	-	.00279	-	-	-	-
32-2	-	-	-	-	.13408	-	-	-	-
33	-	-	-	-	.00279	-	-	-	-
33-2	-	-	-	-	.05587	-	-	-	-
35	-	-	-	-	.00279	-	-	-	-

Figura 1.



(A) Representación de la distancia Chi-Cuadrado mediante escalamiento multidimensional: todos los grupos raciales. (B) Representación de la distancia Chi-Cuadrado mediante escalamiento multidimensional: poblaciones caucasoides

Figura 1.



Arbol filogenético a partir de la distancia de Reynolds y la formación de clusters mediante UPGMA.

Portugal, Azores (5), Angola (6), Brasil (6), Amazonas (6), Brasil S. Paulo (6), Cabo Verde (6), Guinea Bissau (6), Mozambique (6), S.T. Prince (6), Islas Canarias (7), inmigrantes africanos Islas Canarias (7), Japón (8), Africa Cabo Verde (9), China (10) España sur (11) Egipto (12), Omán (13), Afroamericanos y Caucasoides (USA) (14), Vascos autóctonos (15, 16)



Revista Oficial de la Facultad de Medicina
de la Universidad de Zaragoza