

# ARCHIVOS

de la Facultad de

# MEDICINA

de Zaragoza

Volumen 49

Núm. 1

Marzo 2009

## *Editorial*

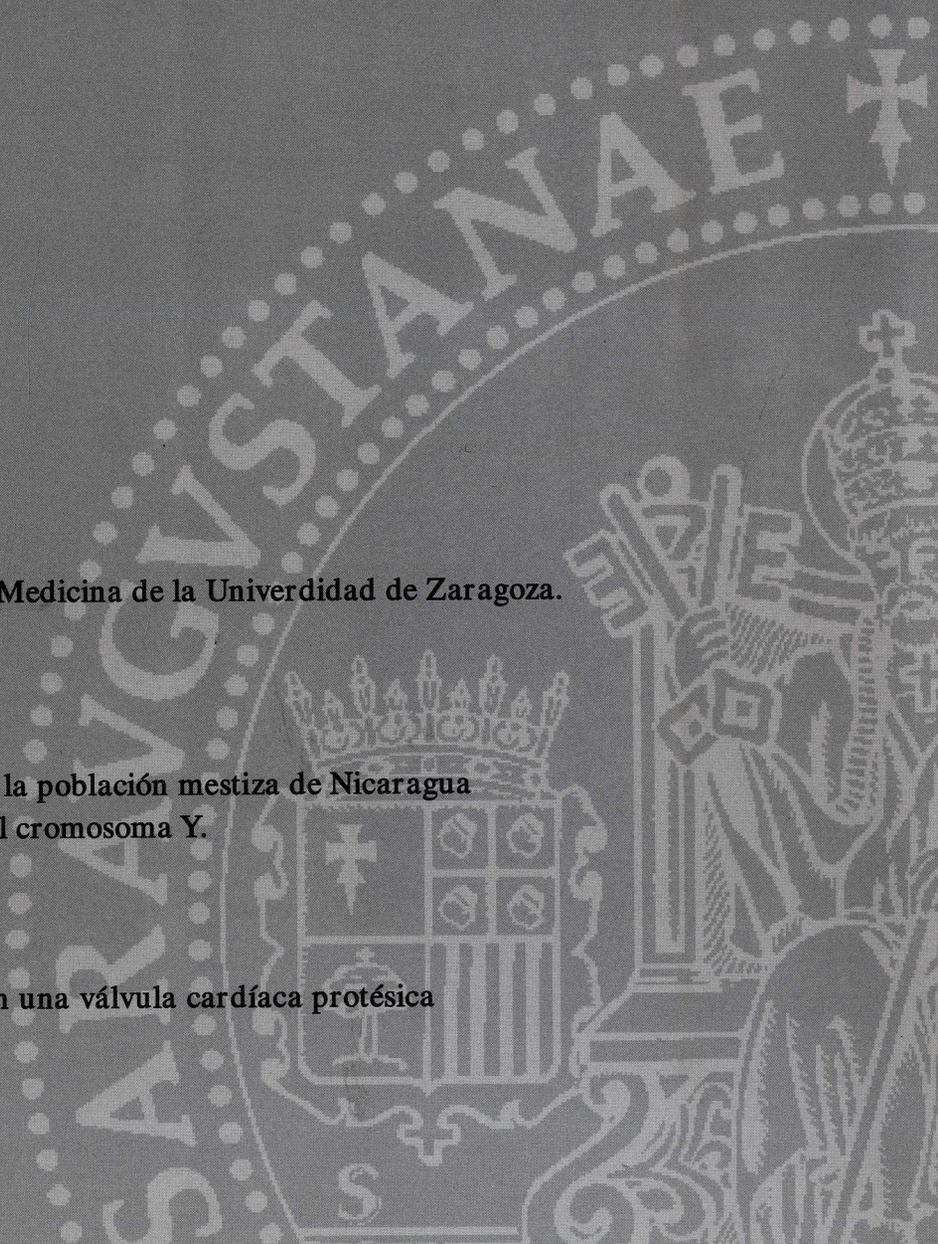
- El nuevo plan de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza.

## *Original*

- La asimetría genética sexual de la población mestiza de Nicaragua mediante el análisis de STRs del cromosoma Y.

## *Caso Clínico*

- Hemólisis como complicación en una válvula cardíaca protésica



### **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 el Ilustre Colegio de Médicos**

Miguel Ángel Lechuga Monge

*Vicepresidente del Ilustre Colegio de Médicos de Zaragoza*

### **CONSEJO DE REDACCIÓN**

María Dolores Abós Olivares  
Carlos Áibar Remón  
Julia Aísa Fernández  
Octavio Alda Torrubia  
Juan Antonio Amiguet García  
María Jesús Azanza Ruiz  
Félix Barroa Comps  
Máximo Bartolomé Rodríguez  
Carlos Baselga Asensio  
Luisa Bernal 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<sup>o</sup> 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<sup>o</sup> Miguélana 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 Serral Inigo  
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 49, NUMERO 1, MARZO DE 2009

### EDITORIAL

**El nuevo plan de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza.**

D. Arturo Vera Gil

---

### ORIGINAL

**La asimetría genética sexual de la población mestiza de Nicaragua mediante el análisis de STRs del cromosoma Y.**

Carolina Núñez Domingo y M<sup>º</sup>. Begoña Martínez Jarreta

---

### CASO CLÍNICO

**Hemólisis como complicación en una válvula cardíaca protésica.**

M<sup>º</sup> Pilar Martín-Fortea, Beatriz Sierra-Bergua, Francisco José Ruiz-Ruiz, Daniel Sáenz-Abad, Miguel Ángel Aibar-Arregui, Teresa Escolar Martínez-Berganza

---

Esta revista está subvencionada  
por:

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

ILUSTRE COLEGIO DE  
MÉDICOS DE ZARAGOZA

# ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA



## S U M M A R Y

VOLUME 49, NUMBER 1, MARCH 2009

### EDITORIAL

**The new plan of the Medicine Faculty of the Universidad de Zaragoza**

D. Arturo Vera

---

### ARTICLES

**The genetic sexual asymmetry of the mixed race population of Nicaragua by means of analysing the STRs of the Y chromosome.**

Carolina Núñez, M<sup>a</sup>. Begoña Martínez

---

### CLINICAL CASE

**Hemolysis as a complication of prosthetic mitral valve**

M<sup>a</sup> Pilar Martín, Beatriz Sierr, Francisco José Ruiz, Daniel Sáen,  
Miguel Ángel Aibar, Teresa Escolar.

---

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

# EL NUEVO PLAN DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

D. Arturo Vera Gil

*Decano Facultat de Medicina*

La Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza se dispone a iniciar el grado de Medicina dentro de la directriz de convergencia en el espacio europeo de enseñanza superior. Lo inicia en este curso académico 2009-2010 y afronta así, decididamente, un plan de estudios moderno y homologable con los más avanzados de la Unión Europea.

Este plan, supone un importante distanciamiento con los que hemos venido conociendo durante el pasado siglo XX, procedentes de los paradigmas científicos francogermanos del siglo XIX. Paradigmas de formación que los Germanos abandonaron hace tiempo y los Franceses parcialmente en la actualidad.

Igualmente, supone una importante ruptura y radical modificación en el método docente, donde la praxis se impone a la teoría y la coordinación se impone al individualismo y al ansia de formar expertos en cada una de las materias que se imparten. Todo ello es substituido por la enseñanza de lo estrictamente útil y necesario para formar un médico generalista equilibrado, dejando para el postgrado la especialización en las materias en que, posteriormente, se base un desarrollo profesio-

sional individualizado y dentro de un cuadro de especialidades, también homólogo a los reconocidos en la Unión Europea.

Este nuevo plan de estudios, nació de los trabajos que la Conferencia Nacional de Decanos de Facultades de Medicina, realizó siguiendo las directrices Europeas de Convergencia en el espacio de la enseñanza superior, Conferencias de la Sorbona, Bolonia (la más conocida) y las que les siguieron, cada vez con nivel más alto de participación y compromiso gubernamentales, cuyo resultado se plasmó en el proyecto "Tunning" y en la directriz europea para los estudios de Medicina de la Navidad de 2004, publicada al principio del año 2005.

El resultado de los trabajos de la C. N. D. F. M. se plasmó en el libro blanco de la enseñanza de la Medicina, auspiciado y aprobado por A. N. E. C. A. y los acuerdos de la misma Conferencia en Alicante (Febrero de 2008), inmediatamente tras la publicación de las directrices propias para el Grado de Medicina que, como consecuencia del Decreto de 30 de Octubre de 2007 del Ministerio de Educación y Universidades, se publicaron en ese mismo mes.

Esta Facultad de Medicina de Zaragoza, decidió, no esperar al máximo plazo (2010-2011) para realizar la oportuna planificación, por decisión propia y animada e impulsada por el Rector Petriz. En consecuencia, toda la Facultad se puso inmediatamente a trabajar, con la plena colaboración de la Comisión de Grado de Medicina, de su Junta de Facultad, de los Departamentos afectados y de las asambleas de profesores, agrupadas con arreglo a los nuevos Módulos, previstos en la Orden Ministerial de Febrero de 2008.

El resultado fue un nuevo plan, de corte anglosajón, en el que se pone el mayor énfasis en la praxis médica y en la formación de un médico generalista, capaz de incorporarse a la profesión con más rapidez que nuestros actuales estudiantes, formado en un ambiente de integración de conocimientos.

La formación queda organizada en semestres de a 30 créditos e. c. t. s. con un total de 12 semestres y 360 créditos, necesarios para la obtención del grado de Medicina.

La distribución de los módulos y materias previstos en las directrices propias nacionales para el grado de Medicina queda conforme el siguiente cuadro cronograma.

SEMESTRE	MATERIA	MATERIA	MATERIA	MATERIA	MATERIA	
1º	<b>Biología T</b>	<b>Bioquímica T</b>	<b>Anatomía Humana T</b>	<b>Fisiología T</b>	<b>Invest. Nuevas Tecnologías</b>	<b>30</b>
2º	<b>Morfología Estructura y Función I</b>			<b>Ingles Médico Opción de Facultad 4 etcs</b>	<b>Estadística T</b>	<b>30</b>
3º	<b>Morfología Estructura y Función II</b>			<b>PD y T Físicos I</b>	<b>PD y T Microbiología</b>	<b>30</b>
4º	<b>Morfología Estructura y Función III (Neurociencias)</b>			<b>Módulo 3 Semiología Fundamentos de Fisiopatología</b>	<b>Psicología T</b>	<b>30</b>
5º	<b>Especialidades Medicoquirúrgicas</b>	<b>Psiquiatría</b>		<b>PD y T Anat Pat</b>	<b>PD y T Farmacología I</b>	<b>30</b>
6º	<b>Patología Médica y Quirúrgica I</b>			<b>PD y T Cirugía</b>	<b>Com.Asistencia Ética, Leg. I</b>	<b>30</b>
7º	<b>Patología Médica y Quirúrgica II</b>			<b>PD y T Físicos II</b>	<b>Preventiva y Salud P.</b>	<b>30</b>
8º	<b>Patología Médica y Quirúrgica III</b>			<b>PD y T Farmacología II</b>	<b>Com.Asis.Ética Legislación II</b>	<b>30</b>
9º	<b>Medicina Materno Infantil y Medicina de Familia</b>			<b>Opción de Facultad dos materias de 4 etcs y 4 etcs de libre opción</b>		<b>30</b>
10º	<b>Módulo 3 Prácticas Tuteladas</b>			<b>Prácticas Tuteladas Opción de Facultad</b>		<b>30</b>
11º	<b>Módulo 5 Prácticas Tuteladas</b>					<b>30</b>
12º	<b>Módulo 5 Prácticas Tuteladas</b>				<b>Módulo 5 TFG</b>	<b>30</b>

El color de la leyenda de la Materia, indica el Módulo a la que pertenece, así, la inscripción en negro corresponde al Módulo I (Morfología, Estructura y Función), la inscripción en morado corresponde al Módulo II (Medicina Social, habilidades de comunicación e iniciación a la investigación), la inscripción en azul corresponde al Módulo III (Clínica Humana), la inscripción en marrón corresponde al Módulo IV (Procedimientos diagnósticos y terapéuticos), la inscripción en verde oscuro corresponde al Módulo V (Prácticas tuteladas) y, dentro de este mismo módulo, en verde claro, los 6 créditos destinados al trabajo de fin de Grado. Finalmente, el color fucsia recoge los créditos que suponen la opción propia de la Facultad con arreglo a lo previsto en la legislación normativa general y propia del grado de Medicina. En cuanto a la transversalidad básica que prevé el decreto, se corresponde con las materias marcadas con una T carmesi.

El contenido de las materias, está minuciosamente recogido en la memoria de Grado elaborada por la Facultad, presentada por la Universidad de Zaragoza y aprobada en las instancias Gubernamentales previstas por el Decreto de Octubre de 2007. Allí se puede consultar con precisión los conocimientos y habilidades que se van a transmitir al estudiante, pero para poder bosquejar, aunque sea "a grosso modo", los contenidos sin la prolijidad de un documento oficial, permitanme que les haga una traducción libre de las correspondencias de las nuevas materias con las asignaturas del último plan de esta Facultad:

Las materias del Modulo I, se corresponden con los actuales contenidos e las asignaturas; Anatomía I y II, Bioquímica, Biología, Embriología y Anatomía General, Fisiología, Histología General e Histología Especial.

Las materias del Modulo II, se corresponden con los actuales contenidos e las asignaturas; Bioestadística, Epidemiología, Ética Médica, Introducción a la Medicina, Toxicología, Deontología y Legislación Médica y Medicina preventiva y Salud Pública y Comunitaria.

Las materias del Modulo III, se corresponden con los actuales contenidos e las asignaturas; Dermatología, Introducción a la Patología Médica y Quirúrgica, Especialidades Médicas, Otorrinolaringología, Oftalmología, Medicina y Cirugía I y II, Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Psicología y Psiquiatría, agrupados en las denominaciones.

Las materias del Modulo IV, se corresponden con los actuales contenidos e las asignaturas; Anatomía Patológica, Biofísica, Cirugía General, Farmacología, Microbiología, Radiología Especial y General, Medicina Física y Rehabilitación.

Las materias del Modulo V, excepto el trabajo fin de Grado se corresponde con los actuales contenidos de la asignatura Practicas Clínicas

Como método, La Facultad ha optado por la integración secuencial de conocimientos, sirviendo en unidad material y temporal los distintos puntos de vista sobre los aspectos formativos a transmitir al estudiante, con el consiguiente ahorro de esfuerzo y tiempo por ambas partes, discente y docente.

Como peculiaridades, La Facultad ha predeterminado dentro de su capacidad de opción, las siguientes variantes:

- 1º Establecer como obligatoria la materia Ingles Médico de 4 créditos en el segundo semestre, con la finalidad de formar precozmente al estudiante en los instrumentos imprescindibles para el acceso personal a las principales fuentes de conocimiento y repertorios que, actualmente son absolutamente mayoritarios en el idioma Ingles.
- 2º Ampliar el periodo previsto de un mínimo de 60 créditos para las prácticas tuteladas ( Decreto 20 de Octubre de 2007) a 90 créditos incluidos los 6 destinados al trabajo de fin de Grado. Los 30 créditos adicionales se obtienen procedentes de prácticas del Módulo III (18 créditos) y de opción de Facultad (12 créditos).
- 3º Dividir los 6 créditos de libre opción del estudiante en dos periodos de formación. El primero de 2 créditos en el segundo semestre, fundamentalmente previsto para actividades de integración del nuevo alumno en su Facultad y Universidad. El segundo de 4 créditos en el noveno semestre (últi-

mo teórico-práctico) para que seleccione el estudiante las actividades complementarias que estime importantes con arreglo a su propio itinerario formativo, cuando ya tiene suficiente experiencia para conocer sus deseos de complemento necesario a su propio proyecto de futuro

4º Ofertar 8 créditos de libre opción al estudiante en ese mismo noveno semestre para que curse dos materias, de 4 créditos cada una, entre las que la Facultad oferte como complemento formativo, con vistas a una hipotética especialización del alumno, al finalizar el grado.

Finalmente, la Facultad ya tiene un diseño de lo que va a suponer la organización de las prácticas tuteladas. Se prevé una rotación por servicios Hospitalarios y Centros de Salud, en régimen de inmersión profesional, con arreglo al siguiente reparto temporal:

### 3 semestres = 47 semanas útiles

Medicina Interna	8 semanas
Pediatría	4 semanas
Asistencia Primaria (C. de S)	8 semanas
Cirugía	8 semanas
Obstetricia	4 semanas
Especialidades	4 semanas
Urgencias	4 semanas
Diagnostico	4 semanas
Fuera del distrito	3 semanas
<b>TOTAL</b>	<b>47 semanas</b>

Este Módulo finaliza con la presentación del trabajo fin de Grado mediante una de estas dos modalidades, Defensa ante un Tribunal de un trabajo de investigación Biomédica o Presentación ante un Tribunal de un caso Clínico complejo.

En suma, nuestra Facultad ha optado por un sistema de formación que nos permita graduar a Médicos Generalista con suficiente experiencia para incardinarse de manera inmediata y eficaz, en los oportunos programas de especialización postgrado y en el mercado laboral, en busca de una razonable reducción del tiempo total de formación, que redunde en economía educativa y en solución del hipotético vacío generacional que tanto se pronostica.

Desde mi edad y mi experiencia de más de 40 años de servicio a la Universidad Española, no ignoro que, como el papel lo aguanta todo, cualquier plan, por excelente que parezca, es susceptible de acabar en papel mojado si los encargados de llevarlo a la práctica, docentes y discentes, así lo deciden.

Si ello es así, la culpa no será del plan sino de los ejecutores y como ya me han oído muchos de mis compañeros, en este caso suelo citar a Sartre: "El infierno somos nosotros".

Ante una ocasión única de modificar nuestros obsoletos sistemas docentes, no tenemos otra opción razonable que avanzar decididamente, aun corriendo el riesgo de cometer errores que, el propio sistema prevé reformables, sobre la

marcha, en aproximaciones sucesivas a una formación de excelencia.

Si, es hora ya de evitar que se nos aplique otra de mis citas favoritas, esta vez de Quevedo al final de Las aventuras del buscón Don Pablos "... Y pasó a las Indias y fuele peor, que no es lo importante cambiar de aires sino de hábitos y costumbres...

El futuro esta ahora en nuestras manos, seamos dignos de él.

### REFERENCIAS:

Libro Blanco: Título de Médico A.N.E.C.A. 2006

Memoria de grado:  
<http://www.unizar.es/centros/fmediz/>

Real Decreto 1393/2007 B.O.E. de 30 de Octubre de 2007

Orden Ministerial 2674/2008 B.O.E. de 15 de Febrero de 2008

# LA ASIMETRIA GENETICA SEXUAL DE LA POBLACION MESTIZA DE NICARAGUA MEDIANTE EL ANALISIS DE STRS DEL CROMOSOMA Y

## Una primera aproximación a la caracterización genética de la población de Nicaragua

### THE GENETIC SEXUAL ASYMMETRY OF THE MIXED RACE POPULATION OF NICARAGUA BY MEANS OF ANALYSING THE STRS OF THE Y CHROMOSOME.

#### A first approach to the genetic characterisation of the population of Nicaragua

Carolina Núñez Domingo, M<sup>a</sup>. Begoña Martínez Jarreta

*Cátedra de Medicina Legal y Forense. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza*

#### RESUMEN:

El análisis de STRs del cromosoma Y resulta de gran utilidad para diversas aplicaciones de la genética forense y, por su herencia haplotípica, para estudios antropológico-evolutivos.

Las bases de datos de ADN son imprescindibles para evaluar e interpretar estadísticamente los resultados obtenidos en las periciales forenses e investigaciones de paternidad. A pesar de los avances en las técnicas de análisis de ADN, y su implantación casi universal, sorprende que aun existan muchas poblaciones sin caracterizar genéticamente, como es el caso de algunas poblaciones del continente americano, en particular Nicaragua. Este trabajo es un paso previo en la caracterización genética exhaustiva de la población de Nicaragua por medio de los principales marcadores genéticos de uso forense. En esta primera aproximación se han analizado 17 Y-STRs de 149 individuos mestizos de Nicaragua. Se obtuvieron 141 haplotipos diferentes del total de la muestra, resultando en una elevada diversidad haplotípica, de 0.9992. El poder de discriminación para el conjunto de haplotipos de los 17 Y-STRs fue de 0.9925. Estos resultados muestran que estos 17 Y-STR son altamente polimórficos y tienen un elevado poder de discriminación en esta población mestiza de Nicaragua. Dichos datos generaran una base de datos de Y-STRs, que no solo será de utilidad para las investigaciones forenses y de paternidad en Nicaragua, sino también en España debido a la elevada representación de la comunidad nicaragüense que ya existe en nuestro país. Para estimar el origen geográfico de los cromosomas Y, a cada muestra se le asignó un haplogrupo característico. El haplogrupo R1b resultó ser el mayoritario (46.9%), mientras que los haplogrupos Q y E1b fueron los siguientes más representativos (14.7% y 15.4%, respectivamente). Estos resultados confirman la existencia de una asimetría genética sexual en la población mestiza de Nicaragua. Esto mismo se ha observado en otros estudios de poblaciones mestizas de Colombia, Ecuador y México, en los que existe un componente masculino de origen europeo predominante, que se corresponde con la herencia de los antiguos conquistadores y colonos españoles.

#### PALABRAS CLAVE

STRs, estudio población, Nicaragua, genética forense.

#### SUMMARY:

Analysing the STRs of the Y chromosome is very useful for various applications of forensic genetics and, because of its haplotypic heredity, for anthropological-evolutionary studies.

DNA databases are essential to statistically assess and interpret the results obtained from forensic experts and paternity research. Despite the progress made in DNA analysis techniques, and its almost universal implementation, it is surprising that there are still a lot of populations that have not been genetically characterised, as is the case of some population of the American continent, Nicaragua in particular. This work is a step towards detailed genetic characterisation of the population of Nicaragua by means of the principal genetic markers used in forensics. In this first approach 17 Y-STRs of 149 mixed race individuals of Nicaragua were analysed. 141 different haplotypes were obtained from the whole sample, resulting in a high haplotypic diversity, of 0.9992. The power of discrimination for the set of haplotypes of the 17 Y-STRs was 0.9925. These results show that these 17 Y-STRs are highly polymorphic and they have a high power of discrimination in this mixed race population of Nicaragua. This data will generate a database of Y-STRs, which will not

only be useful for forensic and paternity research in Nicaragua, but also in Spain due to the high number of Nicaraguans that are in our country. To estimate the geographical origin of the Y chromosomes, each sample was assigned a characteristic haplogroup. The R1b haplogroup was the largest group (46.9%), followed by the Q and E1b haplogroups (14.7% and 15.4%, respectively). These results confirm the existence a genetic sexual asymmetry in the mixed race population of Nicaragua. This has also been observed in other studies on mixed race populations of Colombia, Ecuador and Mexico, in which there is a masculine component of predominantly European origin, which correspond to the heredity of the old Spanish conquistadors and colonists.

**KEY WORDS**

STRs, population study, Nicaragua, forensic genetics

**2. INTRODUCCIÓN**

**2.1. Polimorfismos del cromosoma Y**

El cromosoma Y, por sus características (específico del género masculino, ausencia de recombinación en casi todo el cromosoma, y haploide), es extraordinariamente valioso en genética forense, y el estudio de sus polimorfismos aporta una gran información en diferentes aplicaciones de esta área de conocimiento.

El cromosoma Y contiene un gran número de polimorfismos incluyendo short tandem repeats (VNTRs y STRs) y marcadores bialélicos (inserciones, deleciones y polimorfismos de único nucleótido, SNPs). En los inicios de los años 90, el número de loci Y-STR descritos no superaban los 15 (Roewer *et al*, 1992a; Mathias *et al*, 1994; Jobling y Tyler-Smith, 1995), y solo se conocía un minisatélite específico de cromosoma Y (Jobling, 1994). También se conocían 10 SNPs (Nakahori *et al*, 1989; Jobling, 1994; Seielstad *et al*, 1994; Hammer, 1995; Whitfield *et al*, 1995), y únicamente se había descubierto una inserción Alu (Hammer, 1994).

Sin embargo, este escenario ha ido cambiando desde entonces, y recientemente se han introducido un elevado número de Y-SNPs (Underhill *et al*, 1997, 2000) y Y-STRs (White *et al*, 1999; Ayub *et al*, 2000; Kayser *et al*, 2004),

altamente discriminativos (Butler, 2002; Gusmao, 1999; Mulero, 2006; Krenke, 2005), los cuales son de gran utilidad para las investigaciones forenses.

**2.1.1. Short Tandem Repeats del cromosoma Y**

El primer microsatélite del cromosoma Y que se descubrió fue DYS19, en los inicios de los años 90 (Roewer *et al*, 1992b), y se aplicó con éxito en un caso de asesinato, permitiendo la exclusión del sospechoso (Roewer y Epplen, 1992b).

En 1997 el *Forensic Y-Chromosome Research Group*, coordinado por Lutz Roewer, hizo una primera aproximación hacia la aplicación forense de los haplotipos (conjunto de alelos de Y-STR característicos de cada individuo) de Y-STRs en genética forense, mediante la caracterización de 13 Y-STRs en 48 muestras poblacionales (Kayser *et al*, 1997). Por entonces, estos 13 Y-STRs eran los que estaban disponibles para aplicaciones forenses. De estos, 9 describen el llamado "haplotipo mínimo" (DYS19, DYS385a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393) recomendado por el *International Forensic Y User Group*, como el mínimo set de marcadores de cromosoma Y para la individualización masculina (Kayser *et al*, 1997). Pero este set de marcadores Y-STR puede extenderse añadiendo los loci hipervariables DYS438, DYS439, DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 y YGATAH4, con el fin de incrementar el poder de discriminación (Ayub *et al*, 2000; Redd *et al*, 2002; Mulero *et al*, 2006) (Tabla 1).

El aumento en el interés por los loci Y-STR ha conducido a numerosos estudios poblacionales para establecer bases de datos de frecuencias alélicas. La mayor base de datos es la "Y Chromosome Haplotype Reference Database, YHRD" que se estableció en el año 2000 para recopilar haplotipos de Y-STR (www.yhrd.org), y actualmente contiene 74742 haplotipos de poblaciones de todo el mundo. En este proyecto, que empezó como una iniciativa Europea liderada por el Prof. Lutz Roewer de la Universidad de Humbolt (Roewer *et al*, 2001), participó nuestro grupo de investigación, y permitió sentar las bases para el uso forense en la práctica de los polimorfismos STR del cromosoma Y, y establecer criterios para la aceptación de su uso en los tribunales de justicia.

Aunque los 9-11 Y-STRs más comúnmente utilizados proporcionan una elevada probabilidad de identificación de linaje masculino, los Y-STRs adicionales incrementan el poder de discriminación. Además, varios estudios poblacionales han revelado poblaciones con un alto número de haplotipos de 9-16 loci Y-STRs idénticos como resultado de cuellos de botella sucedidos en la historia de las poblaciones (Mohyuddin *et al*, 2001; Hedman *et al*, 2004). En consecuencia, en los casos en que existe coincidencia de haplotipos, el tipado de Y-STRs adicionales puede ser muy valioso para aplicaciones forenses. De hecho, actualmente muchos de los nuevos Y-STRs descritos están siendo investigados con respecto a su potencial de discriminación, la diversidad genética poblacional, los ratios de mutación y su capacidad para análisis multiplex.

**TABLA 1.**  
**LOS LOCI STR DE CROMOSOMA Y MAS COMUNMENTE UTILIZADOS EN LOS ANALISIS FORENSES.**

HAPLOTIPO MINIMO	HAPLOTIPO EXTENDIDO	POWERPLEX® Y	AMPFLSTR® YFILER®
DYS19	DYS19	DYS19	DYS19
DYS385 a/b	DYS385 a/b	DYS385 a/b	DYS385 a/b
DYS389I	DYS389I	DYS389I	DYS389I
DYS389II	DYS389II	DYS389II	DYS389II
DYS390	DYS390	DYS390	DYS390
DYS391	DYS391	DYS391	DYS391
DYS392	DYS392	DYS392	DYS392
DYS393	DYS393	DYS393	DYS393
	DYS438	DYS437	DYS437
	DYS439	DYS438	DYS438
		DYS439	DYS439
			DYS448
			DYS456
			DYS458
			DYS635
			GATA H4

Los microsatélites de la región NRY (la región con ausencia de recombinación) poseen un importante papel en genética forense, llegando a configurarse como los marcadores de elección, particularmente en casos de delitos sexuales o en test de paternidades (Kayser *et al*, 1997). Esto es debido a que, por su alta tasa de mutación, son altamente polimórficos y por lo tanto, mucho más efectivos para la identificación individual de lo que lo son los SNPs.

Por otro lado, se están utilizando cada vez más en investigaciones genealógicas (Jobling, 2001a) y en estudios evolutivos como marcadores de linajes masculinos (Stumpf *et al*, 2001; Jobling y Tyler-Smith, 2003).

### 2.1.2. Marcadores bialélicos del cromosoma Y

Los marcadores bialélicos son otra clase de polimorfismos importantes del cromosoma Y. Se suelen referir como polimorfismos de evento único ya que su tasa de mutación es mucho menor que la de los STRs ( $\approx 10^{-8}$  mutaciones por generación) (de Knijff *et al*, 2000; Kayser *et al*, 2000; Kayser *et al*, 2001b). Esta característica, y ya que los SNPs son locus que presentan solo dos posibles alelos, hace que no tengan un poder de discriminación tan elevado como los STRs. Varios análisis han mostrado que se requeriría un promedio de 25-45 SNPs para alcanzar probabilidades de coincidencia al azar equivalentes a las que se logra mediante 13 loci STR (Chakraborty *et al*, 1999).

Hasta 1997, solo se conocían 11 polimorfismos binarios que podían ser genotipados por métodos basados en la PCR (Hammer, 1994; Seielstad *et al*, 1994; Whitfield *et al*, 1995; Santos *et al*, 1995; Jobling *et al*, 1996; Underhill *et al*, 1996). Estos incluían SNPs, una inserción Alu (*Y chromosome Alu polymorphism, YAP*), y una delección. Entonces, en 1997, Underhill *et al* publicaron 19 nuevos polimorfismos binarios que fueron descubiertos por una nueva técnica de detección de mutaciones basada en cromatografía líquida (DHPLC). Este método ha sido desde entonces utilizado para descubrir más de 200 SNPs y pequeñas inserciones/delecciones de la región no recombinante del cromosoma Y (Shen *et al*, 2000; Underhill *et al*, 2000; Hammer *et al*, 2001).

## 2.2. Aplicaciones forenses de los polimorfismos de cromosoma Y

El estudio forense de marcadores del cromosoma Y no se realiza de forma tan rutinaria como el de los marcadores autosómicos. Sin embargo, el hecho de que estos marcadores solo se encuentren en varones, les otorga un valor especial, y les hace una herramienta muy valiosa para determinadas aplicaciones forenses.

Estas aplicaciones, íntimamente relacionadas, se pueden clasificar en:

- La identificación de muestras procedentes de varones en criminalística.
- Investigación biológica de la paternidad.
- La identificación de líneas paternas.
- Aproximación al origen geográfico.

### 2.2.1. La identificación de muestras procedentes de varones en criminalística

El valor de los marcadores del cromosoma Y para la identificación masculina en genética forense es enfatizado por el hecho de que un 80% de los crímenes violentos y un 90% de los delitos sexuales son cometidos por varones (Bureau of Justice Statistics, USA 2001).

En casos de delitos sexuales, normalmente se obtienen evidencias que contienen una mezcla de material biológico masculino y femenino, las cuales siempre han sido un reto en el área de criminalística. Una posible solución para aislar el contenido masculino y obtener el perfil genético del sospechoso, es realizar una extracción diferencial de ADN (Gill *et al*, 1985). Sin embargo, ésta técnica no es siempre posible. En estas situaciones, el uso de Y-STRs es la prin-

cipal herramienta para determinar con nitidez el perfil de la porción masculina involucrada (Fig 1).

A su vez, estos marcadores también se pueden aplicar para detectar la presencia de más de un contribuyente a la mezcla biológica, como sucedería en casos de violaciones múltiples (Prinz *et al*, 1997).

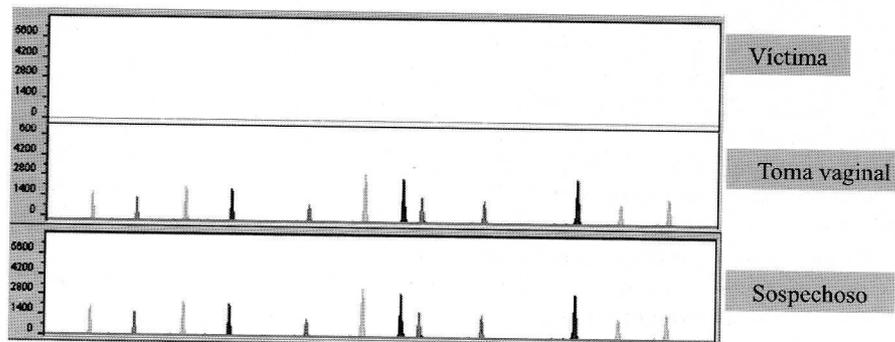
### 2.2.2. Investigación biológica de la paternidad

Además de su uso en identificación individual, el cromosoma Y tiene un extremo valor en la investigación biológica de la paternidad, a pesar de que pueda parecer que sus aplicaciones son limitadas ya que solo se puede usar cuando el hijo dubitado es varón.

El estudio de polimorfismos del cromosoma Y es de particular interés en los casos en donde el supuesto padre no está disponible para la prueba (Jobling *et al*, 1997). En estas situaciones, cualquier familiar varón que esté relacionado por vía paterna con el supuesto padre podría ser de utilidad como referencia. Un ejemplo histórico del uso de marcadores del cromosoma Y para esta aplicación es el caso del análisis de paternidad que relacionó al tercer presidente de USA, Thomas Jefferson con el hijo de una de sus esclavas, Sally Hemings (Foster *et al*, 1998).

Pero incluso cuando el supuesto padre está disponible, se deben subrayar las dificultades del análisis con únicamente STRs autosómicos, ya que podría llevar a paternidades erróneas (Poetsch *et al*, 2006). Este hecho se puso de manifiesto en un estudio llevado a cabo por nuestro grupo de investigación, en el cual se estudió un caso de

Figura 1



Ejemplo de perfiles de Y-STR de una toma vaginal, una muestra de la víctima y del sospechoso. Se puede observar cómo se puede aislar el perfil del supuesto sospechoso de la muestra vaginal.

paternidad deficiente (sin presencia de la madre) donde se analizaron 19 STRs autosómicos de dos presuntos padres, pero se resolvió con éxito mediante el estudio de 12 Y-STRs (González-Andrade et al, 2009).

La importancia del uso de Y-STRs para la prueba de la paternidad queda expresada en lo anteriormente mencionado, sin embargo se debe tener en cuenta que en algunos casos particulares, los haplotipos de padres e hijos difieren debido a la ocurrencia de mutaciones (Kayser et al, 2000). El ratio de mutación de los loci Y-STR es similar al de los STRs autosómicos, aproximadamente  $2.8 \times 10^{-3}$  por locus por generación (Kayser et al, 2000). El cromosoma Y acumula mutaciones a medida que se hereda en la línea patrilinea y la comparación directa entre hombres del mismo linaje podría resultar en una falsa exclusión en la paternidad, si las mutaciones no son consideradas. Por lo tanto, es imprescindible que los cálculos realizados, no sólo para los casos de paternidad sino también para las investigaciones forenses, tengan en cuenta esta posibilidad (Rolf et al, 2001).

### 2.2.3. La identificación de líneas paternas

La identificación de líneas paternas se puede aplicar a varios campos, a la identificación de restos de desaparecidos y víctimas de desastres en masa, y al estudio de restos antiguos.

De igual forma que se estudia el cromosoma Y para casos forenses y pruebas de paternidad, también puede aplicarse a la identificación de restos de personas desaparecidas, incluyendo casos de desastres en masa (Corach et al, 2001). Para ello es necesario disponer de material de referencia de parientes vivos. La ventaja de los polimorfismos del cromosoma Y en este aspecto (igual que del ADN mitocondrial) sobre los marcadores autosómicos, es que se pueden establecer las relaciones de parentesco, incluso cuando solo se dispone de parientes de referencia lejanos. Esto puede ser altamente relevante en los casos en que mueren familias enteras en la catástrofe, como sucedió en el Tsunami ocurrido en el Sureste asiático en el año 2004 (Alonso et al, 2005).

Una última utilidad de los polimorfismos del cromosoma Y incluye la identificación de restos humanos antiguos, ya

sea para identificar el sexo de los sujetos o establecer el parentesco entre los restos encontrados.

Esta rama de la genética, la cual aplica la genética molecular para esclarecer la historia de las poblaciones humanas e importantes temas sobre la prehistoria, ha cobrado una gran importancia y ha resultado en una nueva disciplina denominada arqueogenética (Renfrew, 2001). Sin embargo, el recuperar ADN de restos antiguos es actualmente un tema en debate (Montiel et al, 2007) y ha conducido a establecer toda una serie de criterios de autenticación (Hofreiter et al, 2001).

Cabe destacar que, tanto la recuperación de ADN antiguo como su análisis, es extremadamente complejo, especialmente si los restos antiguos no han sido debidamente conservados o están en mal estado. A pesar de ello existen estudios que han logrado resultados prometedores mediante el análisis de STRs autosómicos, ADN mitocondrial y del cromosoma Y, a partir de restos humanos antiguos (Gill et al, 1994; Dissing et al, 2007; Haak et al, 2008; Vanek et al, 2009).

Particularmente, los STRs del cromosoma Y presentan similares dificultades en su análisis a los STRs autosómicos si las muestras en estudio están muy deterioradas. Para solventar esta dificultad se pueden generar marcadores STR de inferior tamaño, conocidos como miniSTRs (Wiegand et al, 2001) o miniYSTRs para el caso del cromosoma Y (Vanek et al, 2009).

Estas técnicas, entre otras, las ha estado poniendo a punto nuestro grupo de investigación con el fin de esclarecer el linaje de los restos de los Reyes Privativos de Aragón, un proyecto ambicioso que llevamos a cabo desde el año pasado.

### 2.2.4. Aproximación al origen geográfico a través de marcadores del cromosoma Y

En cuanto a la cuarta aplicación de los polimorfismos de cromosoma Y anteriormente mencionada, tiene ventajas tanto en criminalística como en genética de poblaciones.

Una primera aproximación, al conocer el origen geográfico del individuo varón al que pertenece una evidencia, podría ayudar a los investigadores a dirigir la investigación hacia un grupo más acotado de

sospechosos de una región geográfica específica. Por otro lado, el conocer los patrones genéticos de cromosoma Y de las diferentes regiones geográficas podría proporcionar una inestimable información para esclarecer las migraciones humanas ocurridas a lo largo de la historia.

El análisis genético puede, hasta cierto punto, proporcionar este tipo de información. Determinados alelos o haplotipos están restringidos a ciertas áreas geográficas o muestran elevada diferenciación de frecuencias entre las diferentes zonas geográficas. Esto mismo se ha observado en determinados alelos de Y-STRs (Kayser et al, 1997, 2001a; Roewer et al, 1996, 2005).

Uno de los inconvenientes de utilizar marcadores de cromosoma Y para revelar el origen geográfico de un individuo radica en los casos en que existe mezcla genética. Por ejemplo, si se realiza un análisis del cromosoma Y de un individuo de padre Europeo y madre Africana, el análisis confirmará un origen geográfico Europeo, a pesar de la probable apariencia Africana del individuo en cuestión. En conclusión, para esclarecer el origen geográfico de un sujeto de una forma más precisa debería ser imprescindible la combinación del análisis de marcadores de cromosoma Y junto con el ADN mitocondrial (Sigurdsson et al, 2006) y ADN autosómico (Lao et al, 2006).

Aunque algunos haplotipos de Y-STRs son altamente informativos para identificar el origen geográfico, la relativa alta tasa de mutación de estos polimorfismos tiende a diluir las señales genéticas ancestrales a lo largo de un elevado número de generaciones. En consecuencia, se ha establecido que los Y-STRs son más informativos para detectar eventos más recientes del pasado en las historias genéticas de las poblaciones (Adams et al, 2008). Para investigar los sucesos más antiguos, los SNPs son mucho más fiables ya que sus tasas de mutación son aproximadamente 100.000 veces menores que las de los Y-STRs (Thomson et al 2000).

Uno de los primeros estudios que describió la distribución geográfica restringida de un Y-SNP y su uso para la investigación de la historia de las poblaciones humanas tuvo lugar en 1997 (Zerjal et al 1997). Hoy en día se conocen un gran número de marcadores Y-SNPs, y muchos muestran una distribución específica de continente.

Se conocen algunos casos en donde existe una alta correlación entre los Y-STRs y Y-SNPs (Kayser et al, 2005). A pesar de estos casos de correlación y de que el estudio independiente de los marcadores Y-STR o Y-SNP puede revelar la misma información geográfica, la combinación de ambos puede ser mucho más informativa y fiable.

### 2.3. La asimetría genética sexual en las migraciones humanas

Las características sexuales específicas del cromosoma Y y el ADN mitocondrial han permitido alcanzar una serie de interesantes conocimientos sobre las migraciones humanas a lo largo de la historia (Jobling et al 2001b).

Estudios sobre el análisis de poblaciones de todo el mundo indicarían que las poblaciones exhiben un alto grado de subestructura poblacional para el cromosoma Y (Poloni et al 1997; Seielstad et al 1998). Comparando con el relativo bajo grado de subestructura poblacional para el ADN mitocondrial, se ha sugerido que el flujo genético (o migración) entre la mayoría de las poblaciones humanas podría haber sido mediado generalmente por las mujeres (Seielstad et al 1998). Es decir, las mujeres parecen haber tenido una tasa de migración mayor que los varones en la mayoría de las sociedades.

Un hecho que cabría destacar es que las poblaciones parecen ser más similares entre ellas con respecto al ADN mitocondrial que con respecto al cromosoma Y (Seielstad et al 2000). Sin embargo, esto es comprensible si se tiene en cuenta el fenómeno de la patrilocalidad (Oota et al 2001).

La mayoría de las poblaciones humanas son patrilocales, es decir, después del casamiento, la mujer se traslada al lugar de origen del marido. Los varones, sean cuales sean sus migraciones durante su vida, generalmente vuelven y crían a sus hijos en su lugar de nacimiento (Seielstad et al 2000).

Existen varios estudios que han pretendido evaluar esta hipótesis acerca de la mayor tasa de migración femenina en una escala más local, y a su vez investigar como se pueden determinar las asimetrías sexuales en las tasas de migración mediante el análisis de STRs autosómicos, ADN mitocondrial y cromosoma Y.

Uno de ellos, realizado por Mesa et al (2000), comprendió un estudio exhaustivo sobre cinco poblaciones nativas de Colombia. Los análisis de mezcla sugerirían un patrón de emparejamiento direccional que preferencialmente involucró varones inmigrantes y mujeres nativas.

Un segundo ejemplo de estudio de este tipo, llevado a cabo por nuestro grupo (González-Andrade et al 2007), involucraba el análisis de la mezcla genética, mediante STRs autosómicos y de cromosoma Y, de mestizos, Kichwas, y afro-ecuatorianos de Ecuador.

Las contribuciones al grupo de población mestiza en cuanto al cromosoma Y, fueron estimadas en un 70% europea, 28% amerindia, y 2% africana. Dichos resultados subrayan la asimetría sexual en el emparejamiento, con una contribución europea mayoritariamente masculina.

Estos patrones característicos de asimetría sexual también se han observado en otros estudios de población mestiza de Mexico (Merriwether et al 1997; Green et al 2000), y Colombia (Carvajal-Carmona et al 2000).

Todas estas observaciones estarían de acuerdo con los registros históricos que muestran que durante el período colonial (desde finales del s.XV hasta principios del s.XIX), la mayoría de los inmigrantes españoles en América fueron varones (Sanchez-Albornoz 1977).

### 2.4. La importancia de las bases de datos de marcadores del cromosoma Y

Todas las anteriores aplicaciones de los polimorfismos del cromosoma Y en la genética forense tendrían poco sentido si no existiesen datos genético poblacionales. Sin bases de datos de ADN, y en este caso de polimorfismos del cromosoma Y, no habría con que comparar los resultados obtenidos ni se podría proporcionar una aproximación estadística adecuada para que la prueba de ADN tuviese valor ante los tribunales.

Cuando se obtiene un perfil genético de una muestra obtenida en el escenario de un crimen, se debe comparar con una base de datos de la población de referencia, para determinar la probabilidad de que esta pueda coincidir con un individuo de la población al azar.

La mayoría de bases de datos de STRs autosómicos tienden a referirse, por ejemplo al grupo Hispánicos como

cualquier individuo de Mexico, Puerto Rico, Cuba, Centro/Sudamérica o de otra ascendencia cultural Española (Chakraborty et al 1999). Ya que la frecuencia de los haplotipos de Y-STRs puede diferir entre poblaciones, agrupar poblaciones de una forma tan general puede inducir a errores en la interpretación estadística de los resultados, y podría desencadenar consecuencias graves en casos de criminalística. Otra cuestión a tener en cuenta con respecto a este tema, es que debido a la inmigración, las poblaciones actuales están cada vez más mezcladas.

Estos factores ponen de manifiesto que la elección de una base de datos poblacional relevante se vuelve fundamental. Pero para ello es preciso realizar estudios genético poblacionales y migratorios de todas las poblaciones de las que aún no existe información al respecto.

En la actualidad, existen poblaciones aún no caracterizadas genéticamente. Un ejemplo es Centroamérica, en la que existen muy pocos estudios de STRs autosómicos, cromosoma Y y ADN mitocondrial (Monsalve et al 1997; Martínez-Jarreta et al 2004; Matamoros et al 2004; Martínez-Jarreta et al 2005; Martínez-Espin et al 2006; Rodríguez et al 2007).

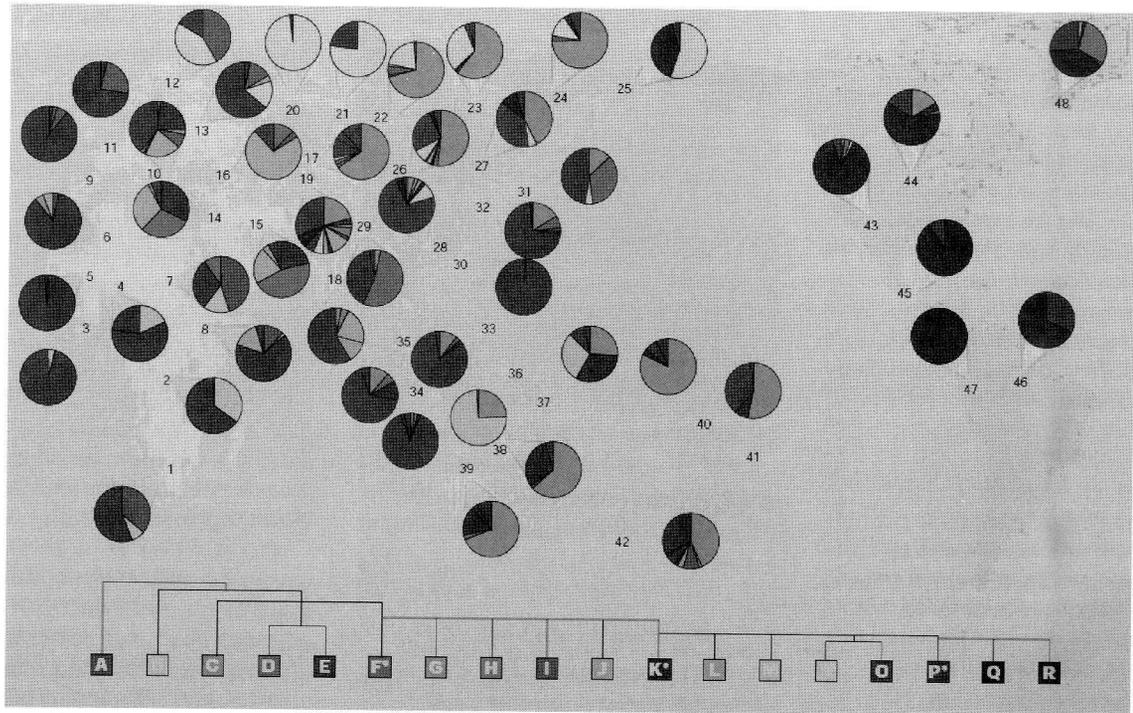
### 2.5. Haplogrupos de cromosoma Y

Al igual que sucede con los haplotipos de ADN mitocondrial, los diversos haplotipos del cromosoma Y se pueden agrupar en haplogrupos (conjunto de haplotipos de cromosoma Y relacionados).

Los haplogrupos de cromosoma Y se determinan mediante patrones de Y-SNPs. Sin embargo, uno de los mayores problemas de los Y-SNPs son las diferentes designaciones de los haplogrupos desarrolladas por los grupos de investigación sobre el cromosoma Y. En el 2002, el *Y-chromosome Consortium* publicó un estudio con el fin de intentar unificar la nomenclatura de los haplogrupos basándose en Y-SNPs (The Y-chromosome Consortium 2002). En este estudio, se describió un árbol de los haplogrupos mostrando las relaciones de unos 200 SNPs, además de proponer una correlación entre las 7 nomenclaturas diferentes para definir estos haplogrupos.

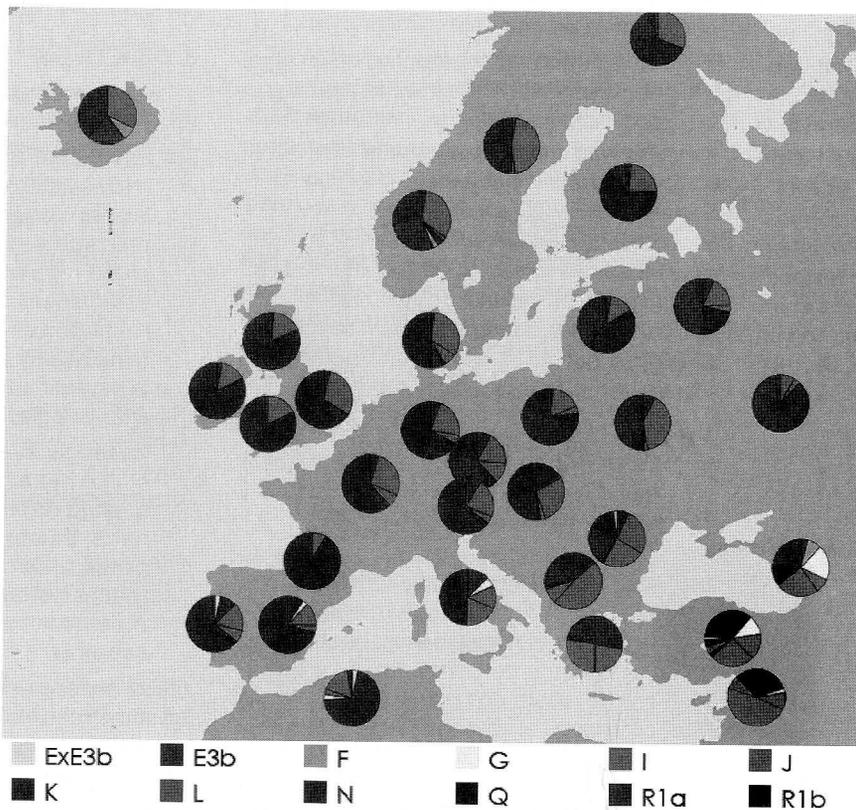
Esta unificación de la nomenclatura ha supuesto una inestimable ayuda para la comunidad científica. Por otro lado, existe un creciente interés por determinar los haplogrupos de cromosoma Y en

Figura 2



Distribución global de los haplogrupos de cromosoma Y. Cada círculo muestra una muestra poblacional, con la frecuencia de los 18 principales haplogrupos identificados por el "Y Chromosome Consortium" (YCC) indicada por el color de los sectores (Jobling et al 2003).

Figura 3



Distribución de los haplogrupos de cromosoma Y en Europa.

base a los Y-STRs, ya que su análisis resulta normalmente menos complejo que el de los Y-SNPs.

Athey propuso una aproximación Bayesiana basada en la frecuencia alélica que permite obtener la probabilidad de que un determinado haplotipo de Y-STRs pertenezca a un haplogrupo (Athey 2006). Aunque este método es una herramienta robusta, depende en gran medida de la cantidad de información de los haplogrupos en consideración para permitir un cálculo realista de los valores de la frecuencia alélica de cada haplogrupo.

### 2.5.1. Distribución de los haplogrupos de cromosoma Y

El conocimiento actual de la distribución geográfica de los diferentes linajes de cromosoma Y es imprecisa (Jobling et al 2003). Algunas poblaciones aún no han sido estudiadas, y en algunos casos el tamaño poblacional de las poblaciones estudiadas es raramente elevado. En consecuencia, las frecuencias se conocen de forma aproximada y habitualmente linajes raros permanecen indetectables.

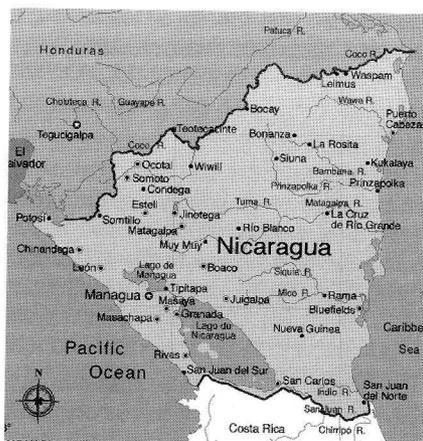
A pesar de este hecho, con los datos obtenidos hasta ahora se pueden representar las diferentes regiones geográficas del mundo por determinadas frecuencias de haplogrupos de cromosoma Y (Fig 2).

Específicamente en relación a Europa, existen estudios detallados que muestran patrones característicos de los haplogrupos (Semino et al 2000; Rosser et al 2000). Tal y como se puede observar en la figura 3 el haplogrupo más frecuente es el R, siendo R1a más frecuente hacia el este de Europa y el R1b hacia el oeste (Brion et al, 2005). Otra clara distribución lo muestran los haplogrupos E3b (hacia el sur), J (hacia el sureste), y N3 (hacia el noroeste) (Jobling 2003). Mientras que el haplogrupo I parece estar ampliamente distribuido por toda Europa (Rootsi et al 2004).

## 2.6. Nicaragua

Nicaragua es el país más grande de América Central. Está limitado al norte por Honduras, al este por el mar Caribe, al sur por Costa Rica y al oeste por el océano Pacífico (Fig 4).

Figura 4



Mapa de Nicaragua

### 2.6.1. Grupos étnicos y panorama genético actual

El origen de la población nicaragüense como también de su cultura, se basa en una interesante mezcla étnica. Actualmente, la población está formada por mestizos (69%), caucásicos (17%), afroamericanos (9%) y nativos americanos (5%) (CIA World Factbook 2007).

Después de más de 500 años de mezcla tras la colonización española, los mestizos forman la mayor parte de la población en casi todo el territorio de Nicaragua.

Debido a esta mezcla, no hay un reconocimiento oficial de los antiguos grupos indígenas (Nahua, Chorotega, Subtiaba, y Matagalpa), los cuales habitaron el área pacífica y el centro de Nicaragua, antes y durante la colonización española (Tous 2002). Sin embargo, aun hay una parte de población que se identifica ella misma como indígena. En la parte caribeña hay algunas comunidades de Sumos o Mayangnas, Ramas y Miskitos o Garifunas, los cuales claramente son identificados gracias a su cultura y lengua. Estas características distintivas, sin embargo, están en vías de extinción como resultado de la invasión cultural y demográfica ocurrida.

En cuanto al panorama genético de Nicaragua, al igual que ocurre con otras poblaciones centroamericanas, es bastante poco conocido a pesar de ser el país más grande de Centroamérica. Únicamente existe una publicación realizada por Morera et al (2001), la cual presenta el análisis de diversos marcadores basados en la PCR (LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, GC, y HLA-DQA1) de 100 nicaragüenses que viven en Costa Rica.

Sin embargo, en cuanto a análisis de cromosoma Y, ADN mitocondrial y STRs autosómicos no existen estudios publicados, únicamente los que está llevando a cabo nuestro equipo.

Ya que la población de Nicaragua no está caracterizada genéticamente, no existe ninguna base de datos de ADN específica del país. Esto lleva a cuestionar la base de datos genética que utiliza la policía científica de Nicaragua, ya que podría conducir a interpretaciones estadísticas sesgadas. En consecuencia, el disponer de datos genéticos sobre marcadores STR del cromosoma Y de la población, proporcionaría muchas ventajas a la policía científica y al sistema judicial en general de Nicaragua, a la hora de interpretar los resultados y establecer conclusiones.

A su vez, esta información sería relevante también en España, en cuanto a la evaluación estadística de los resultados en casos de investigaciones forenses y pruebas de paternidad en que estén involucrados individuos de origen nicaragüense. A pesar de que la comunidad nicaragüense residente en España no es tan grande como la de Ecuador o Colombia, es el país de Centroamérica que más inmigrantes aporta a España, por detrás de Honduras (INE, 2008).

## 3. OBJETIVOS

Para este estudio se plantearon dos objetivos principales:

1. Establecer una base de datos de microsatélites del cromosoma Y de la población de Nicaragua, no caracterizada hasta ahora, que sirva como referencia para los cálculos estadísticos utilizados tanto en la resolución de casos forenses en criminalística y en la investigación de la paternidad, como para estudios antropológicos y evolutivos.
2. Investigar el acervo genético masculino específico de la población mestiza de Nicaragua para determinar si existe una predominancia genética Europea, como sucede en muchas otras poblaciones Latino Americanas debido a la colonización española.

Para conseguir estos objetivos se han llevado a cabo los siguientes puntos:

1. Análisis de 17 Y-STRs (DYS19, DYS289I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385a/b, DYS438, DYS439, DYS437,

DYS456, DYS458, DYS635, DYS448 y GATA H4) validados para el estudio forense, de una muestra de la población de Nicaragua de 149 individuos mestizos.

2. Estimación de los principales parámetros estadísticos de interés médico forense, incluyendo los parámetros de diversidad básicos, de los datos obtenidos, que demuestren la utilidad y rendimiento de los marcadores analizados en la resolución de casos judiciales.
3. Asignación de los haplogrupos de cromosoma Y, con el objeto de esclarecer el origen de la contribución masculina en la muestra de Nicaragua.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Selección de muestras de población nicaraguense

En este estudio se ha analizado una muestra poblacional representativa de 149 individuos varones mestizos sanos y no emparentados, que han nacido y residen en Nicaragua.

Todas las personas incluidas en la muestra aceptaron participar voluntariamente en el estudio, previa información de la finalidad del mismo y tras haber firmado el correspondiente consentimiento informado.

De cada individuo, se obtuvo sangre mediante punción dactilar que se depositó en papel FTA®.

### 4.2. Extracción de ADN

El ADN se extrajo mediante el método Chelex (Walsh et al, 1991). Durante cada extracción se llevó a cabo un blanco de extracción para corroborar posibles contaminaciones.

Se cortó una sección de la mancha de sangre de unos 3 mm de lado y se colocó en un tubo estéril de 1.5 ml. Seguidamente se añadió 1 ml de agua desionizada autoclavada.

Se incubó a temperatura ambiente durante aproximadamente 20 minutos, durante los cuales se fue mezclando por inversión.

Se realizó una centrifugación a 12.500 rpm por 3 minutos, y el sobrenadante resultante se desechó.

Posteriormente, se añadieron 130 µl de Chelex 5% usando una punta cortada para obtener un número adecuado

de microesferas. Se mezcló mediante vórtex a máxima velocidad y se pincharon los tubos con una aguja estéril. Los tubos se pusieron a hervir durante 8 minutos.

Finalmente, se vortexó de nuevo y se almacenó la mezcla a -20°C hasta proceder a su análisis.

### 4.3. Cuantificación de ADN

Tras la extracción, el ADN se cuantificó con el Quantifiler Human DNA Quantification kit (Applied Biosystems, INC.), obteniendo un rango de ADN de 0.298-4.952 ng/µl.

### 4.4. Análisis de Y-STRs por electroforesis capilar

Para este propósito, en primer lugar se utilizó el AmpFℓSTR® Yfiler® PCR Amplification Kit (Applied Biosystems, INC.), el cual permite amplificar 17 loci Y-STR (DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385 a/b, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448).

Se llevó a cabo el siguiente protocolo (con ligeras modificaciones de las especificaciones del fabricante):

1. Centrifugar las muestras a 12.500 rpm durante 3 minutos.
2. Preparar un master mix con los siguientes componentes para n muestras:
  - PCR Reaction mix: 9.2 µl x n
  - Primer set: 5 µl x n
  - AmpliTaq Gold DNA Polimerase: 0.8 µl x n
  - Agua: 4.5 µl x n
3. Añadir 12 µl de master mix a cada tubo de PCR.
4. Incorporar 1 µl de agua al tubo correspondiente al control negativo, y 1 µl de Control DNA 007 para el tubo del control positivo.
5. Añadir 1 µl de muestra al resto de tubos.
6. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes:
  - Incubación inicial: 95°C 11 minutos
  - 30 ciclos:
    - Desnaturalización → 94°C 1 minuto
    - Anillamiento → 61°C 1 minuto
    - Elongación → 72°C 1 minuto
  - Incubación final: 60°C 80 minutos
  - Almacenamiento: 10°C ∞

Una vez amplificadas los Y-STRs de interés se procedió a su análisis por medio de electroforesis capilar en un ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, INC.)

Para la preparación de las muestras se preparó un premix con 24.5 µl de Hi-Di™ Formamida y 0.5 µl de GeneScan-500 LIZ Internal Size Standard por tubo de reacción. Posteriormente, se añadió 25 µl de preparación a cada tubo, 1 µl de producto de amplificación y 1 µl de Allelic Ladder en el tubo correspondiente.

Las condiciones de electroforesis fueron las proporcionadas por el fabricante, siguiendo el módulo GS STR POP4 (1mL)G5v2 (Temperatura: 60°C; Tiempo de corrida: 28 min.; Volaje de corrida: 15 kV).

La identificación de los alelos se realizó mediante el Software GeneMapper™ ID, versión 3.1 (Applied Biosystems, INC.).

### 4.5. Análisis estadístico

El análisis de la diversidad génica por locus y haplotípica se llevó a cabo con el programa Arlequin (Excoffier et al, 2005). El poder de discriminación (PD) se calculó como  $PD = 1 - \sum p_i^2$ , donde  $p_i$  es la frecuencia haplotípica.

La determinación de los haplogrupos se llevó a cabo utilizando el *23-Haplogroup Beta Program* del recurso Haplogroup Predictor ([www.hprg.com](http://www.hprg.com)). Se asignó el haplogrupo que resultó en una mayor probabilidad.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se ha caracterizado el perfil de 17 Y-STRs en un total de 149 individuos mestizos de la población de Nicaragua (Anexo1).

### 5.1. Diversidad génica

La muestra poblacional de Nicaragua estudiada ha resultado altamente polimórfica para los 17 loci Y-STR. La diversidad génica, que es una medida del grado de polimorfismo o poder de discriminación por locus, se muestra en la Tabla 2. El marcador DYS385, que incluye una duplicación génica, se espera que sea el más polimórfico. Aunque la estimación de la diversidad ha sido calculada para cada loci de DYS385 por separado (a y b), ambos tienden a ser de los más polimórficos en la muestra. Los loci DYS438, DYS458, DYS389II, y DYS456, son los siguientes más polimórficos en la muestra.

**TABLA 2.**

**DIVERSIDAD GENICA POR LOCUS PARA UN TAMANO POBLACIONAL DE N=149.**

LOCUS	DIVERSIDAD GENICA
DYS19	0.65083
DYS389I	0.49646
DYS389II	0.68728
DYS390	0.62570
DYS391	0.58271
DYS392	0.67767
DYS393	0.48703
DYS385a	0.75258
DYS385b	0.73535
DYS438	0.70905
DYS439	0.66597
DYS437	0.55197
DYS448	0.66525
DYS456	0.68094
DYS458	0.75041
DYS635	0.67413
GATA H4	0.63722
Media	0.64886
s.d	0.07691

**5.2. Diversidad haplotípica**

Se han observado 141 haplotipos diferentes del total de la muestra. Los haplotipos más comunes se muestran en la Tabla 3.

Debido a que los loci Y-STR se encuentran en la región no recombinante del cromosoma Y, la diversidad por locus por sí misma no es necesariamente el valor más significativo para estimar el poder de discriminación (Budowle et al 2005).

En estos casos cobra mayor importancia la diversidad haplotípica. En la muestra de Nicaragua se ha obtenido una elevada diversidad haplotípica, de  $0.9992 \pm 0.0009$ , dando lugar a un valor de 0.0008 de probabilidad de coincidencia al azar. El PD para el conjunto de haplotipos de los 17 Y-STRs fue de 0.9925. Estos resultados muestran que estos

17 loci Y-STR son altamente polimórficos y tienen un elevado PD en esta población mestiza de Centroamérica.

**5.3. Asignación de haplogrupos de cromosoma Y**

A cada una de las muestras se les asignó un haplogrupo según el *23-Haplogroup Beta Program*. Debido a que este método puede resultar poco preciso, se han asignado los diferentes haplotipos en una de las siguientes categorías: Q (nativo americanos), R1b (europeos), otros europeos (incluye los haplogrupos J, R1a, T, G, I, L y H), y africanos (E1b).

De las 149 muestras, la mayoría pertenecen al haplogrupo R1b (46.9%). Los siguientes haplogrupos mayoritarios son Q (14.7%), y E1b (15.4%). Los haplogrupos representados en menor proporción en la muestra poblacional son otros haplogrupos europeos. Los porcentajes de cada haplogrupo y su distribución se muestran en la Tabla 4 y Gráfico 1.

Los resultados muestran que casi el 70 % (69,8%) de los cromosomas Y de la muestra de Nicaragua presentan un origen europeo, mientras que únicamente un 14,7% son de origen nativo americano. Pero estos resultados no son excepcionales en América Latina, ya que la proporción de linajes generalmente considerados europeos alcanza un valor de hasta el 70% en mestizos (además de un 2% adicional de origen africano) (González-Andrade et al 2007).

Específicamente, vale la pena remarcar que dentro de los haplogrupos europeos, el R1b es el mayoritario. La proporción de este haplogrupo en mestizos nicaraguenses se aproxima bastante a la de españoles; la frecuencia de R1b es del 46,9%, mientras que alcanza el 59.6% en España (Flores et al, 2004).

Después de la colonización de las Américas, hace unos 500 años, por parte de los españoles, es de esperar que estos hayan dejado una huella genética en las diversas poblaciones latino americanas. De hecho es lo que se ha observado en varios estudios de población mestiza de Colombia y Ecuador, mediante el análisis de cromosoma Y y ADN mitocondrial (González-Andrade et al 2007; Seielstad et al 2000). En estos estudios se observa, además, una asimetría en la aportación genética masculina y femenina. Mientras que análisis de ADN mitocondrial de poblaciones latino americanas muestran mayores frecuencias de haplogrupos amerindios característicos, el cromosoma Y muestra por el contrario, un origen europeo (Rodríguez-Delfin et al 2001).

Los primeros españoles que se asentaron en el Nuevo Mundo fueron soldados y aventureros varones. Así, la predominancia de varones españoles en relación a mujeres facilitó la mezcla con mujeres nativo americanas. Otro factor que potenció este fenómeno fue la actitud social de aceptar los casamientos entre varones europeos y mujeres indígenas, condenando la situación opuesta (Rodríguez-Delfin et al 2001).

Por otro lado, el haplogrupo E1b (también conocido como E3b) es frecuente en África, particularmente en el norte (Underhill et al 2000; Cruciani et al 2002), aunque se observa también en Europa (Semino et al, 2000) y oeste de Asia (Underhill et al 2000). El relativo alto porcentaje de este haplogrupo en la muestra de Nicaragua podría ser debido en parte a la aportación europea o africana, esta última a raíz de los esclavos africanos que fueron introducidos en el país durante la colonización (Tous 2002).

**TABLA 3**  
**HAPLOTIPOS MAS COMUNES Y NUMERO DE VECES OBSERVADOS EN LA MUESTRA.**

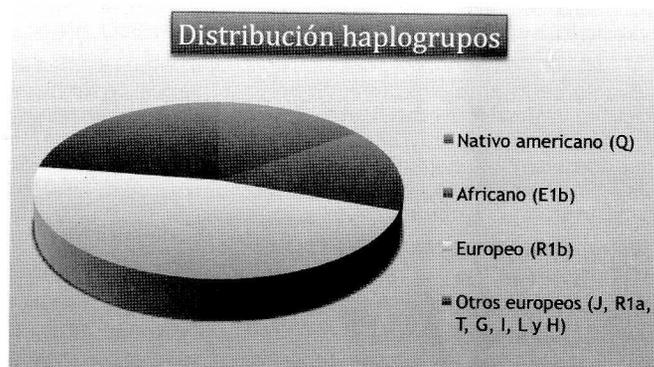
*1	HAPLOTIPO																Nº OBSERVADO
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
14	14	30	22	10	12	12	13,14	9	12	15	20	15	16	24	11	2	
13	14	30	24	9	11	13	13,14	10	10	14	20	15	16	21	12	2	
14	13	30	22	10	11	12	15,18	9	11	16	19	15	17	21	11	2	
14	14	31	24	12	13	13	11,14	13	13	14	18	16	17	23	11	2	
14	13	29	24	10	15	13	14,18	11	13	14	20	16	18	23	12	2	
14	14	30	23	10	11	12	13,16	9	11	15	19	15	16	23	12	3	
14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	17	17	23	13	2	

\*1= DYS19, 2= DYS389I, 3= DYS389II, 4= DYS390, 5=DYS391, 6=DYS392, 7=DYS393, 8= DYS385a/b, 9= DYS438, 10= DYS439, 11= DYS437, 12= DYS448, 13= DYS456, 14= DYS458, 15= DYS635, 16= GATA H4

**TABLA 4**  
**NUMERO DE MUESTRAS Y ORIGEN GEOGRAFICO DE CADA HAPLOGRUPO**  
**OBSERVADO EN LA MUESTRA DE NICARAGUA..**

Origen geográfico	Haplogrupo	Nº de muestras	Porcentaje (%)
Nativo americano	Q	22	14,76
Africano	E1b	23	15,43
Europeo	R1b	70	46,97
Otros europeos	R1a	5	3,35
	J	14	9,39
	I	6	4,02
	G	3	2,01
	H	1	0,67
	L	1	0,67
	T	4	2,68
TOTAL		149	100

Gráfico 1



Distribución de los diferentes haplogrupos de cromosoma Y en la muestra analizada

## 6. CONCLUSIONES

### 6.1. Primera

Este trabajo ha generado una base de datos de marcadores Y-STR de uso forense de la población de Nicaragua, lo que permitirá un uso adecuado de la prueba del ADN para fines tanto en criminalística como en casos de paternidad.

Nicaragua es el país más grande de Centro América, pero hasta la fecha no se había caracterizado genéticamente su población. El disponer de una base de datos del cromosoma Y será una ayuda valiosísima para los investigadores policiales del país, para evaluar e interpretar las evidencias estadísticamente.

Por otro lado, en España existe ya una amplísima comunidad de ciudadanos de origen latino americano. Este fenómeno subraya la importancia de este trabajo, particularmente en casos de delitos en los que la población inmigrante esté involucrada como víctima o como agresora. En definitiva los resultados de este estudio son trascendentales no sólo en Nicaragua, sino también en España.

### 6.2. Segunda

Los 17 marcadores STR del cromosoma Y analizados en la población de Nicaragua son altamente polimórficos y presentan un elevado poder de discriminación en esta población. Con lo cual, estos marcadores prueban ser altamente eficientes para las diferentes aplicaciones forenses.

### 6.3. Tercera

Los resultados del estudio llevado a cabo sobre la población de Nicaragua, se muestran en concordancia con lo descri-

to por otros autores en trabajos sobre población sudamericana, en los que se ha observado un principal componente europeo masculino a través del análisis de marcadores del cromosoma Y.

La proporción elevada de haplogrupos de origen europeo, particularmente del haplogrupo R1b (de elevada frecuencia en España), refleja la impronta genética dejada por los españoles tras la colonización de las Américas. Estos resultados comprueban la existencia de asimetría en la herencia sexual en la población mestiza de Nicaragua, fruto de un apareamiento desigual que comprendería principalmente varones caucasoides y mujeres nativas.

## 7. CONSIDERACIÓN FINAL

Este trabajo ha generado unos hallazgos muy importantes, pero la complementación con un estudio exhaustivo mediante el análisis de SNPs del cromosoma Y de la misma población permitirá corroborar y precisar los diferentes haplogrupos hallados en la muestra. Además, el análisis de STRs autosómicos y de ADN mitocondrial posibilitará alcanzar conclusiones antropológicas más profundas sobre la población de Nicaragua.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Adams SM, Bosch E, Balaesque PL, Ballereau SJ, Lee AC, Arroyo E, et al. The genetic legacy of religious diversity and intolerance: paternal lineages of Christians, Jews, and Muslims in the Iberian Peninsula. *Am J Hum Genet.* 2008; 83(6):725-36.

Alonso A, Martin P, Albarran C, Garcia P, Fernandez de Simon L, Jesus Iturralde M, et al. Challenges of DNA profiling in mass disaster investigations. *Croat Med J.* 2005; 46(4):540-8.

Athey TW. Haplogroup Prediction from Y-STR Values Using a Bayesian-Allele-Frequency Approach. *J Genet Geneal.* 2006; 2: 34-9.

Ayub Q, Mohyuddin A, Qamar R, Mazhar K, Zerjal T, Mehdi SQ, et al. Identification and characterisation of novel human Y-chromosomal microsatellites from sequence database information. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28(2):e8.

Brion M, Dupuy BM, Heinrich M, Hohoff C, Hoste B, Ludes B, et al. A collaborative study of the EDNAP group regarding Y-chromosome binary polymorphisms analysis. *Forensic Sci Int.* 2005; 153 (2-3): 103-8.

Budowle B, Adamowicz M, Aranda XG, Barna C, Chakraborty R, Cheswick D, et al. Twelve short tandem repeat loci Y chromosome haplotypes: genetic analysis on populations residing in North America. *Forensic Sci Int.* 2005; 150(1):1-15.

Bureau of Justice Statistics, USA 2001, [www.ojp.usdoj.gov/bjs/](http://www.ojp.usdoj.gov/bjs/)

Butler JM, Schoske R, Vallone PM, Kline MC, Redd Aj, Hammer MF. A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers. *Forensic Sci Int.* 2002; 129 (1): 10-24.

Carvajal-Carmona L, Soto I, Pineda N, Ortiz-Barrientos D, Duque C, Ospina-Duque J., et al. Strong Amerind/White sex bias and a possible Sephardic contribution among the founders of a population in northwest Colombia. *Am J Hum Genet.* 2000; 67: 1287-95.

Chakraborty BM, Fernandez-Esquer ME, Chakraborty R. Is being Hispanic a risk factor for non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM)? *Ethn Dis.* 1999; 9: 278-83.

Chakraborty R, Stivers D, Su B, Zhong Y, Budowle B. The utility of short tandem repeat loci beyond human identification: implications for development of new DNA typing systems. *Electroforesis.* 1999; 20 (8): 1682-96.

CIA World Factbook 2007, [www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/](http://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/).

- Corach D, Filgueira Risso L, Marino M, Penacino G, Sala A. Routine Y-STR typing in forensic casework. *Forensic Sci Int.* 2001 May 15;118(2-3):131-5.
- Cruciani F, Santolamazza P, Shen P, Macaulay V, Moral P, Olckers A, et al. A back migration from Asia to sub-Saharan Africa is supported by high-resolution analysis of human Y-chromosome haplotypes. *Am J Hum Genet.* 2002; 70 (5): 1197-214.
- de Knijff P. Messages through bottlenecks: on the combined use of slow and fast evolving polymorphic markers on the human Y chromosome. *Am J Hum Genet.* 2000; 67(5):1055-61.
- Dissing J, Binladen J, Hansen A, Sejrson B, Willerslev E, Lynnerup N. The last Viking King: a royal maternity case solved by ancient DNA analysis. *Forensic Sci Int.* 2007; 166(1):21-7.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software packaged for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online.* 2005; 1: 47-50.
- Flores C, Maca-Meyer N, González AM. Reduced genetic structure of the Iberian peninsula revealed by Y-chromosome analysis: Implications for population demography. *Eur J Hum Genet.* 2004; 12: 855-63.
- Foster EA, Jobling MA, Taylor PG, Donnelly P, de Knijff P, Mieremet R, et al. Jefferson fathered slave's last child. *Nature.* 1998; 396(6706):27-8.
- Gill P, Ivanov PL, Kimpton C, Piercy R, Benson N, Tully G, et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat Genet.* 1994; 6(2):130-5.
- Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic application of DNA 'fingerprints'. *Nature.* 1985; 318(6046):577-9.
- González-Andrade F, Sánchez D, González-Solórzano J, Gascón S, Martínez-Jarreta B. Sex-specific genetic admixture of Mestizos, Amerindian Kichwas, and Afro-Ecuadorians from Ecuador. *Hum Biol.* 2007; 78 (1): 51-78.
- González-Andrade F, Sánchez D, Penacino G, Martínez Jarreta B. Two fathers for the same child: a deficient paternity case of false inclusion with autosomal STRs. *Forensic Sci Int Genet.* 2009; 3(2):138-40.
- Green LD, Derr JN, Knight A. mtDNA affinities of the peoples of North-Central Mexico. *Am J Hum Genet.* 2000; 66 (3): 989-98.
- Gusmao L, Brion M, González-Neira A, Lareu M, Carracedo A. Y chromosome specific polymorphisms in forensic analysis. *Leg Med (Tokyo).* 1999; 1 (2): 55-60.
- Haak W, Brandt G, de Jong HN, Meyer C, Ganslmeier R, Heyd V, et al. Ancient DNA, Strontium isotopes, and osteological analyses shed light on social and kinship organization of the Later Stone Age. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105 (47): 18226-31.
- Hammer MF. A recent insertion of an alu element on the Y chromosome is a useful marker for human population studies. *Mol Biol Evol.* 1994; 11(5):749-61.
- Hammer MF. A recent common ancestry for human Y chromosomes. *Nature.* 1995; 378 (6555): 376-8.
- Hammer MF, Karafet TM, Redd AJ, Jarjanazi H, Santachiara-Benerecetti S, Soodyall H, et al. Hierarchical patterns of global human Y-chromosome diversity. *Mol Biol Evol.* 2001; 18(7):1189-203.
- Haplogroup Predictor, [www.hprg.com](http://www.hprg.com).
- Hedman M, Pimenoff V, Lukka M, Sistonen P, Sajantila A. Analysis of 16 Y STR loci in the Finnish population reveals a local reduction in the diversity of male lineages. *Forensic Sci Int.* 2004; 142(1):37-43.
- Hofreiter M, Serre D, Poinar HN, Kuch M, Paabo S. Ancient DNA. *Nat Rev Genet.* 2001; 2(5):353-9.
- Instituto Nacional de Estadística, [www.ine.es](http://www.ine.es).
- Jobling MA. In the name of the father: surnames and genetics. *Trends Genet.* 2001a; 17(6):353-7.
- Jobling MA. Y-chromosomal SNP haplotype diversity in forensic analysis. *Forensic Sci Int.* 2001b; 118(2-3):158-62.
- Jobling MA, Pandya A, Tyler-Smith C. The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing. *Int J Legal Med.* 1997; 110(3):118-24.
- Jobling MA, Samara V, Pandya A, Fretwell N, Bernasconi B, Mitchell RJ, et al. Recurrent duplication and deletion polymorphisms on the long arm of the Y chromosome in normal males. *Hum Mol Genet.* 1996; 5(11):1767-75.
- Jobling MA, Tyler-Smith C. Fathers and sons: the Y-chromosome and human evolution. *Trends Genet.* 1995; 11: 449.
- Jobling MA. A survey of long-range DNA polymorphisms on the human Y chromosome. *Hum Mol Genet.* 1994; 3 (1): 107-14.
- Jobling MA, Tyler-Smith C. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nat Rev Genet.* 2003; 4(8):598-612.
- Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, et al. Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med.* 1997; 110(3):125-33, 41-9.
- Kayser M, Kittler R, Eler A, Hedman M, Lee AC, Mohyuddin A, et al. A comprehensive survey of human Y-chromosomal microsatellites. *Am J Hum Genet.* 2004; 74(6):1183-97.
- Kayser M, Krawczak M, Excoffier L, Dieltjes P, Corach D, Pascali V, et al. An extensive analysis of Y-chromosomal microsatellite haplotypes in globally dispersed human populations. *Am J Hum Genet.* 2001a; 68(4):990-1018.
- Kayser M, Lao O, Anslinger K, Augustin C, Bargel G, Edelmann J, et al. Significant genetic differentiation between Poland and Germany follows present-day political borders, as revealed by Y-chromosome analysis. *Hum Genet.* 2005; 117(5):428-43.
- Kayser M, Roewer L, Hedman M, Henke L, Henke J, Brauer S, et al. Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father/son pairs. *Am J Hum Genet.* 2000; 66(5):1580-8.
- Kayser M, Sajantila A. Mutations at Y-STR loci: implications for paternity testing and forensic analysis. *Forensic Sci Int.* 2001b; 118(2-3):116-21.
- Krenke BE, Viculis L, Richard ML, Prinz M, Milne SC, Ladd C, et al. Validation of male-specific, 12-locus fluorescent short tandem repeat (STR) multiplex. *Forensic Sci Int.* 2005; 151 (1): 111-24.
- Lao O, van Duijn K, Kersbergen P, de Knijff P, Kayser M. Proportioning whole-genome single-nucleotide-polymorphism diversity for the identification of geographic population structure and genetic ancestry. *Am J Hum Genet.* 2006; 78(4):680-90.
- Martínez-Espin E, Martínez-González LJ, Fernández-Rosado F, Entrala C, Álvarez JC, Lorente JA, et al. Guatemala mestizo population data on 15 STR loci (Identifiler Kit). *J Forensic Sci.* 2006; 51(5):1216-8.
- Martínez-Jarreta B, Vasquez P, Abecia E, Budowle B, Luna A, Peiro F. Characterization of 17 Y-STR loci in a population from El Salvador (San Salvador, Central America) and their potential for DNA profiling. *J Forensic Sci.* 2005; 50(5):1243-6.
- Martínez-Jarreta B, Vasquez P, Abecia E, Garde M, de Blas I, Budowle B. Autosomal STR loci (HUMTPOX, HUMTH01, HUMVWA, D18S535, D1S1656 and D12S391) in San Salvador (El Salvador, Central America). *J Forensic Sci.* 2004; 49(3):633-4.
- Matamoros M, Silva S, Garcia O. Population data on nine short tandem repeat loci and D1S80 in a sample from Honduras. *Forensic Sci Int.* 2004; 141(1):39-40.
- Mathias N, Bayés M, Tyler-Smith C. Highly informative compound haplotypes for the human Y chromosome. *Hum Mol Genet.* 1994; 3 (1): 115-23.
- Merriwether DA, Huston S, Iyengar S, Hamman R, Norris JM, Shetterly SM, et al. Mitochondrial versus nuclear admixture estimates demonstrate a past history of directional mating. *Am J Phys Anthropol* 1997; 102: 153-9.
- Mesa N, Mondragón M, Soto I, Parra M, Duque C, Ortiz-Barrientos D, et al. Autosomal, mtDNA, and Y-Chromosome Diversity in Amerinds: Pre- and Post-Columbian Patterns of Gene Flow in South America. *Am J Hum Genet.* 2000; 67: 1277-86.
- Mohyuddin A, Ayub Q, Qamar R, Zerjal T, Helgason A, Mehdi SQ, et al. Y-chromosomal STR haplotypes in Pakistani populations. *Forensic Sci Int.* 2001; 118(2-3):141-6.
- Monsalve MV, Hagelberg E. Mitochondrial DNA polymorphisms in Carib people of Belize. *Proc Biol Sci.* 1997; 264 (1385): 1217-24.

- Montiel R, Francaalacci P, Malgosa A (2007). Ancient DNA and Biological Anthropology: Believers vs. Skeptics. En: Santos C, Lima M. Recent Advances in Molecular Biology and Evolution: Applications to Biological Anthropology (209-249). Kerala (India): Research Signpost.
- Morera B, Sánchez-Rivera G, Jiménez-Arce G, Calafell F, Morales-Cordero AI. Nicaraguan population data on LDLR, GYPA, D7S8, HBG, GC and HLA-DQA1 loci. *Rev Biol Trop*. 2001; 49(3-4): 1253-60.
- Mulero JJ, Chang CW, Calandro LM, Green RL, Li Y, Johnson CL, et al. Development and validation of the AmpFISTR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. *J Forensic Sci*. 2006; 51(1):64-75.
- Nakahori Y, Yamada M, Nakagome Y. Very low rate Y-chromosome mosaicism (1:5,400) detectable by a novel probe enzyme combination. *Jinrui Idengaku Zasshi*. 1989; 34 (3): 261-7.
- Oota H, Settheetham-Ishida W, Tiwawech D, Ishida T, Stoneking M. Human mtDNA and Y-chromosome variation is correlated with matrilineal versus patrilineal residence. *Nat Genet*. 2001; 29(1):20-1.
- Poetsch M, Ludcke C, Repenning A, Fischer L, Malyusz V, Simeoni E, et al. The problem of single parent/child paternity analysis—practical results involving 336 children and 348 unrelated men. *Forensic Sci Int*. 2006; 159(2-3):98-103.
- Poloni E, Semino O, Passarino G, Santachiara-Benerecetti A, Dupanloup I, Langaney A, Excoffier L. Human genetic affinities for Y-chromosome P49a,f/TaqI haplotypes show Sorong correspondence with linguistics. *Am J Hum Genet*. 1997; 61: 1015-35.
- Prinz M, Boll K, Baum H, Shaler B. Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples. *Forensic Sci Int*. 1997; 85(3):209-18.
- Redd AJ, Agellon AB, Kearney VA, Contreas VA, Karafet T, Park H, et al. Forensic value of 14 novel STRs on the human Y chromosome. *Forensic Sci Int*. 2002; 130(2-3):97-111.
- Renfrew C. From molecular genetics to archaeogenetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(9):4830-2.
- Rodríguez A, Arrieta G, Sanou I, Vargas MC, García O, Yurrebaso I, et al. Population genetic data for 18 STR loci in Costa Rica. *Forensic Sci Int*. 2007; 168(1):85-8.
- Rodríguez-Delfin LA, Rubín-de-Celis VE, Zago MA. Genetic diversity in an Andean population from Peru and regional migration patterns of Amerindians in South America: data from Y chromosome and mitochondrial DNA. *Hum Hered*. 2001;51(1-2):97-106.
- Roewer L, Arnemann J, Spurr NK, Grzeschik KH, Epplen JT. Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. *Hum Genet*. 1992a; 89(4):389-94.
- Roewer L, Croucher PJ, Willuweit S, Lu TT, Kayser M, Lessig R, et al. Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. *Hum Genet*. 2005; 116(4):279-91.
- Roewer L, Epplen JT. Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. *Forensic Sci Int*. 1992b; 53(2):163-71.
- Roewer L, Kayser M, Dieltjes P, Nagy M, Bakker E, Krawczak M, et al. Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations. *Hum Mol Genet*. 1996; 5(7):1029-33.
- Roewer L, Krawczak M, Willuweit S, Nagy M, Alves C, Amorim A, et al. Online reference database of European Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes. *Forensic Sci Int*. 2001; 118(2-3):106-13.
- Rolf B, Keil W, Brinkmann B, Roewer L, Fimmers R. Paternity testing using Y-STR haplotypes: assigning a probability for paternity in cases of mutations. *Int J Legal Med*. 2001; 115 (1): 12-5.
- Roots S, Magri C, Kivisild T, Benuzzi G, Help H, Bermisheva M, et al. Phylogeography of Y-chromosome haplogroup I reveals distinct domains of prehistoric gene flow in Europe. *Am J Hum Genet*. 2004; 75(1):128-37.
- Rosser ZH, Zerjal T, Hurler ME, Adojaan M, Alavantic D, Amorim A, et al. Y-chromosomal diversity in Europe is clinal and influenced primarily by geography, rather than by language. *Am J Hum Genet*. 2000; 67(6):1526-43.
- Sánchez-Albornoz N. (1977). La población de América Latina: desde los tiempos precolombinos al año 2000. 2d ed. Alianza Editorial, Madrid.
- Santos FR, Pena SD, Tyler-Smith C. PCR haplotypes for the human Y chromosome based on aliphoid satellite DNA variants and heteroduplex analysis. *Gene*. 1995; 165(2):191-8.
- Seielstad MT, Hebert JM, Lin AA, Underhill PA, Ibrahim M, Vollrath D, et al. Construction of human Y-chromosomal haplotypes using a new polymorphic A to G transition. *Hum Mol Genet*. 1994; 3(12):2159-61.
- Seielstad M, Minch E, Cavalli-Sforza L. Genetic evidence for a higher female migration rate in humans. *Nat Genet*. 1998; 20: 278-80.
- Seielstad MT. Asymmetries in the Maternal and Paternal Genetic Histories of Colombian Populations. *Am J Hum Genet*. 2000; 67: 1062-6.
- Semino O, Passarino G, Oefner PJ, Lin AA, Arbuzova S, Beckman LE, et al. The genetic legacy of Paleolithic Homo sapiens sapiens in extant Europeans: a Y chromosome perspective. *Science*. 2000; 290(5494):1155-9.
- Shen P, Wang F, Underhill PA, Franco C, Yang WH, Roxas A, et al. Population genetic implications from sequence variation in four Y chromosome genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(13):7354-9.
- Sigurdsson S, Hedman M, Sisonen P, Sajantila A, Syvanen AC. A microarray system for genotyping 150 single nucleotide polymorphisms in the coding region of human mitochondrial DNA. *Genomics*. 2006; 87(4):534-42.
- Stumpf MP, Goldstein DB. Genealogical and evolutionary inference with the human Y chromosome. *Science*. 2001; 291 (5509): 1738-42.
- The Y Chromosome Consortium. A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genome Res*. 2002; 12(2):339-48.
- Thomson R, Pritchard JK, Shen P, Oefner PJ, Feldman MW. Recent common ancestry of human Y chromosomes: evidence from DNA sequence data. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(13):7360-5.
- Tous MM. (2002). De la Gran Nicoya precolombina a la provincia de Nicaragua, s.XV y XVI. (Tesis historia) Barcelona, Universidad de Barcelona, Facultad de Geografía e Historia, 525 p.
- Underhill PA, Jin L, Lin AA, Mehdi SQ, Jenkins T, Vollrath D, et al. Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. *Genome Res*. 1997; 7(10):996-1005.
- Underhill PA, Jin L, Zemans R, Oefner PJ, Cavalli-Sforza LL. A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93(1):196-200.
- Underhill PA, Shen P, Lin AA, Jin L, Passarino G, Yang WH, et al. Y chromosome sequence variation and the history of human populations. *Nat Genet*. 2000; 26(3):358-61.
- Vanek D, Saskova L, Koch H. Kinship and Y-chromosome analysis of 7th century human remains: novel DNA extraction and typing procedure for ancient material. *Croat Med J*. 2009; 50 (3): 286-95.
- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 1991; 10 (4): 506-13.
- White PS, Tatum OL, Deaven LL, Longmire JL. New, male-specific microsatellite markers from the human Y-chromosome. *Genomics*. 1999; 57: 433.
- Whitfield LS, Sulston JE, Goodfellow PN. Sequence variation of the human Y chromosome. *Nature*. 1995; 378(6555):379-80.
- Wiegand P, Kleiber M. Less is more—length reduction of STR amplicons using redesigned primers. *Int J Legal Med*. 2001;114(4-5):285-7.
- Y Chromosome Haplotype Reference Database (YHRD), [www.yhrd.org](http://www.yhrd.org).
- Zerjal T, Dashnyam B, Pandya A, Kayser M, Roewer L, Santos FR, et al. Genetic relationships of Asians and Northern Europeans, revealed by Y-chromosomal DNA analysis. *Am J Hum Genet*. 1997; 60(5):1174-83.

ANEXO 1. Haplotipos de 17 Y-STRs de las 149 muestras de Nicaragua y su haplogrupo correspondiente.

ID	DYS19	DYS389I	DYS3891II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS385 a/b	DYS438	DYS439	DYS437	DYS448	DYS456	DYS458	DYS635	GATA H4	Haplogrupo
1	14	14	30	23	10	13	13	14,17	9	11	14	19	14	17	21	11	T
2	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	16	17	23	12	R1b
3	13	14	30	24	9	11	13	13,14	10	10	14	20	18	20	21	12	E1b
4	14	13	29	24	10	13	12	11,14	12	11	15	19	15	16	23	13	R1b
5	16	13	30	21	10	11	14	17,18	11	12	14	21	17	16	21	11	E1b
6	15	12	28	24	11	11	12	17,18	10	13	15	19	14	16	21	12	L
7	14	13	29	23	11	13	13	11,15	11	12	14	19	15	16	23	12	R1b
8	15	13	29	24	10	13	13	11,15	12	11	15	19	17	17	24	12	R1b
9	14	13	29	23	11	13	13	11,14	12	12	14	18	16	18	23	12	R1b
10	14	14	30	22	10	12	12	13,14	9	12	15	20	15	16	24	11	J
11	17	13	28	23	10	11	13	12,12	10	11	15	21	14	17	21	12	I
12	15	13	29	24	11	13	13	11,13	12	12	15	20	15	15	23	12	R1b
13	14	12	28	24	11	13	13	11,14	12	11	15	19	16	19	23	13	R1b
14	15	12	28	22	10	11	14	14,14	11	11	16	21	15	16	20	13	G
15	14	13	29	24	11	13	13	11,15	11	12	14	19	15	16	23	12	R1b
16	14	13	31	24	11	13	15	12,15	12	12	14	19	17	17	24	11	R1b
17	13	13	29	24	11	13	13	12,14	12	12	14	19	15	17	23	11	R1b
18	14	13	29	25	11	13	12	11,14	12	11	15	20	16	16	23	11	R1b
19	14	13	29	24	10	13	13	11,13	12	13	15	19	16	17	23	12	R1b
20	14	13	29	25	10	13	14	12,14	12	11	14	19	15	15	23	12	R1b
21	13	14	30	24	9	11	13	13,14	10	10	14	20	16	17	21	12	E1b
22	14	13	29	24	10	13	14	11,14	12	12	15	19	16	18	23	12	R1b
24	14	13	29	24	10	13	13	11,14	12	12	15	19	15	17	23	13	R1b
26	14	13	29	24	11	13	13	11,14	11	12	15	19	15	18	23	12	R1b
28	14	13	29	23	11	13	14	11,14	12	12	14	18	15	18	23	11	R1b
29	14	12	28	23	10	11	13	14,14	10	12	15	20	14	16	23	12	I
30	13	14	30	24	9	11	13	13,14	10	10	14	20	15	16	21	12	E1b
31	13	14	30	25	9	11	13	14,14	10	10	14	20	16	18	21	12	E1b

ANEXO 1. (continuación)

ID	DYS19	DYS389I	DYS3891II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS385 a/b	DYS438	DYS439	DYS437	DYS448	DYS456	DYS458	DYS635	GATA H4	Haplogrupo
32	14	14	31	24	10	10	13	11,14	12	12	14	18	16	17	23	11	R1b
33	13	14	31	24	10	14	13	14,16	11	11	14	19	17	16	22	9	Q
34	14	12	28	25	11	13	13	11,14	12	12	15	19	16	16	23	12	R1b
35	14	14	31	24	12	13	13	11,14	13	12	14	18	16	17	23	11	R1b
36	14	13	30	23	11	11	13	17,18	10	11	14	20	15	15	24	12	E1b
37	14	13	29	24	11	13	13	10,14	12	13	15	19	15	17	22	12	R1b
38	14	13	30	23	11	13	13	11,14	12	12	14	19	17	17	20	11	R1b
39	13	12	30	23	10	11	13	17,18	10	13	14	20	15	17	21	9	E1b
40	14	13	30	22	10	11	12	15,18	9	11	16	19	15	17	21	11	J
41	17	13	30	24	10	11	13	12,16	11	10	15	20	16	15	23	12	R1a
42	13	14	31	24	10	11	12	16,19	11	12	14	20	15	20	23	12	E1b
43	14	12	29	23	10	11	12	13,17	9	11	15	18	15	14	19	11	J
44	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	20	18	18	23	12	R1b
45	14	13	29	24	11	13	13	11,15	12	12	15	19	13	18	23	12	R1b
46	13	14	31	20	10	14	12	14,17	11	11	15	22	16	18	23	11	Q
47	14	14	31	24	12	13	13	11,14	13	13	14	18	16	17	23	11	R1b
48	14	13	29	23	11	13	13	11,14	12	12	15	18	16	17	23	11	R1b
49	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	16	17	23	11	R1b
50	13	13	31	22	10	14	13	14,16	11	12	14	19	15	17	23	13	R1b
51	15	14	31	23	10	11	12	13,18	9	11	15	21	14	16	22	12	Q
52	13	13	30	23	10	14	13	16,17	12	12	14	21	15	17	22	12	Q
53	16	13	29	24	10	13	13	11,14	12	12	15	19	16	18	23	12	R1b
54	14	14	30	23	10	13	13	11,13	12	13	15	19	16	16	23	12	R1b
55	14	13	29	24	10	13	13	12,14	12	13	15	20	16	17	23	12	R1b
56	14	14	32	25	11	13	13	11,14	12	12	14	18	15	17	23	11	R1b
57	14	12	28	24	10	13	13	11,14	12	12	15	19	16	17	23	12	R1b
58	17	13	27	22	10	11	12	12,12	10	12	15	21	14	16	21	12	I
59	14	12	29	23	10	11	12	13,17	9	11	15	20	15	14	19	11	J

## ANEXO 1. (continuación)

ID	DYS19	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS385 a/b	DYS438	DYS439	DYS437	DYS448	DYS456	DYS458	DYS635	GATA H4	Haplogrupo
60	14	14	31	24	12	13	13	11,14	13	13	14	18	16	17	23	11	R1b
61	14	13	29	24	11	13	13	11,14	11	11	15	19	15	16	23	12	R1b
63	13	13	27	23	10	13	13	13,13	9	12	14	19	16	17	21	11	T
64	13	13	30	24	10	14	12	14,16	12	11	14	19	15	15	23	12	Q
65	16	13	31	24	10	11	12	13,18	10	11	14	20	15	15	21	10	E1b
67	13	14	30	24	9	11	13	13,14	10	10	14	20	15	16	21	12	E1b
68	14	13	29	24	10	13	13	11,14	12	11	14	19	15	19	23	12	R1b
69	14	14	30	23	10	13	13	11,11	12	12	15	19	17	18	24	12	R1b
70	14	13	30	24	11	13	13	11,14	12	11	15	20	16	17	23	12	R1b
71	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	14	18	15	17	23	11	R1b
72	13	11	29	23	10	11	13	17,18	10	13	14	20	15	17	21	9	E1b
73	13	13	30	24	6	15	13	15,16	11	11	14	19	16	15	22	12	Q
74	17	14	31	22	10	11	13	16,17	11	12	15	21	15	16	21	10	E1b
75	14	14	30	24	11	13	13	12,13	12	13	15	19	16	17	25	13	R1b
76	16	13	30	23	10	14	13	14,18	11	13	14	20	15	16	22	12	Q
77	15	13	29	24	10	14	13	11,14	12	11	15	19	15	17	23	12	R1b
79	15	13	30	24	11	11	13	11,14	11	10	14	20	17	16	24	13	R1a
80	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	13	15	19	16	16	23	12	R1b
81	13	13	28	23	10	13	13	13,15	9	12	14	19	16	17	21	11	T
82	14	13	29	24	10	13	13	11,14	12	11	15	19	16	19	23	12	R1b
84	15	14	30	24	11	13	13	11,13	12	12	15	20	15	15	23	12	R1b
85	15	13	30	22	9	11	13	13,14	10	11	14	21	13	16	22	11	G
86	14	13	29	24	10	13	13	11,14	12	12	15	20	16	16	24	11	R1b
87	13	13	30	24	10	15	13	14,16	11	11	14	19	18	15	22	10	Q
88	13	14	31	24	6	15	13	15,16	11	11	14	19	16	15	22	12	Q
89	15	14	31	22	11	11	12	12,13	9	11	16	20	15	16	22	10	J
90	14	13	29	24	11	14	14	11,14	12	12	15	19	15	17	23	12	R1b
91	14	12	29	22	10	11	13	14,14	10	11	15	20	14	16	22	12	I

ANEXO 1. (continuación)

ID	DYS19	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS385 a/b	DYS438	DYS439	DYS437	DYS448	DYS456	DYS458	DYS635	GATA H4	Haplogrupo
92	15	14	31	23	10	11	12	13,18	9	11	15	21	14	16	22	11	J
93	15	12	29	22	11	10	14	16,20	8	11	14	20	15	15	20	11	H
94	14	13	29	24	10	15	13	14,18	11	13	14	20	16	18	23	12	Q
95	14	13	29	24	10	13	13	11,13	12	12	14	19	16	16	25	12	R1b
96	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	11	15	19	16	17	23	11	R1b
97	15	13	31	21	11	11	14	16,17	12	13	14	21	15	16	21	12	E1b
98	14	13	29	24	11	13	13	12,14	12	11	15	19	15	17	23	12	R1b
99	13	13	30	23	10	15	14	14,17	11	11	14	20	14	17	23	13	Q
100	13	12	29	24	10	9	13	14,17	11	12	14	20	15	18	22	11	E1b
101	14	12	29	24	10	13	13	13,13	12	11	15	19	15	17	24	12	R1b
102	14	13	29	23	11	13	13	11,14	12	13	15	19	15	17	21	12	R1b
103	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	15	17	23	12	R1b
104	15	13	31	24	10	13	13	11,14	12	12	15	19	15	17	23	12	R1b
105	15	14	29	24	11	13	13	11,14	13	11	15	19	16	18	23	11	R1b
106	14	14	30	22	10	12	12	13,14	9	12	15	20	17	16	23	11	R1b
107	13	13	31	24	10	16	13	14,17	11	11	14	20	15	17	23	11	Q
108	15	13	29	21	10	11	15	17,19	11	12	14	21	17	17	21	11	E1b
109	16	13	30	21	11	11	13	16,17	11	11	14	21	15	17	21	12	E1b
110	15	13	30	25	11	11	13	11,14	11	11	14	20	16	15	23	13	R1a
111	13	12	29	24	10	11	13	16,17	10	13	14	20	16	14	22	11	E1b
112	16	13	29	23	10	12	14	15,16	10	11	15	20	17	16	20	11	I
114	14	13	30	22	10	11	12	15,18	9	11	16	19	15	17	21	11	J
115	16	14	31	25	11	11	13	11,14	11	10	14	20	15	15	24	12	R1a
116	13	13	29	24	10	15	13	14,19	11	11	14	19	16	19	22	11	Q
118	14	13	29	24	10	13	13	11,14	12	12	15	20	15	16	23	12	R1b
119	14	14	30	23	10	11	12	13,16	9	11	15	19	15	16	23	12	J
120	15	13	29	24	9	11	12	13,16	9	12	14	20	16	14	22	10	J
121	14	13	29	23	11	11	14	12,13	10	13	16	20	16	17	21	11	G

## ANEXO 1. (continuación)

ID	DYS19	DYS389I	DYS389II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS385 a/b	DYS438	DYS439	DYS437	DYS448	DYS456	DYS458	DYS635	GATA H4	Haplogrupo
123	14	13	29	24	11	13	12	11,14	12	12	16	19	16	17	23	11	R1b
124	14	13	30	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	17	18	23	12	R1b
125	13	13	31	24	10	16	13	13,18	11	11	14	20	14	15	23	12	Q
127	13	13	30	24	10	11	13	16,18	9	12	14	20	15	15	22	11	E1b
128	14	13	30	23	11	13	13	11,14	12	12	14	19	17	17	24	11	R1b
130	14	14	30	23	10	11	12	13,16	9	11	15	19	15	16	23	12	J
131	14	13	29	24	11	13	14	11,14	12	12	15	19	15	17	23	12	R1b
132	14	13	29	24	11	13	12	11,14	12	12	15	19	15	17	23	12	R1b
133	14	13	29	23	11	13	13	11,14	12	12	16	19	17	16	23	12	R1b
134	13	13	29	22	10	14	13	14,18	11	13	14	18	15	17	22	13	Q
135	14	14	31	23	9	11	12	13,14	10	10	14	19	17	18	21	12	E1b
136	14	13	29	22	11	13	12	11,14	12	12	15	19	14	15	23	12	R1b
137	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	15	17	23	13	R1b
138	14	13	28	24	11	13	13	11,15	12	11	15	19	15	17	23	12	R1b
139	14	13	30	25	11	13	14	11,15	12	12	15	19	15	20	23	10	R1b
140	13	13	31	24	10	11	13	15,18	10	12	14	20	15	14	22	11	E1b
141	15	13	28	24	11	13	13	11,14	12	12	16	19	16	16	23	11	R1b
142	16	14	30	23	10	12	14	15,16	10	11	15	20	17	16	20	11	I
143	14	13	29	24	10	15	13	14,18	11	13	14	20	16	18	23	12	Q
144	13	13	29	24	11	16	13	14,19	11	13	14	20	16	15	22	13	Q
145	14	14	30	23	10	11	12	13,16	9	11	15	19	15	16	23	12	J
146	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	17	17	23	13	R1b
147	16	13	30	21	11	11	13	17,17	11	11	14	21	15	17	21	12	E1b
148	17	13	30	21	10	11	14	16,17	11	13	14	21	18	17	22	11	E1b
149	16	13	30	23	11	15	14	16,16	9	11	14	19	15	14	21	11	T
150	13	13	29	24	10	16	12	16,21	11	11	14	21	15	15	22	11	Q
151	14	11	27	24	10	13	13	10,15	12	11	15	19	17	17	23	12	R1b
152	13	13	31	23	10	14	13	13,18	11	13	14	18	15	17	22	13	Q
153	13	13	30	23	10	15	14	14,18	11	12	14	20	14	18	23	13	Q
155	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	14	18	16	19	23	12	R1b
156	15	13	29	24	10	11	13	11,14	11	11	14	20	15	15	23	13	R1a
159	13	13	29	24	10	14	14	14,18	11	12	14	19	15	18	22	13	Q
160	13	13	30	23	10	14	13	14,18	11	13	14	18	15	17	22	12	Q
161	14	12	28	23	11	14	13	11,14	12	11	14	18	15	17	23	11	R1b
162	15	13	31	21	10	11	13	16,16	11	12	14	21	15	16	21	12	E1b
163	15	13	29	24	9	11	12	13,15	9	12	14	21	15	14	22	12	J
165	14	13	29	24	11	13	13	11,14	12	12	15	19	17	17	23	13	R1b

## CASO CLÍNICO

# “HEMÓLISIS COMO COMPLICACIÓN EN UNA VÁLVULA CARDÍACA PROTÉSICA”

## “HEMOLYSIS AS A COMPLICATION OF PROSTHETIC MITRAL VALVE”

M<sup>a</sup> Pilar Martín-Fortea<sup>1</sup>, Beatriz Sierra-Bergua<sup>2</sup>, Francisco José Ruiz-Ruiz<sup>2</sup>, Daniel Sáenz-Abad<sup>2</sup>, Miguel Ángel Aibar-Arregui<sup>1</sup>, Teresa Escolar Martínez-Berganza<sup>2</sup>.

1. Servicio de Medicina Interna.

2. Servicio de Urgencias

Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza.

### RESUMEN:

La anemia hemolítica es una complicación poco frecuente asociada a prótesis valvular, tanto mecánica como biológica, y se produce por varios fenómenos. Se presenta el caso clínico de un paciente portador de anuloplastia mitral que acude a urgencias por astenia, cambios en el color de la orina e ictericia, y a través de la presencia de hemólisis se diagnostica de disfunción protésica valvular mediante un ecocardiograma. Se realiza una revisión bibliográfica de la fisiopatología de la hemólisis mecánica producida por prótesis valvulares y su repercusión clínico-analítica, así como de las indicaciones de reintervención quirúrgica.

### PALABRAS CLAVE:

Ictericia, prótesis valvular, hemólisis.

### SUMMARY:

Haemolytic anaemia is an uncommon complication associated with mechanical or biological prosthetic valve. It is developed by different mechanisms. A case of patient with mitral valve repair is presented, who arrive at the emergency room with asthenia, changes in urine colour and jaundice. Haemolysis is proved, and an echocardiogram is necessary to diagnose of prosthetic valve dysfunction. A review of literature about mechanical haemolysis physiopathology, its clinical and analytical consequences and indications for reoperation is made.

### KEY WORDS:

Jaundice, prosthetic valve, haemolysis.

### INTRODUCCIÓN:

Las complicaciones de las válvulas cardíacas protésicas tienen una incidencia de 3-5% paciente/año<sup>1</sup>, siendo la anemia hemolítica una complicación infrecuente<sup>2</sup>. Un 26% de pacientes con prótesis mecánica y un 5% con prótesis biológica presentan hemólisis subclínica<sup>1</sup>. En este caso, la hemólisis puede deberse a múltiples factores como la colisión de las células sanguíneas que condiciona el flujo de regurgitación a través del anillo valvular, la fragmentación del flujo por una dehiscencia de la anuloplastia, y por aceleración rápida del flujo a través de los canales para-anulares<sup>2</sup>. El desgarramiento de las suturas y la rotura de las cuerdas tendinosas son otras causas de lisis hemática. También se ha visto que la falta de endotelización de la prótesis puede contribuir a la aparición de hemólisis<sup>3</sup>.

### OBSERVACIÓN CLÍNICA:

Presentamos el caso de un varón de 54 años, con antecedentes de hipertensión arterial y dislipemia, con el diagnóstico reciente de arritmia completa por fibrilación auricular, miocardiopatía restrictiva y prolapso de la válvula mitral con insuficiencia valvular severa, motivo por el que se realiza cirugía reparadora mitral consistente en anuloplastia con anillo y colocación de dos cuerdas de Gerotex® en alveolo anterior. Tres semanas después de esta intervención

presenta, de forma progresiva, un cuadro de astenia, malestar y presencia de orinas oscuras, al que se añade ictericia cutánea. En la exploración física destaca, además, la presencia de una ingurgitación yugular positiva, una ligera hepatomegalia y la presencia de un soplo pansistólico irradiado a axila, con un 3º ruido audible en decúbito lateral izquierdo. En las pruebas complementarias básicas se aprecia la existencia de una discreta anemia (hemoglobina 10 g/dl, hematocrito 28'4%), una hiperbilirrubinemia a expensas de la fracción indirecta (bilirrubina total 3,3 mg/dl y directa 1 mg/dl), y una cardiomegalia grado II en la radiografía torácica. Ante la sospecha de la existencia de una hemólisis mecánica se solicita nuevas pruebas: haptoglobina sérica, que es inferior a 7,25 mg/dl (normal: 50-150 mg/dl), un frotis sanguíneo donde se visualizan esferocitos (1-2%) y esquistocitos (>1%). Finalmente en un ecocardiograma de urgencia se aprecia la existencia de insuficiencia valvular mitral aguda, con un engrosamiento distal de la dicha válvula, de aspecto mixoide, con un prolapso del velo anterior que condiciona una regurgitación severa; el corazón izquierdo está dilatado y la función sistólica está conservada. Se realiza tratamiento quirúrgico, consistente en una sustitución valvular mitral por prótesis mecánica, al comprobarse la rotura de la cuerda tendinosa primaria al velo anterior.

#### DISCUSIÓN:

La hemólisis mecánica, como la que se produce en nuestro caso, es extracorpúscular, ya que no se debe a defectos intrínsecos del hematíe sino a factores externos, e intravascular, porque los hematíes son destruidos en el lecho vascular y no son secuestrados en otras estructuras del organismo. La hemoglobina que se libera al destruir a los hema-

tíes se une a la haptoglobina que ha sido sintetizada por el hígado. Cuando la cantidad de hemoglobina liberada excede a la haptoglobina sintetizada (entonces se detectan niveles séricos de haptoglobina bajos), se filtra en el riñón, parte se excretará con la orina dando lugar a una hemoglobinuria, y parte será captada por las células tubulares donde se metabolizará a hemosiderina y ferritina<sup>1</sup>. Habrá también un aumento de la bilirrubina debido a una mayor metabolización del grupo *hemo*, sobre todo de la fracción no conjugada o indirecta debido a la saturación de los catabolizadores enzimáticos<sup>4</sup>; clínicamente se manifestará como ictericia. Además, con la lisis se va a liberar la gran cantidad de LDH (lactodeshidrogenasa) que hay en el citoplasma de los hematíes. Por otro lado, la anemia que produce la hemólisis estimula la producción de eritropoyetina para incrementar la síntesis de hematíes, lo que produce un aumento de la liberación de reticulocitos a la sangre<sup>1</sup> (es decir, reticulocitosis en el análisis sanguíneo).

La base del diagnóstico diferencial de la anemia hemolítica, además de la historia clínica, es la realización de un test de Coombs y una extensión de sangre periférica. En la prueba de Coombs directa se buscan anticuerpos que se unen a la membrana del hematíe y activan el complemento para destruirlo; este test es positivo en el caso de una anemia hemolítica autoinmune, pero se han descrito Coombs directos falsamente positivos en algunos pacientes con hemólisis de origen cardíaco<sup>1</sup>. La morfología de los hematíes, en muchas ocasiones, es la clave para orientar la causa de la hemólisis, aunque los datos que aporta no son patognomónicos<sup>4</sup>. Las células características de la hemólisis mecánica secundaria a disfunción de

válvula protésica son los esquistocitos, aunque también se pueden ver en anemias hemolíticas microangiopáticas, como la coagulación intravascular diseminada, la púrpura trombótica trombocitopénica y la eclampsia, y en algunas neoplasias<sup>1,5</sup>.

Ante la presencia de una anemia hemolítica en un paciente portador de prótesis valvular cardíaca hay que realizar un ecocardiograma para determinar la presencia de regurgitación mitral. La indicación principal para realizar una reintervención quirúrgica es la progresión de la regurgitación mitral hasta hacerse severa<sup>1</sup>. Otras indicaciones son la incapacidad para corregir de forma conservadora los síntomas asociados y la necesidad de continuar realizando transfusiones sanguíneas<sup>3</sup>.

#### BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- García MA, Rosero MA, Ábalos A, Talavera M et al. Anemia hemolítica en relación con una dehiscencia de prótesis mitral biológica. *Med Intensiva* 2004; 28: 470-6.
- 2.- Ward RP, Sugeng L, Weinert L, Korcarz C et al. Images in cardiovascular medicine. Hemolysis after mitral valve repair. *Circulation*. 2000; 1695-6.
- 3.- Cerfolio RJ, Orszulak TA, Daly RC, Schaff HV. Reoperation for hemolytic anemia complicating mitral valve repair. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1997;11:479-84.
- 4.- Pratt DS, Kaplan MM. Ictericia. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16<sup>th</sup> ed. Mexico DF: McGraw-Hill; 2005, 270-6.
- 5.- Dhaliwal G, Cornett PA, Tierney LM. Hemolytic anemia. *Am Fam Physician* 2004; 69: 2599-606.



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

# ARCHIVOS

de la Facultad de

# MEDICINA

de Zaragoza

Volumen 49

Núm. 2

Septiembre 2009

## **Editorial**

- Principales Características (Fortalezas) del Nuevo Currículum Médico en la Facultad de Medicina de Zaragoza.

## **Original**

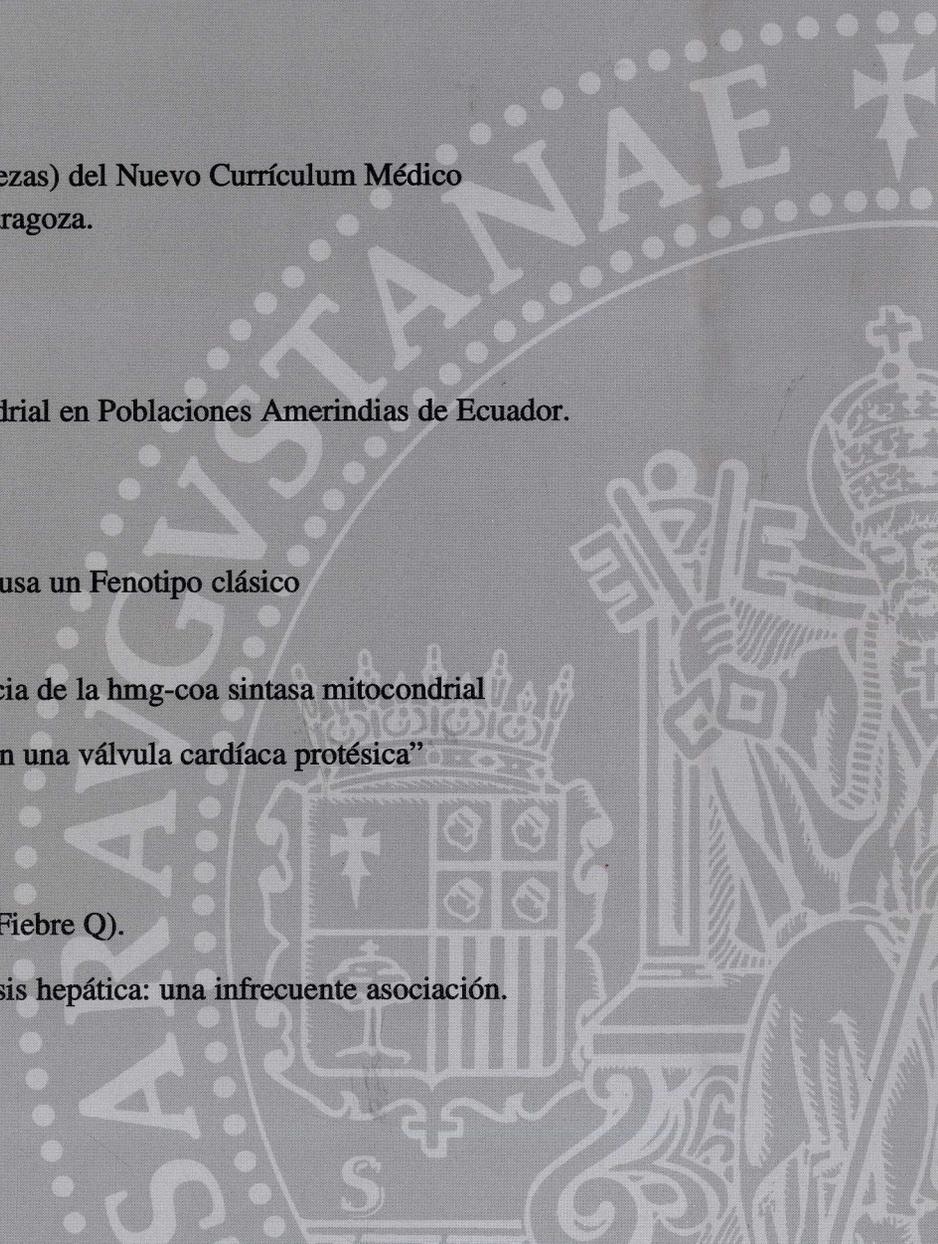
- Diversidad del Genoma Mitocondrial en Poblaciones Amerindias de Ecuador.

## **Revisión**

- Una mutación en el gen *SOS1* causa un Fenotipo clásico en el Síndrome de Noonan
- Bases moleculares de la deficiencia de la hmg-coa sintasa mitocondrial
- “Hemólisis como complicación en una válvula cardíaca protésica”

## **Caso Clínico**

- Infección por *Coxiella Burnetti* (Fiebre Q).
- Quiste epitelial esplénico y peliosis hepática: una infrecuente asociación.



**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 el Ilustre Colegio de Médicos**

Miguel Ángel Lechuga Monge

*Vicepresidente del Ilustre Colegio de Médicos de Zaragoza*

**CONSEJO DE REDACCIÓN**

María Dolores Abós Olivares  
Carlos Aibar Remón  
Julia Aísa Fernández  
Octavio Alda Torrubia  
Juan Antonio Amiguet García  
María Jesús Azanza Ruiz  
Félix Barroa 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<sup>o</sup> Garragori Otero  
Felicitó 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  
António 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<sup>o</sup> 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  
Juan Pie Juste  
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 49, NUMERO 2, SEPTIEMBRE DE 2009

### EDITORIAL

**Principales Características (Fortalezas) del Nuevo Curriculum Médico en la Facultad de Medicina de Zaragoza.**

Jesús Fernando Escanero

---

### ORIGINAL

**Diversidad del Genoma Mitocondrial en Poblaciones Amerindias de Ecuador**

Miriam Baeta Bafalluy

---

### REVISIÓN

**Una mutación en el gen *SOS1* causa un Fenotipo clásico en el Síndrome de Noonan**

María Pilar Ribate Molina, María Arnedo Muñoz, Beatriz Puisac Uriol, María Concepción Gil Rodríguez, Inés Bueno Martínez, Juan Pié Juste, Feliciano J. Ramos Fuentes

---

**Bases moleculares de la deficiencia de la hmg-coa sintasa mitocondrial**

Mónica Ramos Álvarez, María Arnedo Muñoz, Beatriz Puisac Uriol, M<sup>a</sup> Pilar Ribate Molina, M<sup>a</sup> Concepción Gil-Rodríguez, Feliciano J. Ramos Fuentes, Juan Pié Juste

---

**"Hemólisis como complicación en una válvula cardíaca protésica"**

M<sup>a</sup>Pilar Martín-Forteza, Beatriz Sierra-Bergua, Francisco José Ruiz-Ruiz, Daniel Sáenz-Abad, Miguel Ángel Aibar-Arregui, Teresa Escolar Martínez-Berganza

---

### CASO CLÍNICO

**Infección por *Coxiella Burnetti* (Fiebre Q)**

Marta Sánchez Marteles, María Jesús Callejo Plazas, Beatriz Sierra Bergua, Beatriz Amores Arriaga, F.J. Ruiz-Ruiz

---

**Quiste epitelial esplénico y peliosis hepática: una infrecuente asociación.**

Dr. Rafael Pila Pérez, Dr. Pedro Rosales Torres, Dr. Rafael Pila Peláez, Dr. Víctor A. Holguín Prieto, Dr. Roger Campos Batueca

---

Esta revista está subvencionada  
por:

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

ILUSTRE COLEGIO DE  
MÉDICOS DE ZARAGOZA

# ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA



## S U M M A R Y

VOLUME 49, NUMBER 2, SEPTEMBER 2009

### EDITORIAL

#### **Main Characteristics (Strengths) of the New Medical Curriculum at the Faculty of Medicine in Zaragoza**

Jesús Fernando Escanero

---

### ARTICLES

#### **Diversity of the Mitochondrial Genome Amongst Amerindian Populations in Ecuador**

Miriam Baeta Bafalluy

---

### REVISIONS

#### **A mutation in gene *SOS1* causes a classic Phenotype in Noonan Syndrome**

María Pilar Ribate Molina, María Arnedo Muñoz, Beatriz Puisac Uriol, María Concepción Gil Rodríguez, Inés Bueno Martínez, Juan Pié Juste, Feliciano J. Ramos Fuentes

---

#### **Molecular basis of hmg-coa synthase mitochondrial deficiency**

Mónica Ramos Álvarez, María Arnedo Muñoz, Beatriz Puisac Uriol, M<sup>a</sup> Pilar Ribate Molina, M<sup>a</sup> Concepción Gil-Rodríguez, Feliciano J. Ramos Fuentes, Juan Pié Juste

---

#### **"Hemolysis as a complication of prosthetic mitral valve"**

M<sup>a</sup> Pilar Martín-Forteza, Beatriz Sierra-Bergua, Francisco José Ruiz-Ruiz, Daniel Sáenz-Abad, Miguel Ángel Aibar-Arregui, Teresa Escolar Martínez-Berganza

---

### CLINICAL CASE

#### **Coxiella Burnetti infection (Q Fever)**

Marta Sánchez Marteles, María Jesús Callejo Plazas, Beatriz Sierra Bergua, Beatriz Amores Arriaga, F.J. Ruiz-Ruiz

---

#### **Splenic epithelial cyst and hepatic peliosis: an infrequent association.**

Dr. Rafael Pila Pérez, Dr. Pedro Rosales Torres, Dr. Rafael Pila Peláez, Dr. Víctor A. Holguín Prieto, Dr. Roger Campos Batueca

---

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

## Principales Características (Fortalezas) del Nuevo Currículo Médico en la Facultad de Medicina de Zaragoza.

### Main Characteristics (Strengths) of the New Medical Curriculum at the Faculty of Medicine in Zaragoza

Jesús Fernando Escanero

*Catedrático de Fisiología. Vicedecano para Desarrollo e Innovación Pedagógica Médica e Integración en el Espacio Europeo de Enseñanza Superior de la Facultad de Medicina. Zaragoza (España).*

#### RESUMEN

En este trabajo se analizan las principales características del nuevo grado implantado en la Facultad de Medicina de Zaragoza. De cada una de ellas se presenta su significado y/o posibilidades, así como las posibles deficiencias o fallos en su aplicación si las hubiera y se acaba señalando los que, a juicio del autor, podrían ser los caminos a seguir para su mejora y consolidación.

#### SUMMARY

This paper reviews the main characteristics of the new grade established in the Faculty of Medicine of Zaragoza. In each presents its meaning and/or potential and possible shortcomings or failures in its implementation if any and was just pointing out that the author's opinion, could be the ways forward for improvement and consolidation.

#### INTRODUCCIÓN: ESTRUCTURA CURRICULAR.

Con la apertura del nuevo curso, en el pasado septiembre, la Facultad de Medicina de Zaragoza estrenó un nuevo plan de estudios con el que ha comenzado su andadura en el Espacio Europeo de Educación Superior (EEES).

En la tabla de la página siguiente se representa la nueva estructura curricular a la que iremos haciendo referencia a lo largo de este artículo. Cualquier ampliación o referencia a la misma que se necesite puede encontrarse en la memoria de grado presentada a ANECA, en la página web del centro o en el artículo publicado en esta revista por el prof. Vera (1), decano de la Facultad.

#### CONTEXTO.

Dos hechos pueden ser indicativos de la realidad en que nos movemos. El primero hace referencia al envejecimiento de la plantilla, en lo que a profesorado numerario se refiere; nuestra Facultad es una de las más envejecidas, sino la que más de la Universidad. El otro añade un punto de reflexión sobre lo que representa nuestra tradicional postura ante los cambios curriculares. El plan que comienza a extinguirse este año surgió de la reforma de las titulaciones universitarias oficiales realizada en cumplimiento de la Ley de Reforma Universitaria (LRU) de 25 de agosto de 1983 (BOE 209 de 1/9/83). Tras las diferentes reuniones y "pasos"

SEMESTRE	MATERIA	MATERIA	MATERIA	MATERIA	MATERIA	
1º	Biología T	Bioquímica T	Anatomía Humana T	Fisiología T	Invest. Nuevas Tecnologías	30
2º	Morfología Estructura y Función I			Ingles Médico Opción de Facultad 4 etc	Estadística T	30
3º	Morfología Estructura y Función II			PD y T Físicos I	PD y T Microbiología	30
4º	Morfología Estructura y Función III (Neurociencias)			Módulo 3 Semiología Fundamentos de Fisiopatología	Psicología T	30
5º	Especialidades Medicoquirúrgicas		Psiquiatría	PD y T Anat Pat	PD y T Farmacología I	30
6º	Patología Médica y Quirúrgica I			PD y T Cirugía	Com.Asistencia Ética, Leg. I	30
7º	Patología Médica y Quirúrgica II			PD y T Físicos II	Preventiva y Salud P.	30
8º	Patología Médica y Quirúrgica III			PD y T Farmacología II	Com.Asis.Ética Legislación II	30
9º	Medicina Materno Infantil y Medicina de Familia			Opción de Facultad dos materias de 4 etc y 4 etc de libre opción		30
10º	Módulo 3 Prácticas Tuteladas			Prácticas Tuteladas Opción de Facultad		30
11º	Módulo 5 Prácticas Tuteladas					30
12º	Módulo 5 Prácticas Tuteladas				Módulo 5 TFG	30

El color de la leyenda de la Materia, indica el Módulo a la que pertenece, así, la inscripción en negro corresponde al Módulo I (Morfología, Estructura y Función), la inscripción en morado corresponde al Módulo II (Medicina Social, habilidades de comunicación e iniciación a la investigación), La inscripción en azul corresponde al Módulo III (Clínica Humana), La inscripción en marrón corresponde al Módulo IV (Procedimientos diagnósticos y terapéuticos), la inscripción en verde oscuro corresponde al Módulo V (Prácticas tuteladas) y, dentro de este mismo módulo, en verde claro, los 6 créditos destinados al trabajo de fin de Grado. Finalmente, el color fucsia recoge los créditos que suponen la opción propia de la Facultad con arreglo a lo previsto en la legislación normativa general y propia del grado de Medicina. En cuanto a la transversalidad básica que prevé el decreto, se corresponde con las materias marcadas con una T carmesí.

de los 16 grupos que generó el Pleno del Consejo de Universidades (el IX fue el encargado de analizar las titulaciones de Medicina, Enfermería y Fisioterapia), el RD 1417/1990 de 16 de octubre (BOE 278 de 20/11/1990) por el que se establece el título universitario oficial de licenciado en Medicina y las directrices generales propias de los planes de estudio conducentes a la obtención de aquel, suprimió la mayoría de las consideraciones contenidas en la propuesta del grupo IX, dejando clara y meridiana que la formación para la obtención del título era la correspondiente a la formación médica de base, contenida en las normas comunitarias y fijó como objetivos de la misma los establecidos por la Directiva 75/363/CEE. En el año 2002 (BOE de 29/4/2002), cuando Bolonia era una realidad, se publicó el plan en extinción, para comenzar en el curso 2002-3 (2).

**CARACTERÍSTICAS.**

La memoria de grado aprobada por ANECA presenta, entre otras, las siguientes características, tomadas del "Informe de la Sociedad Aragonesa de

Educación Médica sobre el nuevo currículo de la Facultad de Medicina de Zaragoza" (3):

- La interdisciplinaridad como esqueleto de la integración,
- Evita las fragmentaciones o hiatos (¿teoría/práctica?; básicas/clínicas),
- Se trata de un currículum basado en competencias,
- Centrado en el aprendizaje,
- Con la evaluación (alineamiento constructivo) como broche de calidad y
- Con la calidad como guía.

A continuación se procede a analizar cada una de estas características y se añade en cada punto lo que, en nuestra opinión, debería ser el más adecuado devenir para la mejora del grado.

**1. DE LA ASIGNATURA A LA MATERIA.**

**La interdisciplinaridad como esqueleto de la integración.**

Como señala Dogan (4), el término interdisciplinariedad aparece por prime-

ra vez en 1937 de la pluma del sociólogo Louis Wirtz, aunque reconoce que antes la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos había empleado la expresión -cruces de disciplinas- y el Instituto de Relaciones Humanas de la Universidad de Yale había propuesto la expresión -demolición de las fronteras disciplinarias-. El término se define como el establecimiento de nexos recíprocos, interacciones, intercambios múltiples y de cooperación entre ciencias particulares que tienen un común objeto de estudio que se aborda con distintos modelos teóricos y metodológicos (herramientas) para desentrañar los diversos aspectos de su esencia, con el propósito de *lograr un conocimiento más integral del mismo, así como de las leyes que rigen su existencia y desarrollo* (5).

Las disciplinas se instituyen en el siglo XIX con la aparición de las universidades modernas y se desarrollan con el auge de las investigaciones científicas durante el siglo XX. La disciplinariedad es, en consecuencia, la organización de la ciencia en diversas disciplinas (6).

Desde un enfoque histórico, la disciplinariedad<sup>1</sup> constituye un resultado de la fecundidad del desarrollo científico, ya que delimita un dominio de competencia sin el cual el conocimiento se volvería fluido y vago (6). El concepto de disciplina presupone un objeto de estudio científico plenamente identificado y propio, en su objetividad y homogeneidad. Pero con la evolución social y, por tanto, científica, el enfoque disciplinario que constituyó un resultado valioso del y para el avance de las ciencias, se fue convirtiendo en una rémora por el riesgo cada vez más creciente de “hiperespecialización del investigador y cosificación del objeto”, concebido como cosa en sí, desvinculado de la realidad (de la cual es abstraído) y de sus relaciones con otros objetos, con los cuales está indisolublemente relacionado (6).

Los límites disciplinarios, tan necesarios en el surgimiento y desarrollo de las ciencias en su evolución, terminaron aislando las disciplinas unas de otras y, por tanto, ofreciendo una visión fragmentada y parcelada de la realidad. Si la historia oficial anterior de la ciencia es la disciplinariedad, en estos momentos la interdisciplinariedad constituye su continuidad lógica. Por tanto, el desarrollo de la ciencia no solo ha sido disciplinar, sino interdisciplinar también, de lo contrario no hubiera tenido lugar el avance logrado hasta el presente (8).

En la actualidad no solo se habla de interdisciplinariedad, sino también de transdisciplinariedad, multidisciplinariedad, pluridisciplinariedad y polidisciplinariedad y aunque los autores en muchos casos ofrecen definiciones diferenciadoras, en realidad son matices del mismo fenómeno que refleja la necesidad de una concepción más compleja e integradora de la ciencia.

Esta fortaleza ha llevado en nuestro currículo al cambio del nombre de disciplina por el de materia, entendiendo que cada materia puede contener una o varias disciplinas o asignaturas. Ello ha planteado un camino hacia la integración que queda abierto a mayores cotas conforme se desarrolle su implementación.

Se estima que con el nuevo plan la *integración* puede ser un hecho por las

siguientes consideraciones: *ámbito*, ya que son numerosas las materias implicadas; *tiempo*, ya que puede comenzar en el segundo semestre; *procesos de aprendizaje*, que serán objeto de comentario aparte; y *dirección*, que aunque se centra más en la horizontalidad está totalmente abierta a la verticalidad y evaluaciones finales.

Esta apreciación se fundamenta en:

- a) La inclusión en cada semestre de una materia integradora de diferentes asignaturas, con una extensión en torno a los 18 ECTS, buscando que las otras dos que completan/concretan el semestre, de seis créditos cada una, sean lo más complementarias posibles de la materia integradora (véase Tabla 1).
- b) Los grandes bloques de “Morfología, Estructura y Función” y “Patologías Médicas y Quirúrgicas” son la parte central (materias integradoras) de todos los semestres de la carrera, con excepción del primero (materias básicas o troncales, de rama de conocimiento) y de los tres últimos (prácticas tuteladas). Debe precisarse que en el quinto semestre, la materia Especialidades médico quirúrgicas es de 12 créditos.

Aunque en el primer semestre se han mantenido las materias transversales (cuatro de ellas) como indicaba el BOE con objeto de la posible convalidación de la mismas se podría, bajo la denominación “De las moléculas a la célula”, constituir una materia central que integrase la Biología, la Bioquímica y la Fisiología General con 18 créditos. Con ello, sin duda, la homogeneidad integradora del título daría el paso que le falta, a expensas de otros cambios menores que deberán corregirse conforme se vaya implementando.

Un hecho más sobre el que queremos incidir en este apartado es en la utilización de las herramientas que consideramos claves para este camino (el de la integración). Se trata de la utilización del problema o caso clínico y de los seminarios médicos o clínicos como instrumentos de integración, no sólo en los grandes bloques sino también con la pretensión de ser lo más inclusivos

posible con las otras materias del semestre. Este hecho ha sido recomendado por nosotros mismos en diferentes publicaciones (9, 10, 11).

En nuestra consideración apenas puede considerarse como integrado un plan que comienza la integración en el rotatorio, donde se supone que es cuando el estudiante aplica todo lo anteriormente aprendido.

## 2. CONTINUANDO CAMINOS DE INTEGRACIÓN.

### Evita las fragmentaciones o hiatos (*¿teoría/práctica?; básicas/clínicas*).

Esta nueva orientación se espera que soslaye definitivamente la división teoría-práctica, aunque el análisis del cronograma curricular pudiera poner en cuarentena esta aseveración ya que en los últimos tres semestres el estudiante se sumerge en la estructura hospitalaria o de centros de salud. Esta inmersión en el mundo del trabajo y de la práctica debe ser vista más como una cuestión de integración que de separación.

Como se indica en una publicación anterior (12) esta estructuración o hiato (teoría *versus* práctica) tuvo su modelo en la Facultad de Medicina de París, en la que cada asignatura constaba de clases teóricas, acompañada de trabajos prácticos que fueron obligatorios desde 1878, creándose la “École Pratique”, separada de la Facultad, para desarrollarlos. La separación de edificios era expresión de la brecha existente entre lo teórico y lo práctico y que tan hondo caló en algunos profesores. Hoy en día, todavía existen algunos que centran su actividad en los aspectos teóricos considerando la parte práctica como una actividad de segunda clase.

Esta fragmentación o hiato queda frontalmente eliminada con la nueva metodología involucrada y la distribución temporal y grupal de la enseñanza (escasa proporción de clases magistrales).

Respecto al hiato más tradicional (flexneriano): la barrera entre lo básico y lo clínico no se va a cerrar totalmente, pero se da un buen paso en esa dirección debido a la inclusión de la Semiología y Fundamentos de Fisiopatología en

1. En el origen la palabra disciplina designaba un pequeño fuste que servía para autoflagelarse, permitiendo por lo tanto la autocritica; en un sentido degradado la disciplina deviene en un medio de flagelación a los que se aventuran en el dominio de las ideas que el especialista considera como de su propiedad (7). Los profesores han venido considerando y todavía consideran su disciplina como su pequeño feudo, su territorio indivisible.

el segundo año (cuarto semestre), teniendo en cuenta que el primero corresponde a materias transversales.

Por otra parte, se está analizando e intentando poner en práctica un temprano contacto con la realidad ético-médico-hospitalaria en los primeros semestres apoyándose en Salud Pública y Ética Médica y buscando un diseño que no interrumpa ni sobrecargue los semestres (una tarde) con planteamientos donde la imagen y el debate jueguen un papel importante.

### 3. LA COMPETENCIA EN EL EPICENTRO DEL CAMBIO.

**Currículo basado en competencias**  
(Orden ECI/332/2008, de 13 de febrero-BOE del 15).

En la Orden acabada de citar, por la que se establecen los requisitos para la verificación de los títulos universitarios oficiales que habiliten para el ejercicio de la profesión de médico, quedan definidas las competencias que los alumnos deben adquirir durante su formación, agrupadas en los siguientes apartados:

- a) Valores profesionales, actitudes y comportamientos éticos.
- b) Fundamentos científicos de la medicina.
- c) Habilidades clínicas.
- d) Habilidades de comunicación.
- e) Salud pública y sistemas de salud.
- f) Manejo de la información.
- g) Análisis crítico e investigación.

El otro referente es la Directiva 2005/36/CEE, que agrupa y actualiza todas las Directivas relativas al reconocimiento de las cualificaciones profesionales. En ambos documentos se hallan las competencias que inspiran y definen el perfil profesional del médico.

Para Smith (13), el modelo tradicional o flexneriano de educación médica "planifica hacia adelante" ya que comienza con la identificación de los conocimientos, habilidades y destrezas que se juzgan fundamentales para la Medicina, continúa con su enseñanza y evaluación y termina con la esperanza de que los médicos egresados los utilizarán para ser mejores profesionales. En cambio, el enfoque educacional basado en resultados "planifica hacia atrás", ya que a partir de la definición de un egresado con éxito (egresado que un país necesita), define sus atributos, sigue por la

identificación de la forma en que esos graduados lograron esos atributos y termina por la creación de un programa de estudios que incluye esas oportunidades, para que todos los estudiantes tengan las mismas competencias.

Wright et al. (14) colocan las competencias en el foco de atención, o eslabón inicial del plan de formación profesional del médico, inmediatamente después nos hacen pensar en los estudiantes y pacientes como sujeto y objeto, beneficiarios directos de estas acciones, en los medios para alcanzarlas y en cómo evaluarlas para asegurar que los estudiantes saben como aplicar y aplican los cuidados médicos adecuados a pacientes, hacen prevención y promueven estilos de vida saludable en las personas sanas. En este mismo sentido, otros autores sostienen que las competencias facilitarán la evolución de la investigación en educación médica dirigiéndola hacia una investigación sobre resultados educacionales estrechamente ligados a mejorar los resultados clínicos y los estándares de calidad en salud (15). Finalmente, las competencias permitirán a las instituciones educacionales y al cuerpo académico responsable aclarar, precisar y hacer públicas las expectativas sobre los aprendizajes y el grado de expertizaje que se espera alcancen los graduados al término de un período de entrenamiento (16).

En nuestro medio se ha introducido la competencia como base y producto de un determinado tipo de formación. Sin embargo, la aplicación de la misma al modelo educativo se ha realizado dando por supuesto que el modelo de Bolonia era relativamente sencillo y adecuado no sólo para ser comprendido por todo el mundo sino para ser llevado a la práctica correctamente. La mencionada interpretación ha llevado a confundir la competencia con el tiempo destinado a cada materia para cumplir con el programa y a la ingenuidad de suponer que se trata de un concepto unívoco y que basta con enunciarlo para que se aplique y se obtengan los resultados deseados. Se considera que la simple inclusión académica bastará para ser el eje articulador de los nuevos currícula, así como para desarrollar los marcos adecuados, inteligibles y relevantes, de las nuevas propuestas (17). Nada más lejos de la realidad.

Algunas piezas clave deben introducirse para optimizar esta fortaleza siendo la primera la reflexión y debate sobre lo que significa la competencia, para iniciar el análisis de cada una de ellas, estableciendo familias de competencias y competencias compartidas.

La comprensión definitiva de la recomendación anterior se superara cuando se establezcan los resultados de aprendizaje derivados o esperados de cada una de ellas. Esto representa, sin duda alguna, el primer paso del alineamiento constructivo que hemos defendido en otras publicaciones (18) y que se esboza en los siguientes comentarios de Wright (13). Cada una de las áreas (materias) debe ser definida brevemente, pero con precisión. Además, la Institución debe definir niveles de logro intermedios para cada competencia general, que describan las conductas que deberán demostrar los estudiantes en los diferentes niveles de su carrera. Finalmente, se deben desarrollar los criterios para la evaluación de los estudiantes en los diferentes niveles. Disponiendo de los elementos anteriores, es posible definir las actividades que deben efectuar los estudiantes para lograr cada nivel, junto con los instrumentos de evaluación apropiados para demostrar dichos logros.

### 4. DEL ENSEÑAR AL APRENDER: UN CAMINO SIN RETORNO.

**Centrado en el aprendizaje**  
(Declaración conjunta de los Ministros Europeos de Educación reunidos en Bolonia el 19 de Junio de 1999).

El mencionado documento inspira la filosofía del EEES y recoge, orienta y dirige los cambios a realizar. Y el título, un camino sin retorno, no hace otra cosa que recoger el espíritu y compromiso del comunicado de la Conferencia de Ministros europeos responsables de educación superior de los 46 países del Proceso de Bolonia, reunidos en Lovaina el 28-29 de abril de 2009

Sin embargo, se ha malinterpretado el significado de este cambio de paradigma, en el sentido de transferirle todo el trabajo del cambio al alumno, mientras que el profesor debe, piensa, cree que su quehacer sigue siendo el mismo.

Las actuaciones en la Facultad de Medicina de Zaragoza se han dirigido a:

- a). La utilización de un esquema base para la distribución temporal de los

ECTS de cada materia, tal como se presenta a continuación:

- 
- Actividades presenciales:  
45 % (67,5 horas).
  - Actividades no presenciales:  
55 % (82,5 horas).
- 

Distribución de las actividades presenciales.

- Actividades con grandes grupos:  
45 % (30,4 horas)

Clase magistral

- Actividades con pequeños grupos:  
45 % (30,4 horas)
  - Evaluación: 10 % (6,8 horas)
- 

Distribución de las actividades con pequeños grupos.

- Seminarios y/o prácticas:  
30 % (9,1 horas)
  - Trabajos dirigidos y/o revisión:  
20 % (6,1 horas)
  - Resolución de casos clínicos (problemas): 20 % (6,1 horas)
  - Talleres: 20 % (6,1 horas)
  - Tutorías: 10 % (3,0 horas)
- 

TABLA 2. MODELO: MATERIA DE 6 CREDITOS ECTS (150 HORAS).

b). La incorporación de metodologías activas. Desde 1995 venimos incorporando seminarios y talleres sobre el aprendizaje basado en problemas (ABP), habiendo editado y escrito incluso el número 1 de la Colección Guías e Informes de Prensas Universitarias de la Universidad de Zaragoza sobre "Como escribir un problema para el ABP". Desde hace un tiempo (tres años) nuestros alumnos vienen trabajando en mapas conceptuales. Esta metodología activa, de uso individual, la estamos utilizando hoy día, en su aplicación final como trabajo colaborativo, con un resultado esencial para el aprendizaje de los conocimientos. En suma, se trata de que cada alumno realice un mapa conceptual de cada uno de los temas que integran cada módulo o unidad didáctica. El módulo consta de varias lecciones o temas. Antes del examen eliminatorio se trabaja en pequeños grupos debatiendo y discutiendo los mapas realizados en un trabajo cooperativo para llegar a una propuesta final de mapa por tema.

## 5. A CUESTAS CON EL ALINEAMIENTO CONSTRUCTIVO.

### *La evaluación como broche de calidad.*

(Memoria de Grado: La evaluación pasa a ser pieza clave de la calidad, estando la nota final determinada por diferentes componentes (portfolio), cada uno de los cuales tiende a tener claramente definidos los niveles o criterios de éxito. La evaluación, las competencias y la metodología a utilizar deben estar alineadas cognitivamente).

Sin embargo, el criterio general sigue siendo la utilización del examen como herramienta para el mantenimiento del anterior paradigma.

En la elaboración de la Guía docente se trabajó con dos orientaciones precisas. La utilización del portfolio como herramienta educativa e instrumento que permita desglosar la nota final y el establecimiento de los niveles de éxito. Como en los primeros semestres se aborda la base científica de la Medicina, lo que tiene mucho de conocimiento, los niveles de éxito en muchas materias se tomaron directamente del BOE, respondiendo al tradicional aprobado 5 y 6, notable 7 y 8, etc.:

En cada una de las dos orientaciones surgieron diferentes problemas todavía no resueltos o resueltos en parte. En el portfolio se llegó al final a la demanda de cual era la tipología de examen más adecuada y al reflexionar sobre el objeto de la evaluación no se llegó más allá del programa. En ambos casos se llegó a atisbar un eslabón perdido, un punto de encrucijada o de dirección: el cómo se examina está en dependencia de las competencias o parte de la competencia que se aborda, que a su vez será determinante también de la metodología a utilizar (alineamiento constructivo). Cuando se habla sobre el qué, hay que ver una competencia traducida a resultados de aprendizaje, que evidentemente están, implícitamente reseñados en el programa, pero no explicitados. Los resultados de aprendizaje deberían explicitarse con toda la claridad y precisión posibles.

Las guías docentes están en una nueva fase de reelaboración, asumiendo que los resultados de aprendizaje son el referente de lo que se iba a enseñar, cómo se iba a realizar la enseñanza y cómo se iba a evaluar.

Se ha introducido una nueva recomendación en lo que afecta a las competencias transversales. Se trata de la evaluación sin examen para este tipo de competencias (rúbricas, escala de calificación -rating-scale-, check-brick, etc.).

## 6. CALIDAD, CALIDAD, CALIDAD...

### *La calidad como guía.*

Con la implantación de nuevas titulaciones aparecen nuevas figuras, nuevas comisiones y un organigrama de funcionamiento específico para el aseguramiento de la calidad, calidad, calidad...

Desde el Rectorado se está trabajando arduamente para el aseguramiento de la calidad y existe una pieza que parece y puede ser clave para que la incorporación al EEES llegue a buen puerto. Se trata del Coordinador de titulación. En nuestro caso va a estar apoyado por los coordinadores de semestre con quien se ha iniciado ya los primeros contactos para su funcionamiento y por la Comisión de coordinadores de semestre.

Por su parte el Equipo de Gobierno ha establecido dos Comisiones más de extraordinario interés e importancia: la Comisión de Evaluación de la Calidad y la Comisión de Garantía de Calidad de la Titulación, cuyas funciones pueden conocerse en la página web de la Universidad.

A pesar de lo interesante que pueda resultar esta apuesta por la calidad, al final están las personas, en este caso el profesorado. La asunción del proyecto como obra o trabajo colectivo del personal que trabaja en el centro y la disciplina para trabajar en el mismo como una pieza más y no como pieza aislada son, en nuestra opinión las claves del éxito.

### **Coda.**

Quizá para concluir las palabras de La Rochefaucauld en una de sus máximas, cuando dice que no se conoce el valor de las personas hasta que llega la ocasión de demostrarlo, pueden enmarcarnos la situación y el desafío o reto. Cambien valor por valía y tienen el cuadro.

### **BIBLIOGRAFÍA.**

1. Vera, A. El nuevo plan de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza. Arch. Fac. Med. Zarag., 49(1), 3-5, 2009.
2. Escanero, J. F., Mora, S., Arce, J., Bianchi, A., Díaz-Véliz, G., Gargiulo, P., Gorena D., Lafuente, J. V., Terán, C. Currícula de medici-

na en Iberoamérica y España. Zaragoza, Prensas Universitarias de Zaragoza, 2009.

3. Escanero, JF. Informe de la Sociedad Aragonesa de Educación Médica sobre el nuevo currículo de la Facultad de Medicina de Zaragoza. Documento fotocopiado (10 páginas).

4. Dogan, M. ¿Interdisciplinas? (Montevideo, junio 1977, edición en Internet n° 13, corresponde al n° 157 en papel). <http://www.chasque.net/frontpage/relacion/anteriores/9706/interdisciplinas.html>

5. Castro, L. Diccionario de Ciencias de La Educación. Lima, Perú. Ceguro Editores, 2000.

6. Morín, E. Articular las disciplinas: la antigua y la nueva transdisciplinariedad. Itinerario Educativo (Bogotá, D. C.), 39-40, 189-205, 2003.

7. Morín, E. Sobre la interdisciplinariedad. <http://www.pensamientocomplejo.com.org>

8. Ortiz Torres, E., Mariño Sanchez, M<sup>a</sup>. de los A. La Psicodidáctica como enfoque interdisciplinario del proceso de enseñanza-aprendizaje universitario. Revista Pedagogía Universitaria, 12(3), 32-45, 2007.

9. Escanero, J. F. Integración curricular. Educ. Med., 10(4), 217-224, 2007.

10. Escanero, J. F., Soria, M. S., Ezquerro, L., Nieto, J. L., Cisneros, A., Pérez-Castejón. Modelo de integración complementaria para la enseñanza del aparato respiratorio (Ciencias Básicas) en la Facultad de Medicina. Colección Guías e Informes, n° 5. Zaragoza, Prensas Universitarias de Zaragoza, 2007.

11. Gallego, R. (ed.), Palés, J. L., Escanero, J. F., Sanchez-Barceló, E. Innovación educativa en la Universidad: la enseñanza de la Fisiología en el grado de Medicina. Valencia: Publicacions de la Universitat de València, 2008.

12. Escanero, J. F. Bases operativas para la reforma curricular en la Facultad de Medicina. Zaragoza, Secretariado de Publicaciones, Universidad de Zaragoza, 1988.

13. Wright, A. N., Sirvan, M., Moreno R. Educación por competencias: implicancias para el pregrado de medicina. Ars Médica, vol 15, n° 15.

14. Smith S.R. Outcome-based curriculum. En: A practical guide for medical teachers. JA Dent and RM Harden editors. Second edition. Elsevier Limited 2005.

15. Chen F. M., Bauchner H., Burstin H. A call for outcomes research in medical education. Academic Medicine 2004;79: 955-960.

16. Dent J. and Harden R. A practical guide for medical teachers. Second edition. Elsevier Limited 2005.

17. Rué, J. El aprendizaje autónomo en Educación Superior. Madrid: Nancea SA de Ediciones.

18. Escanero, J. F., Soria, M., Lafuente, J. V., Ezquerro, L. Formular y evaluar competencias. Colección Guías e Informes, n° 4. Zaragoza, Prensas Universitarias de Zaragoza, 2007.

# Diversidad del Genoma Mitocondrial en Poblaciones Amerindias de Ecuador

## Diversity of the Mitochondrial Genome Amongst Amerindian Populations in Ecuador

Miriam Baeta Bafalluy

Departamento: Anatomía patológica, medicina legal y forense y toxicología. Universidad de Zaragoza.

### RESUMEN

En este estudio se ha caracterizado genéticamente la población Huaorani, un grupo amerindio de la Amazonía Ecuatoriana de gran interés forense y antropológico, por sus características socioculturales (aislamiento geográfico y social, difícil acceso, bajo mestizaje y reciente descubrimiento), y cuyo estudio contribuirá a ampliar las bases de datos genéticos existentes en Ecuador, así como a la reconstrucción de la historia del país. Mediante el análisis de la región control del ADN mitocondrial de 154 individuos Huaorani, se ha logrado, entre otros: 1) ampliar las bases de datos genéticos con nuevos perfiles amerindios; 2) identificar una baja diversidad intragrupal, que reflejaría un proceso de deriva genética causado por el largo aislamiento y restringido flujo étnico de estos individuos; 3) descartar la contribución genética materna de europeos o afroamericanos en esta población.

### PALABRAS CLAVE:

Ecuador, ADN mitocondrial, estudios genético-poblacionales.

### SUMMARY

In this study, a genetic characterisation is made of the Huaorani population, an Amerindian group from the Ecuadorian Amazon of major forensic and anthropological interest due to its socio-cultural characteristics (its geographic and social isolation, difficult access, low level of racial mixing and recent discovery), whose study will contribute towards extending the existing genetic databases in Ecuador, as well as the reconstruction of the country's history. By analysing the control region of the mitochondrial DNA of 154 Huaorani individuals, amongst other aspects it has been possible to: 1) extend the genetic databases with new Amerindian profiles; 2) identify a low intra-group diversity, which reflects a process of genetic drift caused by the long isolation and restricted ethnic flow of these individuals, and 3) discard the maternal genetic contribution of Europeans or Afro-Americans in this population.

### KEY WORDS:

Ecuador, mitochondrial DNA, population genetics studies.

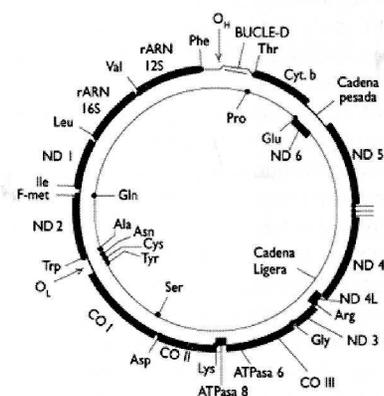
### 2. INTRODUCCIÓN

#### 2.1 El ADN mitocondrial.

##### 2.1.1. Organización genómica.

El ADN mitocondrial (ADNmt) es una molécula circular y cerrada, de un tamaño de 16569 pares de bases, que se localiza en el interior de las mitocondrias celulares. Está formado por dos hebras complementarias, que presentan diferente composición de bases púricas y pirimidínicas, y por lo tanto distinto peso molecular: la hebra pesada (H, heavy), rica en bases púricas (A y G), y la hebra ligera (L, light), que tiene un mayor porcentaje de bases pirimidínicas (C y T) (Figura 2.1).

Figura 2.1



Mapa genético del ADNmt humano. Se representan las dos cadenas de ADNmt con los genes que codifican. OL y OH simbolizan los orígenes de replicación de la cadena ligera y la pesada. El Bucle-D corresponde a la región control.

Correspondencia: Miriam Baeta Bafalluy  
Departamento: Anatomía patológica, medicina legal y forense y toxicología.  
Universidad de Zaragoza.

El ADNmt presenta una organización genética muy compactada. Sus genes no contienen intrones, sino que se disponen uno a continuación del otro sin zonas intermedias no codificantes. Esta economía organizativa se entiende por la teoría Endosimbionte, por la que la mitocondria habría reducido al mínimo su genoma a lo largo de la evolución. En realidad, la mayor parte de las proteínas implicadas en el metabolismo mitocondrial se codifican en el ADN nuclear (ADNn), para posteriormente ser sintetizadas en los ribosomas citoplasmáticos y transportadas a las mitocondrias.

El genoma mitocondrial se organiza en dos regiones bien definidas, la región codificante y la región no codificante o de control.

La región codificante representa el 90% del ADNmt. Contiene pocos genes, un total de 37 (28 codificados por la cadena pesada y 9 por la cadena ligera), que codifican para 13 subunidades del sistema fosforilación oxidativa, 2 ARNs ribosomales y 22 ARNs de transferencia (Pakendorf et al., 2005).

La región control o no codificante corresponde al 10% del genoma restante. También se conoce como asa de desplazamiento (D-loop o bucle D) por la estructura visible en el microscopio electrónico que se forma durante la replicación del ADNmt. Esta región abarca un segmento de aproximadamente 1120 pares de bases, situadas entre los genes del ARN de transferencia de la prolina y la fenilalanina.

La región control es muy polimórfica, y en ella se localizan dos segmentos hipervariables de aproximadamente 400pb: la región hipervariable HVI (posiciones 16024 a 16383) y la región hipervariable HVII (posiciones 66 a 370) (Vigilant et al., 1991). Ambas regiones han sido utilizadas extensamente en estudios de genética poblacional y forense. Existe una tercera región hipervariable (HVIII), entre las bases 438 y 574, pero la falta de estudios limita su uso en el ámbito poblacional y forense. La región control es la menos conservada entre las distintas especies (Walberg 1981), y más del 96% de los cambios de bases son transiciones (Greenberg 1983).

En 1981 Anderson y cols. describieron la secuencia completa y la organización del genoma mitocondrial humano (Anderson et al., 1981). Esta secuencia, posteriormente revisada por Andrews y

cols (1999), es conocida como Cambridge Reference Sequence (CRS) y es utilizada como secuencia de referencia.

#### 2.1.2 Propiedades del ADN mitocondrial.

El ADN mitocondrial presenta unas características que lo convierten en una herramienta especialmente útil en estudios filogenéticos.

##### Poliplasmia.

La poliplasmia hace referencia al elevado número de copias de ADNmt presentes en cada mitocondria y por extensión en cada célula. Cada mitocondria contiene entre 2 y 10 copias de esta molécula de ADN, y a su vez cada célula puede contener cientos de mitocondrias, con lo que el número de copias de ADNmt oscilará entre 1.000 y 10.000, dependiendo de cada órgano y tejido.

##### Herencia materna.

A diferencia del ADNn, la transmisión del ADNmt no es mendeliana, sino que se hereda exclusivamente por vía materna (Giles et al., 1980). Por lo tanto, todas las personas emparentadas por vía materna poseerán idéntico ADNmt (salvo mutaciones puntuales). Esta característica convierte el ADNmt en una valiosa herramienta para estudios genéticos poblacionales y forenses.

Existen diversas teorías que intentan explicar esta peculiar forma de transmisión del ADNmt. La teoría tradicionalmente más aceptada consideraba que durante la fase de fecundación tan solo penetraba en el óvulo la cabeza del espermatozoide, por lo que las mitocondrias paternas (localizadas en el cuello del espermatozoide), no entraban, por lo tanto el óvulo sólo contendría el ADNmt materno. No obstante, esta explicación fue rechazada por otros autores, que consideraban que sí que habría una introducción de ADNmt paterno en el óvulo, aunque éste no perduraría durante todo el desarrollo del cigoto (Ankel-Simons et al, 1996). Esta ausencia de herencia paterna podría estar relacionada con la extrema dilución del ADNmt paterno en relación con el materno, ya que en el oocito existen alrededor de 100.000 copias de ADNmt frente a las 100-150 del espermatozoide. Esta gran diferencia numérica haría que la probabilidad de transmisión de ADNmt paterno a la siguiente generación fuera mínima (Chen et al., 1995a).

Otra posibilidad sería que las mitocondrias del espermatozoide (y su ADNmt) fueran destruidas dentro del oocito mediante mecanismos de reconocimiento y eliminación selectiva. Concretamente, las mitocondrias del espermatozoide serían eliminadas a través del proteasoma del embrión, que reconocería la cola de ubiquitina con la que las proteínas mitocondriales son marcadas en la espermatogénesis (Sutovsky et al., 1999; Thompson et al., 2003).

Hasta hace poco, el modelo de herencia exclusivamente materna del ADNmt era ampliamente aceptado por la comunidad científica (Stoneking et al., 1996), pero recientemente se publicó un estudio en el que se presentaba el primer caso de ADNmt de origen paterno en células humanas. Se observó ADNmt paterno en el músculo esquelético de un paciente con una severa miopatía, aunque en el resto de tejidos tenía el ADNmt materno correspondiente (Schwartz et al., 2002; 2003). Estudios adicionales no pudieron corroborar dicha evidencia de herencia paterna en otros pacientes con patologías musculares similares (Filosto et al., 2003; Schwartz et al., 2004).

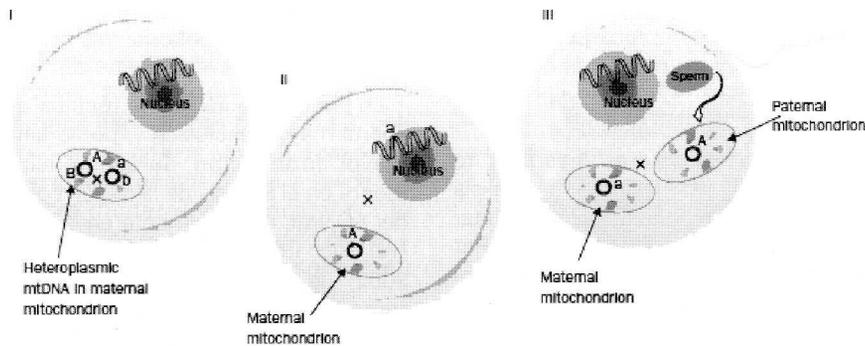
No obstante, en el caso de que se dé una transmisión de ADNmt paterno en humanos, no deja de ser un fenómeno extremadamente raro, que principalmente se relaciona con fallos en el funcionamiento normal del sistema de reconocimiento y eliminación de las moléculas de ADNmt paterno (Pakendorf et al., 2005). Por lo tanto, a efectos prácticos, la herencia materna del ADNmt humano puede seguir considerándose como regla (Schwartz et al., 2003).

##### Ausencia de recombinación.

Otro supuesto largamente aceptado es la ausencia de recombinación en el ADNmt, por lo que este genoma se heredaría como un único locus o haplotipo. Pero, en realidad, la mitocondria tiene los enzimas necesarios para realizar una recombinación homóloga, por lo que teóricamente se podría producir este fenómeno. En la Figura 2.2 se representan las tres posibles situaciones en las que el ADNmt podría recombinar (Morris et al., 2000; Eyre-Walker et al., 2001):

- I) Recombinación entre diferentes moléculas de ADNmt en oocitos heteroplasmáticos.

Figura 2.2



Representación de posibles mecanismos de recombinación del ADNmt (tomada de Morris 2000).

II) Recombinación del ADNmt con secuencias de ADNmt presentes en el ADN nuclear.

III) Recombinación entre el ADN materno y el ADN materno en el oocito fertilizado, previa a la degradación de las mitocondrias en el óvulo, o por su posible persistencia en el óvulo.

En la última década, la publicación de varios artículos abrió el debate sobre la posible recombinación del ADNmt, pero la falta de evidencias y la baja fiabilidad de los resultados, hicieron que gran parte de la comunidad científica no respaldara esos hallazgos (Elsón et al., 2001). Recientemente nuevos estudios han aportado evidencias directas de la presencia de recombinación en el ADNmt. Kraysberg y cols (2004) describieron la presencia de recombinación en el ADNmt en tejido muscular del único caso en el que, hasta ahora, se ha observado la presencia de ADNmt materno y paterno. Otros estudios también han demostrado de forma directa la existencia de recombinación en ADNmt humano, cuando hay presencia de diferentes tipos mitocondriales, ya sean de origen paterno, o resultantes de nuevas mutaciones (D'Aurelio et al., 2004; Zsurka et al., 2005).

En todo caso, a falta de evidencias definitivas y de lograr un consenso total en la comunidad científica, el criterio más aceptado es que de existir la recombinación en el ADNmt no es un fenómeno suficientemente frecuente en la evolución humana para refutar el paradigma de la ausencia de recombinación.

Tasa de mutación.

La tasa de mutación es la probabilidad de que ocurra un tipo concreto de muta-

ción en una unidad de tiempo determinada. Dependerá, por la tanto, de la velocidad de aparición y fijación de las mutaciones en los linajes. Esto permitirá introducir una escala temporal en la evolución molecular para hacer estimas temporales sobre el ancestro común más reciente entre dos linajes, es decir, estimar el tiempo de divergencia entre ellos.

La tasa de mutación estimada para el ADNmt es 6-17 veces más elevada que la calculada en el genoma nuclear (Richter et al., 1988). Esta tasa de mutación no es igual para todo el ADNmt: las regiones hipervariables presentan una tasa de mutación mayor que la región codificante, donde es menos probable que se mantenga una mutación, ya que podría afectar la funcionalidad de algunos de los elementos codificados por dicha región. Se ha estimado que la tasa de mutación para todo el genoma mitocondrial, exceptuando la región control, es de  $1.7 \times 10^{-8}$  sustituciones por sitio por año (Ingman et al., 2000). La rápida acumulación de mutaciones en el ADNmt es el resultado de algunas de las propiedades de este sistema genético:

El ADNmt está especialmente expuesto a la acción de especies oxígeno-reativas generadas en la fosforilación oxidativa de la mitocondria, por lo que es muy sensible al daño oxidativo, principalmente causado por la presencia de radicales libres (Richter et al., 1988).

El ADNmt carece del efecto protector que las histonas proporcionan al ADNn, por lo que es más vulnerable a la acción mutagénica de los radicales.

Los mecanismos de reparación de ADN son menos efectivos que los del ADNn, por lo que se podrán acumular

más cambios introducidos por error (Bogenhagen, 1999).

Heteroplasmia.

Otra característica exclusiva del ADNmt es la heteroplasmia. Este fenómeno se define como la coexistencia de dos o más tipos de ADNmt dentro de la población mitocondrial de un mismo individuo (Tully et al., 2000). Por el contrario, la homoplasmia se refiere a la presencia de una única población de ADNmt.

La proporción de células puede cambiar de predominantemente normales a mutantes en sólo algunas generaciones. La aparición de una mutación en una de las moléculas de ADNmt, crea una mezcla intracelular de moléculas mutantes y normales. Durante la división las mitocondrias se reparten aleatoriamente entre las células hijas, en el proceso conocido como segregación replicativa. Como resultado de ello, después de varios ciclos de división celular, la proporción de ADNmt mutante y normal puede derivar hacia una forma pura, sea la mutante o la normal, llegando a la homoplasmia.

Los estudios de familias con presencia de heteroplasmia han mostrado que aunque hay casos en los que la heteroplasmia se mantiene más o menos constante de una generación a otra, mayoritariamente los niveles de heteroplasmia varían bastante entre generaciones, con una tendencia a la fijación rápida de una de las variantes presentes en el individuo heteroplasmático (Lutz et al., 2000; Brandstatter et al., 2004). Esta rápida fijación podría explicarse por la existencia de un cuello de botella genético en la transmisión de las mitocondrias (y de su ADNmt) de una generación a otra (Hauswirth et al., 1982; Jansen, 2000). Así durante la oogénesis se produciría una drástica reducción de la población de ADNmt, por lo que por mera cuestión de azar podrían permanecer células con todas sus moléculas de ADNmt normales, o únicamente células con la mutación, o bien una mezcla de ambos tipos. A partir de este número limitado número de mitocondrias, se desarrollarían todas las copias presentes en el oocito maduro, y eventualmente el individuo (Poulton et al., 1998).

En un principio se pensó que la heteroplasmia era un fenómeno poco común, y que la mayoría de individuos eran homoplásicos (Comas et al., 1995;

Monnat and Loeb, 1985). Sin embargo, trabajos posteriores y técnicas de mayor sensibilidad han señalado que la heteroplasma es más frecuente de lo que se pensaba, por lo que se postula que todos los individuos serían heteroplasmaáticos en mayor o menor medida (Bendall et al., 1996; Brandstatter et al., 2004). Esta explicación parece más lógica, ya que era bastante improbable que, dada la elevada tasa de mutación del genoma mitocondrial, todos los millones de moléculas de ADNmt presentes en un individuo fueran completamente idénticos.

Existen dos tipos de heteroplasmas: de posición y de longitud. La heteroplasma de posición o puntual es la coexistencia de dos o más ADNmt, que presentan nucleótidos diferentes en la misma posición debido a mutaciones puntuales. Al analizar la secuencia de ADNmt se observará un solapamiento de varias bases nucleotídicas en la misma posición.

Por otro lado, también pueden presentarse heteroplasmas de longitud, en donde los diferentes tipos de ADNmt difieren en el número de bases. Se produce principalmente en las regiones ricas en citosinas, como el tracto poli-C de los segmentos HVI y HVII del ADNmt. En este caso, se observará un solapamiento de secuencias a partir del punto donde ocurre la heteroplasma. Este tipo de heteroplasmas es más frecuente en la población que las heteroplasmas de posición (Carracedo et al., 2000).

Las heteroplasmas pueden producirse a nivel de la mitocondria, célula, tejido o individuo. Por lo tanto se pueden dar diversas situaciones: (1) individuos con más de un ADNmt en un tejido; (2) individuos con un tipo de ADNmt en un tejido y otro tipo diferente en otro tejido; o (3) individuos con heteroplasma en una parte de tejido y homoplasma en otra parte. Si las heteroplasmas ocurren en la línea germinal serán heredadas por su descendencia, mientras que si afecta a la línea somática, será una característica propia de ese individuo.

Habitualmente, en casos de heteroplasma, los diferentes tipos de ADNmt presentes en un individuo difieren en una sola base, siendo infrecuente la heteroplasma en dos o más sitios. No obstante, se ha observado algunos casos de triplasma, es decir, la presen-

cia de heteroplasma en dos sitios de un mismo individuo (Tully et al., 2000). También se ha comprobado que determinados tipos de muestras como los pelos son más susceptibles a presentar fenómenos de heteroplasma.

La aparición de heteroplasmas no invalida el uso del ADNmt en el análisis forense, aunque sí que puede dificultar la interpretación de los resultados. Por ello es importante seguir las recomendaciones y pautas analíticas establecidas por los laboratorios de referencia, para certificar de que se trata efectivamente de una heteroplasma y no de un artefacto o contaminación (Carracedo et al., 2000).

### 2.1.3. Interés forense de los estudios del ADNmt.

El estudio del ADNmt constituye la única vía de análisis posible en determinados casos forenses y ante determinadas muestras (degradadas o escasas). Gracias a sus características, como su elevado número de copias y resistencia a la degradación, el ADNmt puede ser recuperado de muestras cuyo estado dificulta o imposibilita la obtención de perfiles genéticos a partir de marcadores convencionales, como los STRs autosómicos. Además su herencia materna y haplotípica permite vincular individuos emparentados por vía materna. Por todo ello, el ADNmt se ha convertido en una herramienta indispensable en el campo de la genética forense, tanto para casos de agresiones sexuales o paternidades como para identificación de cadáveres o restos antiguos.

## 2.2. El ADN mitocondrial y el estudio de las poblaciones humanas.

El estudio del ADN mitocondrial ha demostrado ser uno de los enfoques más efectivos y potentes para poder determinar la estructura y dinámica de las poblaciones, así como para rastrear importantes movimientos migratorios como el poblamiento post-glacial o post-colonial de América.

El primer estudio de la variabilidad del ADNmt en poblaciones humanas fue realizado por Brown, a principios de los años 80, mediante la digestión de partes del ADNmt con enzimas de restricción (Brown, 1980). Estudios posteriores han empleado 2 métodos distintos para diferenciar los tipos de ADNmt o haplotipos: el análisis con

enzimas de restricción (RFLPs, Restriction Fragment Length Polymorphisms) de todo el genoma y la secuenciación.

La secuenciación es la técnica que aporta mayor resolución y, por lo tanto, mayor información. Se usa principalmente en el análisis de la región control del ADNmt, especialmente en la región HVI (Richards et al., 1996; Salas et al., 2002; Vigilant et al., 1991). Más recientemente se ha logrado secuenciar de forma completa el genoma mitocondrial, lo que ha permitido definir con mayor detalle la filogenia del ADNmt (Achilli et al., 2008; Finnila et al., 2001; Tamm et al., 2007).

De forma independiente, tanto los estudios basados en RFLPs como los de secuenciación han demostrado que los haplotipos (secuencias de ADNmt) forman grupos de ADNmt relacionados filogenéticamente y específicos de una determinada región geográfica (haplogrupos). Además se ha observado la correlación entre los polimorfismos de la región codificante del ADNmt, detectados mediante el uso de enzimas de restricción (Chen et al., 1995b; Torroni et al., 1994b), y los polimorfismos de la región control, determinantes de cada haplogrupo (Richards et al., 1996; Watson et al., 1997). Por lo tanto, ambos tipos de estudios son complementarios y, combinados, ayudan a clarificar las relaciones filogenéticas entre linajes mitocondriales (Kolman et al., 1996; Watson et al., 1997). Por este motivo, se unificó la nomenclatura (Macaulay et al., 1999; Richards et al., 1998) a partir del sistema de haplogrupos iniciado por Torroni y cols, basado en RFLPs (Torroni et al., 1992).

### 2.2.1. Filogeografía del ADN mitocondrial.

El conjunto de estudios de ADN mitocondrial en poblaciones africanas (Chen et al., 1995b), europeas (Torroni et al., 1994b), asiáticas (Kolman et al., 1996; Torroni et al., 1993b) y nativoamericanas (Achilli et al., 2008; Tamm et al., 2007) ha permitido establecer la filogeografía de los principales haplogrupos de ADNmt por todo el mundo. La constatación de la especificidad geográfica de los haplogrupos ha potenciado el uso de la filogeografía del ADNmt para inferir la historia de las poblaciones humanas y para usos forenses (Figura 2.3).

En la clasificación actual de los linajes del ADNmt se considera el haplogrupo L0 de origen africano, como la ramificación más antigua del árbol (Mishmar et al., 2003). En África también se originaron otros haplogrupos como el L3, que derivó en los grupos M y N. La aparición de estos dos grupos marca la salida del hombre moderno de África, y por lo tanto, son los que habrían dado origen a los linajes de ADNmt presentes en Europa, Asia, Oceanía y América.

### 2.2.2. Diversidad del ADNmt en las poblaciones americanas.

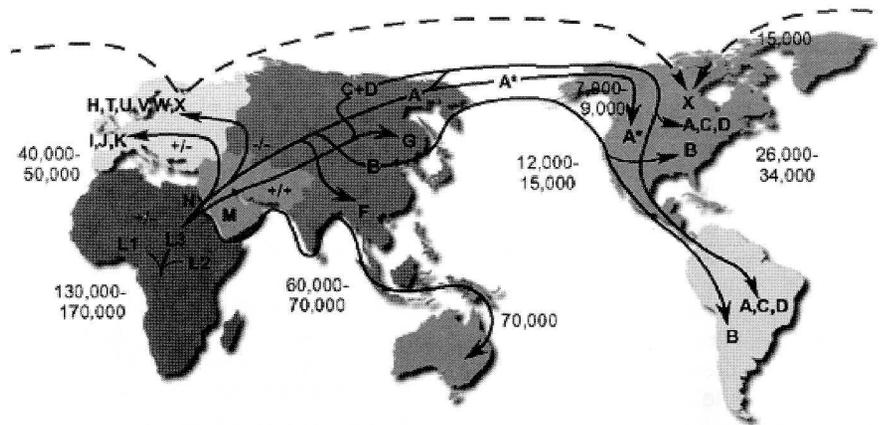
Hasta la fecha, la gran mayoría de los haplotipos de ADNmt hallados en poblaciones indígenas americanas contemporáneas pertenecen a uno de los 4 haplogrupos de ADNmt principales: A, B, C y D (Schurr et al., 1990; Torroni et al., 1993a; Horai et al., 1993); o al haplogrupo minoritario X (Forster et al., 1996; Brown et al., 1998). Este patrón de variación también se ha observado en el análisis de muestras amerindias antiguas (Lalueza et al., 1997; Kaestle et al., 2001; Malhi et al., 2002; Jones, 2003). Por lo tanto, se piensa que estos 5 haplogrupos corresponderían a los principales linajes fundadores de ADNmt de los nativoamericanos, es decir, estos haplogrupos habrían llegado desde Asia con las primeras migraciones de los hombres modernos al continente americano, dando lugar a las poblaciones indígenas americanas. Conjuntamente, representan el 95-100% de todos los ADNmt presentes en las poblaciones indígenas de América (Schurr, 2002).

Cada haplogrupo es caracterizado por una combinación única de polimorfismos en la región codificante y de polimorfismos en la región control (Figura 2.5).

La distribución geográfica de estos haplogrupos sugiere que todos estuvieron presentes en el asentamiento original de América, y que hubo una posterior diferenciación genética de las poblaciones indígenas en las distintas regiones. Así, los haplogrupos A-D son observados en poblaciones indígenas del Norte, Centro y Sur de América, mientras que el haplogrupo X se encuentra exclusivamente en América del Norte (Brown et al., 1998; Torroni et al., 1993a).

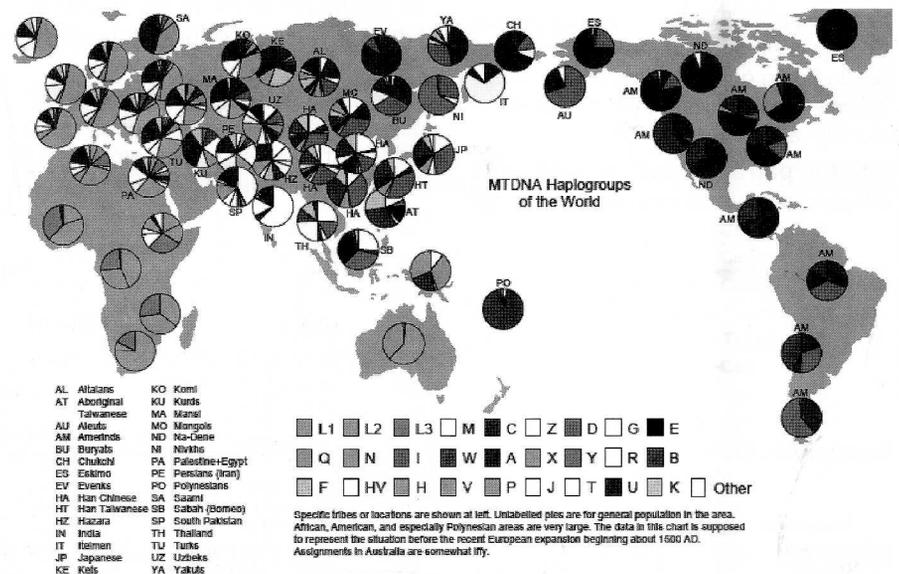
Si se consideran los 3 grupos lingüísticos nativoamericanos principales, se observa que en los Eskimos y los Aleuts

Figura 2.3



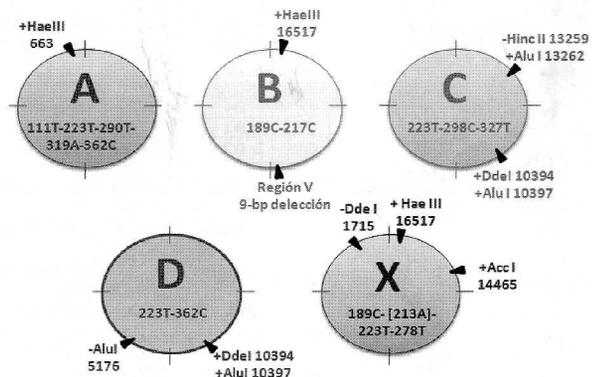
Representación de la dispersión de los principales haplogrupos de ADNmt en los cinco continentes (De Salle and Yudell, 2002).

Figura 2.4



Distribución continental de los principales haplogrupos de ADNmt (McDonald J. D. 2005).

Figura 2.5



Los círculos representan los 5 linajes de ADNmt fundadores de los nativoamericanos, que están caracterizados por un conjunto de RFLPs (fuera del círculo) y polimorfismos en HVS-I (dentro). Modificada de (Schurr, 2002).

predominan el haplogrupo A y D respectivamente. También en el caso de los Na-Dene, el haplogrupo A es mayoritario (especialmente en los del Norte) (Forster et al., 1996).

En cambio, los Amerindios presentan todos los haplogrupos fundadores, pero con diferente distribución. El haplogrupo A generalmente ocurre en frecuencias más elevadas en el norte del continente, al contrario que los haplogrupos C y D mayormente observados en el Sur de América. Por otro lado, el haplogrupo B no parece presentar una distribución clinal, a pesar de su ausencia en el norte de América del Norte.

Si bien los haplogrupos A-D normalmente aparecen juntos en las poblaciones nativas, algunas tribus carecen de haplotipos de al menos uno de esos haplogrupos. Esto es especialmente frecuente en poblaciones del Centro de América, en que predominan los haplogrupos A y B (Salzano, 2002; Torroni et al., 1994a).

Estos patrones podrían reflejar la influencia de la deriva genética y del

efecto fundador en la distribución de los haplotipos de ADNmt en las poblaciones americanas, causando su fijación o extinción estocástica (Schurr et al., 1990; Torroni et al., 1993a; Kolman et al., 1995). Dicho de otro modo, lo que habría ocurrido es que cuando un pequeño grupo se separaba y aislaba del grupo fundador, puede que no tuviera todos los haplogrupos presentes en la población original. En consecuencia, los descendientes de este grupo sólo podían presentar unos pocos haplogrupos de los originales (efecto fundador). Además, debido a su menor tamaño poblacional, estos grupos escindidos serían más sensibles al efecto de las mutaciones a nivel de toda la población (deriva genética). Esto explicaría las posibles diferencias en las frecuencias de los polimorfismos entre el grupo fundador y el derivado (Schurr, 2002).

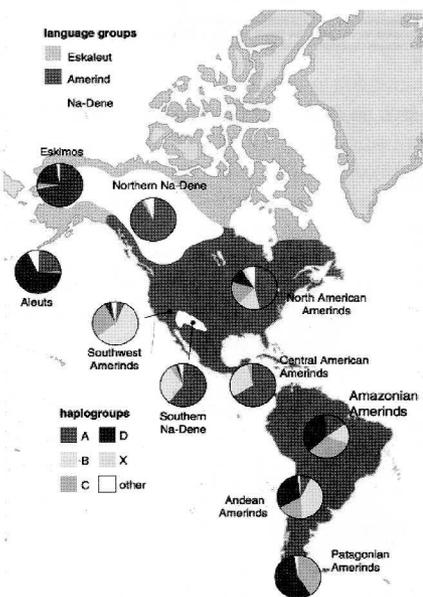
Esta explicación estaría respaldada por la alta frecuencia de algunos haplotipos "particulares" (variantes genéticas únicas exclusivas de pequeños grupos

aislados) en diferentes tribus amerindias (Schurr et al., 1990; Torroni et al., 1993a). Por lo tanto, el aislamiento tribal y el efecto fundador podría conducir a una divergencia genética tribal, causando la diferente distribución de haplotipos entre poblaciones.

Entre las poblaciones indígenas americanas también se han detectado algunos haplotipos no pertenecientes a los 5 linajes maternos mayoritarios (Starikovskaya et al., 1998). Aunque la presencia de estos haplotipos podría relacionarse con la aparición de haplogrupos o haplotipos fundadores no descritos, la mayoría deriva de haplogrupos fundadores que han sufrido mutaciones en los polimorfismos claves para definirlos. El resto de haplotipos "nuevos" son el resultado de la mezcla con poblaciones no nativoamericanas procedentes de migraciones posteriores, como la llegada de los europeos y esclavos africanos a América a partir del siglo XV.

En la Tabla 2.1, se describen los haplogrupos en los que se han agrupado todos los nativoamericanos. Estudios

Figura 2.6



Distribución de los haplogrupos entre las poblaciones indígenas de América.

Tabla 2.1

Hg	HVS I	HVS II	Región codificante
A	16223-16290-16319	73-235-263	663, 1736, 4248, 4824, 8794
<b>A2</b>	<b>16111</b> -16223-16290-16319-16362	<b>64-73-146</b> -153-235-263	<b>8027, 12007</b>
<b>A2a</b>	<b>16111</b> -16223-16290-16319-16362	<b>64-73-146</b> -153-235-263	<b>3330</b>
B	16189	73-263	8281-8289del
B4bd	16189-16217	73-263	827, 15535
B4b	16189-16217	73-263	499, 4820, 13590
<b>B2</b>	16189-16217	73-263	<b>3547, 4977, 6473, 9950, 11177</b>
C	16223-16298-16327	73-249d-263	3552A, 9545, 11914, 13263, 14318
<b>C1</b>	16223-16298- <b>16325</b> -16327	73-249d-263- <b>290-291d</b>	-
<b>C1b</b>	16223-16298-16325-16327	73-249d-263-290-291d	<b>493</b>
<b>C1c</b>	16223-16298-16325-16327	73-249d-263-290-291d	<b>1888, 15930</b>
<b>C1d</b>	16223-16298-16325-16327	73-249d-263-290-291d	<b>7697</b>
C4	16223-16298-16327	73-249d-263	2232iA, 6026, 11969, 15204
<b>C4c</b>	16223- <b>16245</b> -16298-16327	73-263	<b>11440, 13368, 14433, 15148</b>
D	16223-16362	73-263	4883, 5178 <sup>a</sup>
D4	16223-16362	73-263	3010, 8414, 14668
<b>D1</b>	16223- <b>16325</b> -16362	73-263	<b>2092</b>
<b>D2</b>	<b>16129</b> -16223-16271-16362	73-263	3316, <b>7493, 8703</b> , 9536, 11215
<b>D2a</b>	<b>16129</b> -16223- <b>16271</b> -16362	73-263	11959
<b>D2b</b>	16129-16223- <b>16271</b> -16362	73-263	9181
<b>D4h3</b>	16223- <b>16241-16301-16342</b> -16362	73-263	3336, <b>3396</b> , 3644, 5048, <b>6285, 8949, 9458, 13135</b>
<b>D3</b>	16223- <b>16319</b> -16362	73-263	951, 8020, 10181, 15440, 15951
X	16189-16223-16278	73-153-263	6221, 6371, 13966, 14470
<b>X2a</b>	16189- <b>16213</b> -16223-16278	73-153-195- <b>200</b> -263	1719, <b>8913, 12397, 14502</b>

Mutaciones en la región control (HVS-I y HVS-II) y región codificante que definen los haplogrupos de ADNmt nativoamericanos. En negrita se determina las mutaciones que definen los subclados (Tamm et al., 2007).

recientes consideran que hay 4 haplogrupos mitocondriales fundadores comunes (A2, B2, C1, and D1), conocidos como "panamericanos", y 5 linajes menores (C4c, D2a, D3, D4h3, and X2a) (Tamm et al., 2007; Achilli et al., 2008; Perego et al., 2009).

### 2.2.3. Diversidad de ADNmt en América del Sur.

El proceso de colonización del continente sudamericano (y del resto del continente), por parte de los primeros humanos modernos, sigue siendo tema de controversia. No hay consenso sobre puntos clave de la colonización como la época en que se produjo, el número de migraciones que se dieron o las rutas que se siguieron (Keyeux et al., 2002; Rodríguez-Delfin et al., 2001; Schurr, 2004).

Pero más allá del modelo de migración, se considera que tras el asentamiento inicial en Sudamérica, las poblaciones nativas habrían experimentado cierto aislamiento y tribalización, dando lugar a linajes mitocondriales únicos en algunos casos (Lalueza et al., 1997; Torroni et al., 1993a). No obstante, el posterior crecimiento poblacional y sedentarización de estos grupos habrían reducido los efectos de la deriva genética e incrementado el flujo génico entre grupos locales, contribuyendo a la formación de acervos genéticos regionales, que se habrían mantenido durante miles de años (Schurr, 2004). La mayoría de estudios de ADN antiguo respaldan este supuesto, ya que han demostrado patrones de continuidad entre poblaciones antepasadas y contemporáneas (Moraga et al., 2000).

Frecuencias de los haplogrupos ADNmt y diversidad haplotípica (H) de poblaciones amerindias de varios países del Centro y Sur América. Los haplogrupos distintos a A, B, C y D se incluyen en el grupo N. En rojo, se señala el haplogrupo más predominante en cada población.

(a) Clasificación de familias lingüísticas establecida por Ruhlen, 1998. \*Origen controvertido  
(b) Referencias: (1)Torroni et al., 1993; (2) Santos et al., 1994; (3) Kolman et al 1995; (4) Mesa et al., 2000; (5) Keyeux et al, 2002; (6) Melton et al, 2007; (7) Rickards et al 1999; (8) Vona 2005; (9) Torroni et al., 1993; (10) Ward et al, 1996; (11) Lewis et al 2005; (12) Fuselli et al, 2003; (13) Bert et al, 2001; (14) Moraga et al, 2000; (15) Bailliet et al, 1994; (16) Demarchi et al, 2001; (17) Merriwether et al, 1993.

(c) Localización geográfica en la Figura 2.7.

País/Población	n	Haplogrupo ADNmt (%)						Familia lingüística <sup>a</sup>	Ref <sup>b</sup>
		A	B	C	D	N	H		
<b>AMERICA CENTRAL</b>									
<b>COSTA RICA</b>									
(1) Bribri-Cabecar	24	54.0	46.0	0.0	0.0	0.0	0.52	Chibcha-Paeza	1
(2) Guataso	20	85.0	15.0	0.0	0.0	0.0	0.27	Chibcha-Paeza	1
(3) Huetar	27	70.0	4.0	0.0	26.0	0.0	0.46	Chibcha-Paeza	2
<b>PANAMÁ</b>									
(4) Kuna	79	77.0	23.0	0.0	0.0	0.0	0.36	Chibcha-Paeza	1, 3
(5) Ngöbé	46	67.0	33.0	0.0	0.0	0.0	0.45	Chibcha-Paeza	3
(6) Teribe	20	80.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.34	Chibcha-Paeza	1
<b>AMERICA DEL SUR</b>									
<b>COLOMBIA</b>									
(7) Embera	22	73.0	22.0	0.0	0.0	5.0	0.43	Chibcha-Paeza	4
(8) Huitoto	22	27.3	4.5	22.7	45.5	0.0	0.69	Ge-Pano-Caribe*	5
(9) Ijka	40	90.0	2.5	7.5	0.0	0.0	0.19	Chibcha-Paeza	6
(10) Ingano	27	15.0	44.0	37.0	0.0	4.0	0.67	Andina	4
(11) Siona	12	75.0	16.7	8.3	0.0	0.0	0.43	Ecuatorial-Tucana	5
(12) Ticuna	54	13.0	15.0	39.0	33.0	0.0	0.71	Ecuatorial-Tucano	4
(13) Wayuu	40	25.0	35.0	38.0	0.0	2.0	0.69	Ecuatorial-Tucano	4
(14) Zenu	37	19.0	41.0	30.0	5.0	5.0	0.72	Chibcha-Paeza	4
<b>ECUADOR</b>									
(15) Cayapa	30	33.3	20.0	16.7	30.0	0.0	0.76	Chibcha-Paeza	7
<b>VENEZUELA</b>									
(16) Guahibo	59	47.5	3.39	49.2	0.0	0.0	0.43	Ecuatorial-Tucana	8
(17) Makiritare	10	20.0	0.0	70.0	10.0	0.0	0.51	Ge-Pano-Caribe	9
<b>BRASIL</b>									
(18) Gaviao	27	15.0	15.0	0.0	70.0	0.0	0.48	Ecuatorial-Tucana	10
(19) Kraho	14	28.6	57.1	14.3	0.0	0.0	0.62	Ge-Pano-Caribe	9
(20) Macushi	10	10.0	20.0	30.0	40.0	0.0	0.78	Ge-Pano-Caribe	9
(21) Marubo	10	10.0	0.0	60.0	30.0	0.0	0.60	Ge-Pano-Caribe	9
(22) Ticuna	28	17.9	0.0	32.1	50.0	0.0	0.64	Ecuatorial-Tucana	9
(23) Wapishana	12	0.0	25	8.3	66.7	0.0	0.53	Ecuatorial-Tucana	9
(24) Xavante	25	16.0	84.0	0.0	0.0	0.0	0.28	Ge-Pano-Caribe	10
(25) Yanomama	24	0.0	16.7	54.2	29.2	0.0	0.62	Chibcha-Paeza	9
(26) Zoro	30	20.0	7.0	13.0	60.0	0.0	0.60	Ecuatorial-Tucana	10
<b>PERU</b>									
(27) Ancash	33	9.1	51.5	18.2	21.2	0.0	0.67	Andina	11
(28) Arequipa	22	9.0	68.0	14.0	9.0	0.0	0.53	Andina	12
(29) Tayacaja	61	21.0	33.0	13.0	30.0	3.0	0.75	Andina	12
<b>BOLIVIA</b>									
(30) Aymara	33	0.0	93.9	3.0	3.0	0.0	0.12	Andina	13
(31) Quechua	32	15.6	75.0	9.4	0.0	0.0	0.42	Andina	13
(32) Chimane	41	39.0	53.7	4.9	0.0	2.4	0.57	Ge-Pano-Caribe	13
(33) Mosetén	20	40.0	55.0	0.0	0.0	5.0	0.56	Ge-Pano-Caribe	13
(34) Ignaciano	22	18.2	36.4	40.9	0.0	4.5	0.70	Ecuatorial-Tucana	13
(35) Trinitario	35	14.3	40.0	37.1	2.9	5.7	0.70	Ecuatorial-Tucana	13
(36) Movima	22	9.1	9.1	63.6	18.2	0.0	0.57	Ecuatorial-Tucana	13
(37) Yuracaré	28	39.3	32.1	21.4	3.6	3.6	0.72	Ecuatorial-Tucana	13
<b>ARGENTINA</b>									
(38) Choroti	20	15.0	40.0	30.0	15.0	0.0	0.74	Ge-Pano-Caribe	14
(39) Mapuche	58	5.3	31.0	20.6	29.3	10.3	0.78	Andina	15
(40) Mataco (Chaco)	28	10.7	35.7	0.0	53.6	0.0	0.60	Ge-Pano-Caribe	1
(41) Mataco	44	9.1	54.5	20.5	15.9	0.0	0.64	Ge-Pano-Caribe	16
(42) Pilagá	41	4.9	36.6	26.8	29.3	2.4	0.72	Ge-Pano-Caribe	16
(43) Toba	56	20.0	41.0	5.0	30.0	4.0	0.71	Ge-Pano-Caribe	16
<b>CHILE</b>									
(44) Atacameños	50	12.0	72.0	10.0	6.0	0.0	0.46	Chibcha-Paeza	17
(45) Aymara	172	6.4	67.4	12.2	14.0	0.0	0.51	Andina	13, 17
(46) Huilliches	118	4.0	29.0	19.0	48.0	0.0	0.65	Andina	14, 17
(47) Mapuche	111	0.0	7.2	44.1	48.7	0.0	0.57	Andina	14
(48) Pehuenche	205	2.0	8.0	40.0	50.0	0.0	0.59	Andina	14, 17
(49) Yaghan	21	0.0	0.0	48.0	52.0	0.0	0.52	Andina	14

Figura 2.7



Distribución geográfica de las poblaciones recogidas en la Tabla 2.2.

Otro periodo clave en la historia de las poblaciones nativoamericanas fue la llegada de los europeos al Nuevo Mundo, que cambió radicalmente la realidad cultural, social y genética de los indígenas americanos. Por un lado, las guerras y las epidemias causaron la muerte de muchos indígenas y, en algunos casos, la desaparición de pueblos enteros. Esta declinación demográfica supuso también una reducción de la diversidad genética de estas poblaciones, así como a la formación de nuevas poblaciones con individuos procedentes de otros pueblos desaparecidos. Por otro lado, el auge de las interacciones con los colonizadores europeos, así como la llegada de esclavos africanos durante los siglos XVI-XVIII,

dio lugar a poblaciones mestizas en diferentes partes de América. Como resultado de todos estos sucesos, el acervo genético de los nativoamericanos ha experimentado variaciones sustanciales en los últimos 500 años.

Este mestizaje se ha observado, en mayor o menor grado, en los estudios de ADNmt de varias poblaciones sudamericanas, con identificación de haplotipos amerindios, europeos y africanos (Mendes-Junior and Simoes, 2009; Mesa et al., 2000; Rodas et al., 2003; Rodríguez-Delfin et al., 2001; Salas et al., 2008). Además el estudio conjunto con el cromosoma Y y marcadores autosómicos ha revelado una asimetría genética sexual, consecuencia de la

política que se siguió durante la colonización de establecer matrimonios entre hombres (mayoritariamente europeos) y mujeres nativas (Bonilla et al., 2004). Otros estudios han mostrado una correspondencia entre la distribución de los haplogrupos mitocondriales y afiliaciones lingüísticas en determinados pueblos del Sur de América (Bert et al., 2001; Fagundes et al., 2002).

En la Tabla 2.2, se resumen las frecuencias de los haplogrupos mitocondriales de diferentes poblaciones amerindias del Centro y Sur de América de interés. Tal y como anteriormente se expuso, los haplogrupos se distribuyen de forma característica a lo largo del continente. En las poblaciones de América Central (Costa Rica y Panamá) y del Norte de Suramérica (Colombia y Ecuador) predomina el haplogrupo A. En cambio los haplogrupos C y D tienen mayor abundancia en América del Sur. Por su parte, el haplogrupo B no presenta patrón de distribución bien definido.

**2.3. La población objeto de estudio: el pueblo Huaorani de la Amazonia Ecuatoriana.**

**2.3.1 La Amazonía Ecuatoriana.**

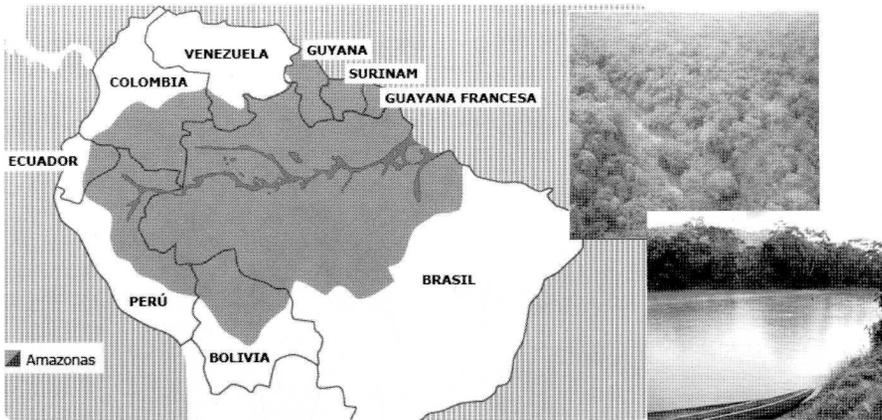
La Amazonía Ecuatoriana, conocida comúnmente como "El Oriente", es el área geográfica más extensa de Ecuador, con una superficie de 131.137 Km<sup>2</sup>. Aunque esta zona cubre casi la mitad de la superficie del país, tan sólo habita en ella el 4,8% de la población ecuatoriana.

La Amazonía se caracteriza por su elevada biodiversidad, tanto a nivel de flora como de fauna. La especie humana es un claro ejemplo de esta riqueza biológica, con un elevado número de grupos étnicos presentes a lo largo del territorio. En la actualidad, se estima que en la zona viven cerca de 200.000 indígenas de diferentes pueblos y nacionalidades amerindias, distribuidas a lo largo y ancho de su geografía.

Hay definidos 10 grupos amerindios, que junto a los mestizos, conforman la mayor parte de la población amazónica en Ecuador. Son los *Kichwa*, *Shuar*, *Achuar*, *Huaorani*, *Siona*, *Secoya*, *Cofán*, *Zápara*, *Shiwiar* y *Andoas* (Figura 2.9).

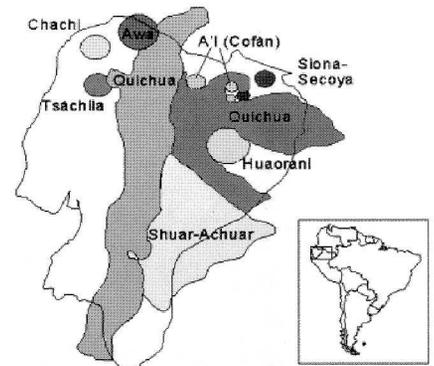
Estos pueblos autóctonos pertenecen a diferentes grupos lingüísticos entre los que no se ha probado una relación filogenética clara, sugiriendo que tanto la diversidad cultural, como lingüística se remonta a milenios atrás.

Figura 2.8



Mapa de la Amazonía que cubre 9 países sudamericanos: Brasil, Perú, Bolivia, Colombia, Ecuador, Guyana, Suriname, Venezuela y la Guayana Francesa. Fotografías de la biodiversidad de la selva ecuatoriana.

Figura 2.9



Distribución geográfica de las principales nacionalidades indígenas de Ecuador

Tabla 2.3  
RESUMEN DE LOS PUEBLOS DE LA AMAZONIA ECUATORIANA,  
Y SUS CARACTERISTICAS LINGUISTICAS

Etnia	Lengua	Familia Lingüística
Kichwa del Oriente	Kichwa	Kichwa/Quechua
Secoya	Paicoca	Tucano occidental
Siona	Paicoca	Tucano occidental
Shuar	Shuar chicham	Aents
Achuar	Achuar chicham	Aents
Shiwiar	Shiwiar chicham	Aents
Zápara (Sápara)	Zápara(kayap+)	Zápara
Kandwash (Andoa)	Andoa Shimigae	Zápara
A'í Cofán	A'íngae	Desconocida
Huaorani	Wao Tededo	Desconocida
Mestiza	Castellano	Indoeuropea

Figura 2.10



Fotografías de los Huaorani de Bameno.

Esta pluralidad pudo darse, en parte, porque en esta región no existieron grandes imperios o estados suficientemente duraderos como para establecer una cultura y lengua común.

En este grupo se distinguen 10 lenguas distintas, que pueden agruparse en seis familias lingüísticas amerindias, con excepción del castellano, que proviene de la familia lingüística indoeuropea, y del *wao tededo* y el *a'íngae*, que son lenguas aisladas.

Estos grupos indígenas constituyen poblaciones de gran interés desde el punto de vista genético-poblacional y antropológico. Sin embargo, los estudios realizados en la población ecuatoriana, la mayoría de los cuales han sido llevados a cabo por nuestro grupo de investigación, se han centrado principalmente en grupos mestizos, afroamericanos o Kichwas (Gonzalez-Andrade et

al., 2003; 2006; 2007; 2009). Hasta recientemente, el único grupo amerindio ecuatoriano tipado eran los Cayapa (Rickards, Martínez-Labarga et al. 1999).

Una de las poblaciones que presentan mayor potencial desde el punto de vista antropológico, evolutivo y forense, es el pueblo Huaorani. Este grupo étnico presenta una serie de características, como su largo aislamiento físico y social, su reducido tamaño poblacional y su "reciente" descubrimiento y mestizaje, que lo hacen idóneo para estudios genéticos.

### 2.3.2 Los Huaorani

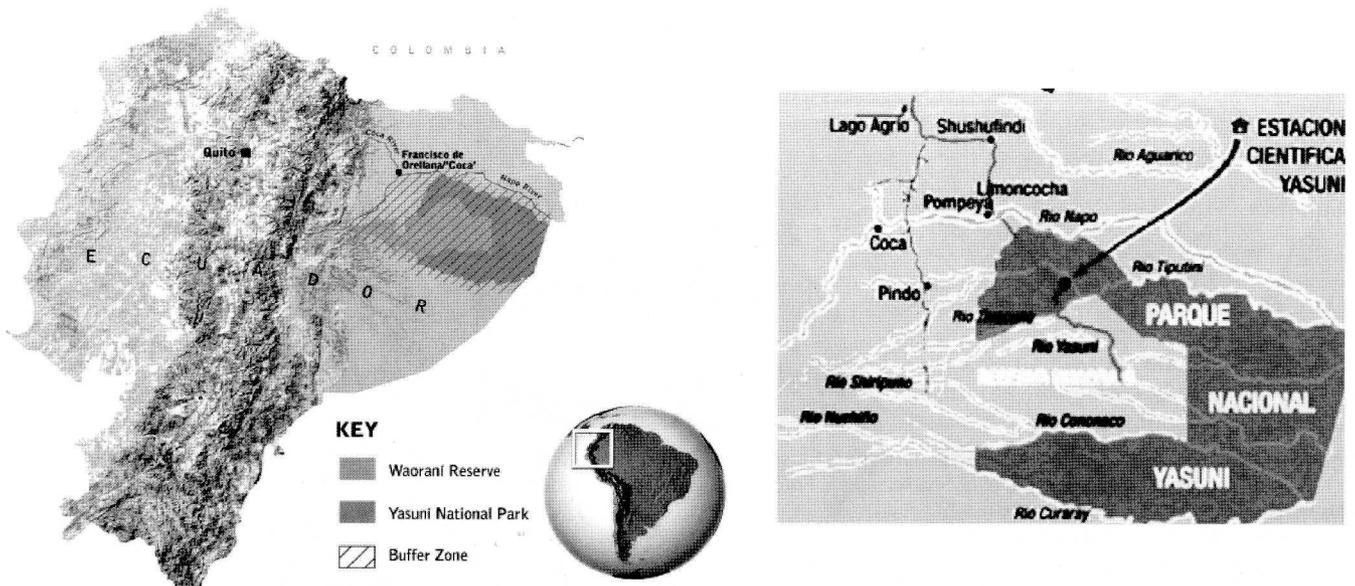
Los Huaorani son el último pueblo seminómada de cazadores y recolectores que habita en Ecuador. Su historia ha estado marcada por su largo aislamiento físico y social en la selva ecuatoriana. Aún en la actualidad, su origen étnico y lingüístico sigue siendo fuente de especulación.

Aunque históricamente fueron denominados "Aucas" (término peyorativo que en idioma Kichwa significa "salvajes, infieles") por su actitud agresiva hacia otros pueblos, ellos se autodenominan *Waoarani* (en castellano "Huaorani"), que en su lengua *Wao tededo*, significa "gente", y es el plural de *wao*, que refiere a "persona". Los Huaorani usan el término *covvuori* ("canibales") para referirse a individuos de otra etnia, sean mestizos, kichwas, afroamericanos, etc.

#### Localización:

Actualmente el pueblo Huaorani habita en la zona noreste de la Amazonia Ecuatoriana, que administrativamente corresponde a las provincias de Orellana, Pastaza y Napo. Más concretamente viven en la Reserva Étnica Huaorani y en el Parque Nacional Yasuní, entre los ríos Napo y Curaray (Figura 2.11). Esta zona legalmente adjudicada al pueblo Huo-

Figura 2.11



Localización del pueblo Huaorani en la Amazonía Ecuatoriana.

rani tan solo comprende un tercio de su territorio ancestral (2.000.000ha).

Demografía

No hay un censo poblacional oficial actual del pueblo Huaorani, por lo que es necesario recurrir a otras fuentes para hacer estimaciones (Fuentes, 1997). Tampoco se conoce la magnitud de la poblacional original, aunque se postula que podría haber alcanzado los 20.000 individuos (Smith, 1996).

En los años 50, a raíz de los primeros contactos misioneros, se identificaron alrededor de 500 Huaorani, agrupados en cuatro grupos principales: los Huepeiri, Baihuairi, Piyemoiri y Guiquetairi. Aunque existían lazos de parentesco entre los distintos grupos (los matrimonios endogámicos eran frecuentes), sus relaciones se caracterizaban por la hostilidad y los conflictos permanentes, tanto entre los distintos clanes como con los cowuori. En realidad, es difícil comprender la cultura de los Huaorani sin el referente de la guerra. Se trata de una de las sociedades con mayor índice de homicidios en la historia. En un estudio realizado por Larrick (1979), se estimó que el 64% de las pérdidas demográficas estaban relacionadas con la guerra y la violencia, afectando a toda la población tanto a hombres como a mujeres y niños.

El primer contacto de los Huaorani con el mundo occidental en 1956 resultó fatídico, con la muerte de cinco evan-

géllicos estadounidenses en manos de algunos Huaorani, a las orillas del río Curaray. No obstante, unos años después, se logró establecer una relación pacífica que dio lugar a la primera misión evangélica o "Protectorado", que supuso la reubicación y agrupación del 90 % de los Huaorani.

La población Huaorani, establecida en el Protectorado, experimentó un importante crecimiento demográfico gracias a la reducción de las causas tradicionales de muerte (guerras internas, infanticidios, agresiones externas, huidas, etc) y a las mejoras sanitarias. No obstante, esta concentración espacial también trajo consecuencias negativas para sus habitantes, como enfermedades, intensificación de las tensiones intergrupales o agotamiento de recursos, entre otros. Por ello, a principios de los 70, se inició la descentración del protectorado, con la formación de varios asentamientos nucleados en otros territorios.

En 1982 la población había ascendido a 715 personas, con una estimación de crecimiento demográfico anual promedio de 2.2%. En 1999, ya superaban las 2200 personas, según el Diagnóstico de la Nacionalidad Huaorani. Actualmente se estima que hay 2500 Huaorani distribuidos en 38 comunidades.

Grupos no contactados:

Existen otros grupos indígenas como los Tagaeri o los Taromenani, que hasta la fecha se han resistido al contacto

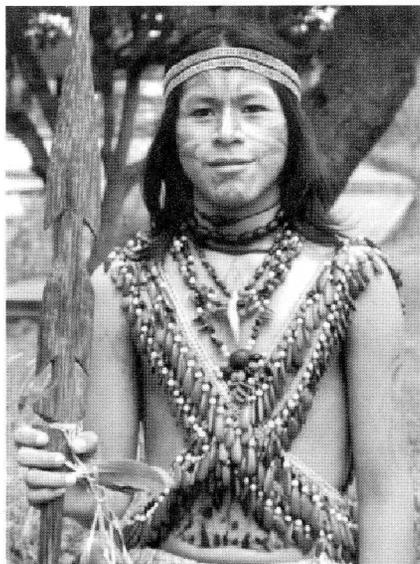
externo, ocultándose en la profundidad del bosque amazónico. Es probable que en la actualidad algunos de estos grupos hayan desaparecido por matanzas con grupos cercanos o por agresiones ajenas, o bien se hayan mezclado entre sí (Smith, 1996). En realidad, tan solo se sabe que hay pueblos que han logrado sobrevivir hasta la actualidad en un aislamiento geopolítico, a pesar de verse diezmados por frecuentes enfrentamientos con otros grupos y por las enfermedades. Para proteger a estos "últimos guerreros libres de la Amazonia" de las intromisiones foráneas, el gobierno les concedió un territorio propio, conocido como "zona intangible".

Aproximación histórica - ¿un pueblo sin pasado?

La historia de los Huaorani está llena de interrogantes por la falta de fuentes históricas, evidencias arqueológicas o lingüísticas suficientes para determinar con fiabilidad su origen étnico y lingüístico.

Las primeras referencias indirectas que existen sobre la población Huaorani serían algunas crónicas de los misioneros datadas en el siglo XVII, que hablan de la presencia de grupos hostiles (*aus-hiris, abijirias, záparos o aucas*) entre los ríos Napo al norte y Curaray al sur (territorio tradicional de los Huaorani). Es posible que entre ellos estuvieran incluidos los Huaorani. Pero no es hasta a principios del siglo XX cuando se tienen

Figura 2.11



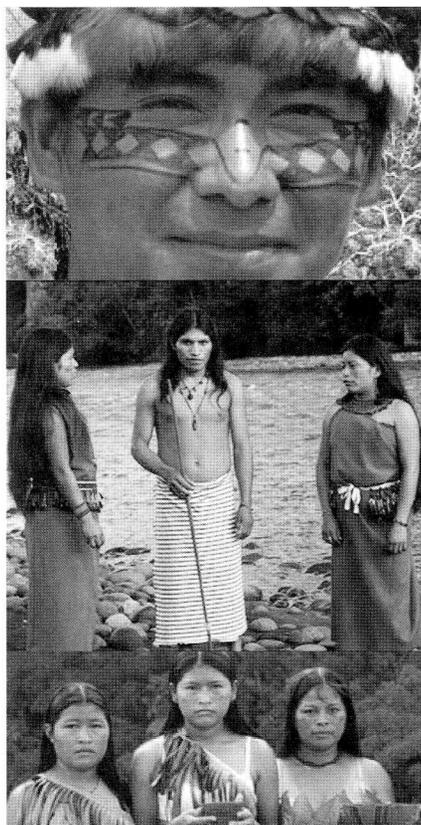
Niño Kichwa

los primeros informes documentados fiables sobre el grupo de los Huaorani (Cabodevilla, 1994).

Se ha sugerido que el origen de los Huaorani podría remontarse a las dispersiones poblacionales de grupos de origen tupi-guaraní (*omaguas, yameos y oas*) ocurridas entre los siglos X al XVI. Estos grupos se desplazaron desde Brasil hacia el Pacífico, y ante la imposibilidad de cruzar la Cordillera de los Andes se habrían establecido en la selva amazónica, a lo largo de la ribera del río Napo (Cabodevilla, 1994). Incluso hay hipótesis que remontándose a muchos milenios atrás, proponen que los Huaorani serían descendientes de los primeros colonizadores que llegaron a Sur América vía costera.

Pero hasta ahora no se han hallado evidencias suficientes para respaldar ninguna hipótesis sobre su origen. Lo que sí se ha comprobado es el largo aislamiento en que vivieron los Huaorani, tal y como se refleja en algunas características culturales únicas. En el momento de contacto los Huaorani no tenían ningún instrumento ajeno a su cultura y presentaban un estilo de vida adaptado a tierras altas apartadas de los ríos, entre otras particularidades. Además hablan el Wao Tededo, una lengua aislada sin ninguna similitud con otras lenguas indígenas en Sudamérica, y que prácticamente no presentaba préstamos en el momento de contacto. No obstante, hace unas décadas, esta

Figura 2.12



Individuos achuar, shuar y shiwiar respectivamente

situación de aislamiento cambió, los Huaorani entraron en contacto con colonizadores, trabajadores petroleros y madereros, así como otros pueblos indígenas vecinos, dando lugar a cambios profundos como la modernización del estilo de vida o el mestizaje con otros grupos étnicos.

### 2.3.3. Otros pueblos indígenas de la Amazonía Ecuatoriana:

En la Amazonía Ecuatoriana conviven otros pueblos indígenas (Montalvo, 2001):

#### Kichwas:

Son el mayor grupo indio amazónico, con una población de entre 60.000 a 100.000 personas (Codenpe 2005). Se encuentran divididos en dos grandes grupos: los Kichwas del Napo y los Kichwas de Pastaza. Se caracterizan por ser una cultura expansiva que integra a varias etnias. De hecho, su territorio actual está conformado a partir de tierras ancestrales de otros grupos (Cofán, Secoyas, Huaorani, Zápara y Omaguas). El uso del Kichwa como "lingua franca"

Figura 2.13



Adolescente Secoya.

en la época de colonización supuso la pérdida paulatina del idioma nativo de otros pueblos conquistados. Los Kichwa constituyen el conjunto cultura y políticamente dominante dentro de la nueva configuración espacial de la Amazonía Ecuatoriana.

#### Shuar, Achuar, Shiwiar:

Los tres grupos pertenecen a la familia lingüística Jíbaro. Los Shuar, con una población aproximada de 110.000, se distribuyen en las provincias de Zamora Chinchipe, Morona Santiago, y la parte sur de la provincia de Pastaza. Su idioma oficial es el Shuar chicham. Los Shuar eran conocidos despectivamente como Jíbaros o salvajes, debido a su carácter eminentemente guerrero y a su ancestral costumbre de reducir la cabeza de sus enemigos (Tsantsa) a fin de poder preservarla como trofeo de guerra.

Por otro lado, los Achuar y Shiwiar se localizan en zonas bajas de la selva ecuatoriana (Pastaza y Morona Santiago), así como en Perú, en un mayor número. En Ecuador se han contabilizado cerca de 5500 Achuar y 700 Shiwiar.

#### Siona y Secoya

Son dos grupos étnicos que pertenecen a la familia lingüística Tukano occidental, su idioma nativo es el Paicoca. Antaño constituían un grupo muy numeroso, que era conocido como "los Encabellados". Ambas comunidades sufrieron una drástica reducción demográfica durante el siglo XVIII como consecuen-

Figura 2.14



Individuos Cofán

cia de guerras de conquista, enfermedades y esclavitud. Aunque los etnólogos consideraron que estos dos grupos estaban en un proceso de fusión cultural, en la actualidad constituyen dos nacionalidades bien definidas.

Los Secoya, se encuentran distribuidos en Ecuador y Perú, con una población que asciende a unos 500 habitantes (Codenpe 2002). Los Siona se encuentran en Colombia y Ecuador (Sucumbios), con una población de unas 400 personas en Ecuador. Sus economías están basadas en la artesanía, la agricultura, pesca, caza y turismo.

Cofan:

Este grupo se autodefine como A'I, que en su idioma (A'ingae) significa "la gente". Se encuentran ubicados entre la provincia de Sucumbios y la frontera con Colombia, con una población aproximada de 800 individuos en Ecuador.

La organización tradicional se basa en grupos de descendencia patrilineal dirigidas por un chamán, su líder político y religioso. A partir del 1955 los misioneros promovieron la unión de los asentamientos Cofán y prohibieron muchas de sus prácticas tradicionales. Desde mediados del siglo XX, este grupo se ha enfrentado a los problemas derivados de la explotación petrolera, con frecuentes derrames de crudo en el río, y al choque cultural por la occidentalización de la zona.

Zápara:

Los Zápara o Sápara viven en la provincia de Pastaza de Ecuador (200 habitantes) y Perú (700) (Codenpe 2005).

Figura 2.15



Madre e hijo Záparas

Este grupo es el resultado de un complejo proceso de integración y desintegración étnica. A principios del siglo XX constituían una de las nacionalidades amazónicas más numerosas, con cerca de 20.000 miembros según crónicas de la época. Pero durante ese siglo, la esclavitud y las enfermedades causadas por la fiebre del caucho en la región, además de los conflictos y guerras con otros grupos indígenas redujeron este grupo hasta causar casi su desaparición.

Los pocos grupos Zápara que permanecieron, fueron absorbidos por grupos Kichwa, integrándose culturalmente y adoptando el kichwa como lengua propia. No obstante, a raíz el fortalecimiento étnico de Ecuador, se inició su recuperación como grupo, con la vuelta a

Figura 2.16



Mujer Andoa

sus orígenes culturales y lingüísticos (kayap+).

Andoa:

Conocidos también como Kandwash, este grupo amazónico fue reconocido como nacionalidad ecuatoriana en el 2003. Se trata de un pueblo de unos 800 miembros, localizado en la frontera con el Perú, cerca de la desembocadura del río Bobonaza. Hace cerca de 500 años, con la llegada de la evangelización, empezó su declive hasta casi desaparecer. La mayoría de ellos adoptaron el Kichwa como idioma, por lo que actualmente tan solo una pequeña fracción de ellos aún habla el Andoa shimigae. Afortunadamente, este pueblo está en pleno proceso de recuperación de su identidad étnica y cultural.

Figura 2.17



Niños Mestizos

Colonos mestizos:

Los mestizos constituyen el grupo étnico mayoritario del país, concretamente, ocho de cada 10 ecuatorianos son mestizos, es decir, son descendientes de indígenas (Kichwas sobre todo) y españoles.

Los mestizos formaron parte de los grandes flujos de colonos que se desplazaron a la región amazónica, a raíz de la demanda de mano de obra, en la industria petrolera y maderera, especialmente a partir de los años 60.

Los colonos mestizos se han asentado en zonas cercanas a los campamentos petrolíferos o zonas de acceso. Tienen como principal actividad económica la agricultura (maíz, café, cacao) y en ocasiones, la combinan con otras actividades como la ganadería y la extracción de madera o bien trabajos en petroleras. Actualmente forman otro grupo étnico amazónico que se encuentra ampliamente integrado dentro de la realidad de la región, mezclando sus tradiciones e identidad con las de sus vecinos étnicos.

### 3. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA Y OBJETIVOS

Los estudios genéticos poblacionales constituyen una herramienta de gran importancia tanto en el campo de la Genética Forense como en el campo de la Antropología y de la Biología Evolutiva.

La caracterización genética de las poblaciones resulta imprescindible para la resolución de investigaciones y pericias forenses, ya que sobre ella se ha de realizar la necesaria valoración estadística de los resultados de la prueba de ADN. En consecuencia, las bases de datos genéticos, que recogen dicha variabilidad genética poblacional, se configuran como pilares fundamentales de la medicina forense. Será necesario, disponer de bases de datos de perfiles genéticos de todos los marcadores de interés forense, no únicamente de STRs autosómicos, ya que habrá casos en que se tendrán que usar otros marcadores como el ADNmt o miniSTRs. En estas circunstancias será imprescindible disponer de bases de datos de referencia para dichos marcadores para poder realizar correctamente las valoraciones estadísticas.

Por otro lado, también es fundamental que las bases de datos genéticos incluyan información de los grupos más repre-

sentativos de cada país y/o región, ya que las frecuencias alélicas pueden variar significativamente entre los distintos grupos étnicos. De esta forma se evitará cometer errores del pasado, derivados del uso incorrecto de las frecuencias alélicas, al utilizar frecuencias descritas en determinados grupos poblacionales para estudiar otros grupos genéticamente distintos. En Estados Unidos, por ejemplo, se disponía de una base de datos genéticos que reunía perfiles sin ningún criterio uniforme de clasificación, es decir, se mezclaban criterios físicos (afrocaribeños), con geográficos (europeos) y culturales (hispanos). La falta de conocimiento de las estructuras (o subestructuras) poblacionales derivó en errores o sesgos en la valoración estadística de las investigaciones forenses y en la invalidación de la prueba. Por este motivo resulta primordial conocer la variabilidad genética de las poblaciones y de todos sus grupos étnicos.

Por lo que se refiere a España, cabe recordar que las poblaciones sudamericanas constituyen la principal fuente de inmigración, por lo que su caracterización genética es de vital importancia para una posterior aplicación en la medicina forense. Se trata de poblaciones, cuya subestructuración en grupos étnicos suele estar muy bien definida, sea históricamente, lingüísticamente, morfológicamente o incluso socialmente, facilitando así su estudio. Su tipado genético y su subsecuente incorporación en las bases de datos facilitarán la resolución de determinados casos médico-legales, sean paternidades o hechos delictivos y criminales, donde estos individuos pueden estar involucrados bien como víctimas o autores.

A este interés forense por las poblaciones de América del Sur, se le suma el interés antropológico y evolutivo que han despertado, dada su compleja historia y su gran riqueza y variabilidad cultural, étnica y genética. Por ello, las poblaciones sudamericanas se han configurado como objeto de estudio de gran valor para el campo antropológico y evolutivo, y más aún si se tiene en cuenta la escasez de estudios genéticos relativos a estos grupos.

El conocimiento de su variabilidad genética ayudará no sólo a comprender el presente genético de la población, sino que también permitirá inferir e interpretar su pasado, proporcionando conocimien-

tos inaccesibles mediante evidencias arqueológicas, cronológicas o lingüísticas. Además, desde una perspectiva más global, pueden ayudar a completar o aportar un nuevo enfoque en el complejo proceso de migración tanto pre- como post-colonial que ha experimentado el continente sudamericano.

En esta línea de investigación, las poblaciones Amazónicas se han convertido en un importante foco de interés de estudios forenses y antropológicos. En la actualidad, varios grupos de investigación, incluido el National Geographic con el proyecto "Genographic Project", están realizando o planean realizar la caracterización genética de estas poblaciones.

Este trabajo forma parte de un estudio más amplio y ambicioso, que se está llevando a cabo en colaboración con otros grupos de investigación (Universitätsmedizin Charité de Berlín, Eqgen Project de Ecuador y Universidad del País Vasco), con el que se quiere caracterizar la población de Ecuador y sus distintos grupos étnicos. En estudios previos, se han podido analizar los 4 grupos étnicos más representativos de Ecuador: los Mestizos, Afroamericanos, Kichwas y una pequeña muestra de individuos Huaorani; si bien el análisis se ha circunscrito a marcadores autosómicos y del cromosoma Y (Gonzalez-Andrade et al., 2009; Gonzalez-Andrade et al., 2003; Gonzalez-Andrade et al., 2008; Gonzalez-Andrade et al., 2006). Estos análisis han revelado la naturaleza trihíbrida de las tres primeras poblaciones, con diferente porcentaje de aporte genético de origen europeo, africano y amerindio. El análisis del cromosoma Y muestra una asimetría en la herencia sexual, consecuencia de un también asimétrico proceso de mestizaje iniciado a raíz de la colonización de América, y fundamentado en una gran mayoría de apareamientos entre varones europeos y mujeres amerindias (Gonzalez-Andrade et al., 2007), frente a una mínima interrelación sexual entre mujer europea y varón amerindio.

A fin de poder avanzar en el conocimiento de la historia y estructura de la población ecuatoriana, ahora se hace necesario realizar el análisis del ADNmt de estas poblaciones. El estudio del ADNmt permitirá estimar mejor el fenómeno observado, y gracias a su herencia vía materna, valorar la aportación genética femenina en ese desigual apareamiento.

**En este trabajo** se analizará la variabilidad del genoma mitocondrial de dos grupos étnicos ecuatorianos: los Huaorani y los Mestizos. Se trata de dos poblaciones de gran interés desde el punto de vista genético, antropológico y evolutivo, cuya caracterización genético-molecular será de gran valor para su posterior aplicación tanto en la investigación antropológica y evolutiva, como en la pericia médico forense.

En particular la caracterización de pueblos como los Huaorani, cobrará incluso mayor importancia si se tiene en cuenta la dificultad para obtener muestras y la consecuente ausencia de estudios genéticos sobre esta población. El interés de estudiar esta población surge también del hecho de que se trata de una población con muy elevado riesgo de desaparición, ante otras culturas dominantes o por los intereses económicos (petroleros y madereros) implicados en la explotación de su hábitat.

Desde el punto de vista antropológico y evolutivo, la población Huaorani resulta también muy atractiva debido a que su largo aislamiento geográfico, reducida población y su descubrimiento relativamente reciente, los puede haber hecho sensibles a los efectos de la deriva genética. En consecuencia, el estudio de análisis mitocondrial podría revelar la presencia de algunos linajes maternos exclusivos, no descritos anteriormente y/o bien, muy identificativos, resultantes de un supuesto escaso flujo génico. Los datos obtenidos podrían ayudar tanto a la inferencia de su posible origen (no hay evidencias lingüísticas, arqueológicas o históricas concluyentes) como a la reconstrucción del proceso de la colonización del continente sudamericano.

**Objetivos específicos:**

- Contribuir a la caracterización de la población ecuatoriana mediante el análisis del ADNmt.
- Generar una base de datos de ADNmt de los grupos étnicos de Ecuador, que sirva de referencia para la valoración estadística de casos forenses, sea la resolución de delitos o paternidades biológicas.
- Determinar los parámetros estadísticos de interés genético-forense, poblacional y antropológico.

- Determinar el grado de mestizaje dentro de cada grupo étnico estudiado. Comparación de los grupos estudiados y otros pueblos amerindios en el conjunto del continente americano.

**4. MATERIALES Y MÉTODOS:**

**4.1. Selección de las muestras de las poblaciones objeto de estudio.**

Con en este trabajo se pretende analizar una muestra representativa de la población Huaorani de la Amazonía de Ecuador. En otras palabras, la muestra analizada tendrá que ser un fiel reflejo de la población residente actualmente en las comunidades Huaorani, resultado de varios movimientos migratorios históricos o más recientes por parte de individuos Huaorani o individuos de otra procedencia. Por ello, los criterios de selección se han basado en la inclusión de individuos que residan en las comunidades Huaorani objeto de estudio, incluyendo personas de diferentes subgrupos étnicos o pueblos amazónicos.

En total las muestras analizadas en el análisis de HVI y HVII fueron:

- 55 individuos de Bameno (44 Huaorani, 10 Kichwas y 1 Mestizo).
- 99 individuos de Toñampari (67 Huaorani, 24 Kichwas, 2 Mestizos, 5 Shuars y 1 sin grupo étnico definido).

De todos ellos, se extrajo una muestra de saliva, mediante un hisopo bucal, para posteriormente poder realizar los análisis genéticos correspondientes. Todos los individuos incluidos en el estudio dieron sus muestras de forma consentida y voluntaria.

Se completó un formulario por individuo en los que se recogían sus datos personales (nombre, edad, sexo procedencia, grupo étnico) y datos genealógicos de su ascendencia de al menos tres generaciones. El grupo étnico se anotó en función de la autodefinición dada por cada individuo.

**4.2. Extracción de ADN.**

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de los hisopos de saliva recogidos, mediante el método Chelex® (Walsh et al., 1991). A continuación se presenta el protocolo seguido:

El primer paso consiste en un lavado previo que ayuda a quitar posibles contaminantes e inhibidores tales como el grupo hemo y otras proteínas. Para ello se toma un cuadrado del papel FTA de aproximadamente medio centímetro y se le añade 1 ml de agua estéril, agitándolo durante 2 o 3 segundos e incubándolo durante a media hora a temperatura ambiente. A continuación se agita de nuevo y se centrifuga a máximas revoluciones (13.000 rpm) durante 3 minutos. Tras eliminar el sobrenadante se añaden 200 µl de Chelex al 5% (Chelex-100 Resin, Biorad). Se agita muy bien y se incuba a 56°C durante 30 minutos. Posteriormente se agitan las muestras e incuban a 100°C durante 8 minutos. Finalmente, se realiza una centrifugación a máximas revoluciones durante 3 minutos, de forma que la resina Chelex queda en la parte inferior del tubo junto con el sedimento de residuos celulares mientras que en el sobrenadante queda el ADN. Se guardan las muestras en el frigorífico a 4°C.

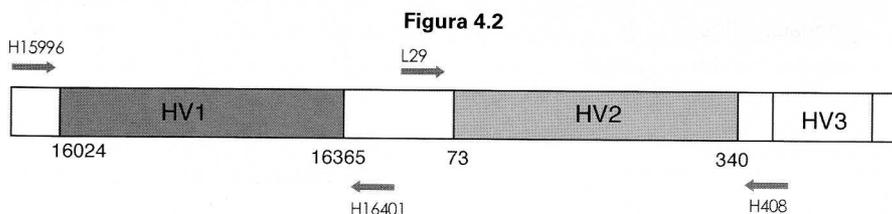
Durante la extracción de ADN se trabaja con un blanco de extracción para comprobar la ausencia de contaminación en los reactivos usados durante el proceso de extracción de ADN.

**4.3. Cuantificación del ADN.**

Se cuantificó el ADN de las muestras mediante la PCR en tiempo real mediante el kit Quantifiler™ Human Quantification Kit (Applied Biosystem).

**4.4. Amplificación por PCR del ADN mitocondrial.**

Se amplificaron los segmentos HVI (16024-16365) y HVII (73-340) de la región de control del ADNmt de todas las muestras. En estas regiones se concentra la mayor variabilidad del ADNmt.



Regiones HVI y HVII dentro de la región control

Tabla 4.1

	Cebadores	Secuencia primers (5'-3')	Tamaño
<b>Segmento HVI</b>	H16401	5' <b>TGT AAA ACG ACG GCC AGT</b> TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG-3'	405 pb
	L15996	5' <b>CAG GAA ACA GCT ATG ACC</b> CTC CAC CAT TAG CAC CCA AAG C-3'	
<b>Segmento HVII</b>	H408	5' <b>TGT AAA ACG ACG GCC AGT</b> CTC TTA AAA GTG CAT ACC GCC A -3'	378 pb
	L29	5' <b>CAG GAA ACA GCT A TG ACC</b> GGT CTA TCA CCC TAT TAA CCA C- 3'	

Descripción de los primers utilizados en la amplificación de los segmentos HVI (de la posición 15996 a 16401) y HVII (de la posición 29 a 408) de la región control de ADNmt. En negrita está marcada la región M13.

Preparación de la reacción de amplificación:

Para realizar dicha amplificación se emplearon dos parejas de primers o cebadores (Vigilant et al., 1991). Estos primers incluyen la región M13, que facilitará la reacción de secuenciación posterior (Tabla 4.1):

La reacción para la amplificación de cada segmento se preparó con los siguientes reactivos para un volumen final de 20µl:

Reactivos:	Volumen
HotStar Taq Plus	
Master Mix (Quiagen)	10µl
Primer L (10µM)	0.4 µl
Primer H (10µM)	0.4 µl
H2O	7.2 µl
Muestra	1 µl

Se usaron controles negativos para cada amplificación para comprobar la posible presencia de contaminación en los reactivos.

Condiciones de Amplificación:

La amplificación se realizó en el termociclador 2720 (Applied Biosystems). Las condiciones de amplificación son las siguientes:

- Incubación inicial:	95 °C	5 min
- 30 ciclos:		
- Desnaturalización	94 °C	45 sec
- Anillamiento	60 °C	60 sec
- Elongación	72 °C	60 sec
- Elongación final:	72° C	10 min
- Mantenimiento:	4 °C	∞

#### 4.5 Comprobación del producto de PCR:

La comprobación de los productos de la PCR se llevó a cabo mediante el análisis electroforético en geles de agarosa (2%).

#### 4.6. Purificación del producto de PCR:

Los productos de amplificación se purifican mediante los reactivos EXOSAP para eliminar los dNTPS y primers restantes de la PCR, así como productos incompletos.

Para ello se mezcla 0.8 µl de EXO y 1.6 µl de SAP para 20 µl de producto amplificado y se somete a 37°C 15 minutos y 80°C 15 minutos.

#### 4.7. Reacción PCR de secuenciación: Big Dye Terminator.

Se utilizó el kit Big Dye Terminator (Applied Biosystems) para realizar la reacción PCR de secuenciación. Este kit emplea cuatro didesoxinucleótidos marcados con un fluorocromo diferente por lo que se podrá distinguir la base incorporada.

Preparación de los reactivos:

Se realizó la reacción para los productos de amplificación de la región HVI y HVII. Todo producto fue analizado en sentido directo y reverso empleando los siguientes primers:

M13F (Forward):  
5' TGT AAA ACG ACG GCC AGT 3'

M13R (Reverse):  
5' CAG GAA ACA GCT ATG ACC 3'

Para un volumen final de 10 µl se emplearon los siguientes reactivos:

Reactivos:	Volumen
H2O	5,75 µl
Mix	1,5 µl
Buffer	0,75 µl
Primer	1 µl
Producto amplificado	1 µl

Condiciones de Amplificación:

La amplificación se realizó siguiendo las siguientes condiciones de amplificación:

- Desnaturalización inicial:	95 °C	5 min
- 25 ciclos:		
- Desnaturalización	96 °C	10 sec
- Anillamiento	50 °C	5 sec
- Elongación	60 °C	4 min
- Mantenimiento:	4 °C	∞

#### 4.8 Purificación de los productos de secuenciación.

Los productos de la región de PCR de secuenciación de la región HVI y HVII fueron purificados mediante el kit IBIAN PCR-Clean up (IBIAN).

#### 4.9. Secuenciación de ADN por electroforesis capilar.

Los productos generados en la reacción de secuenciación son separados mediante electroforesis capilar en el secuenciador ABI Prism 310 (Applied Biosystem). Antes de iniciar el análisis, se deben preparar las muestras para poder cargarlas en el secuenciador, añadiendo 16µl de Hi-Di Formamida al producto de secuenciación anteriormente purificado.

#### 4.10. Edición y alineamiento de las secuencias.

La edición de las secuencias, es decir, la determinación del orden de las bases de una hebra de ADN, se realizó mediante el programa SeqScape (Applied Biosystem). Se realizó la doble secuenciación de las secuencias, es decir, se secuenció tanto en sentido directo como reverso, de manera que tras el alineamiento ambas lecturas deben coincidir plenamente.

La región HVI fue secuenciada y editada entre las posiciones 16024 y 16365; y la región HVII, entre las posiciones 64 y 340. Estos fragmentos son los que posteriormente fueron usados en los estudios estadísticos y filogenéticos.

#### 4.11. Análisis estadístico.

El análisis estadístico de las secuencias de ADN mitocondrial se llevó a cabo mediante el programa Arlequin v3.1 (Excoffier et al 2005). Este programa permitió determinar los siguientes parámetros:

Número de haplotipos diferentes

Un haplotipo mitocondrial se define como una variante mitocondrial definida respecto a la secuencia consenso (Anderson et al. 1981). El porcentaje de haplotipos diferentes se estimó en relación con el número de individuos de cada población.

Diversidad nucleotídica ( $\pi_n$ ):

La diversidad nucleotídica es la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos elegidos al azar en una población sean diferentes.

$$\hat{\pi}_n = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j<i}^k p_i p_j \hat{d}_{ij}}{L}$$

Dónde pi y pj son las frecuencias en la muestra de los haplotipos i y j, dij un estimador del número de mutaciones surgidas desde la divergencia de dichos haplotipos y L la longitud de la secuencia analizada. La varianza asociada, asumiendo neutralidad y ausencia de recombinación es:

$$V(\hat{\pi}_n) = \frac{n+1}{3(n-1)L} \hat{\pi}_n + \frac{2(n^2+n+3)}{9n(n-1)} \hat{\pi}_n^2$$

La desviación estándar es calculada como:

$$s.d(\hat{\pi}_n) = \sqrt{V(\hat{\pi}_n)}$$

Diversidad de secuencias (H):

Se define como la probabilidad de que dos secuencias elegidas aleatoriamente de una población sean diferentes. Es el equivalente a  $\pi$  a nivel de secuencia.

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1} \left( 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)$$

Siendo n el número de secuencias analizadas, k el número de haplotipos identificados, y pi la frecuencia del haplotipo i en la muestra.

$$V(\hat{H}) = \frac{2}{n(n-1)} \left\{ 2(n-2) \left[ \sum_{i=1}^k p_i^3 - \left( \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right] + \sum_{i=1}^k p_i^2 - \left( \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right\}$$

La desviación estándar se calcula como en el caso del parámetro anterior.

### 4.12 Clasificación de los haplogrupos de ADNmt.

Se han clasificado los haplotipos obtenidos a partir del análisis de HVI y HVII en haplogrupos siguiendo la metodología propuesta por Achilli y cols. (2008) y Tamm y cols. (2007). Estos autores han descrito los haplogrupos más característicos entre los nativoamericanos, y los polimorfismos que los definen (Tabla 2.1 de Introducción). Para una mejor aproximación filogenética también se usó el siguiente árbol filogenético de ADNmt (Figura 4.3).

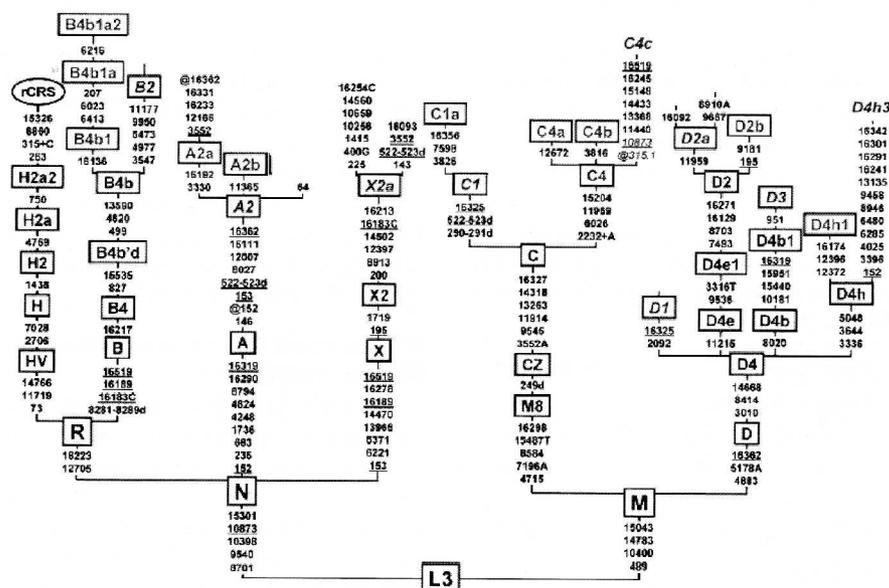
## 5. RESULTADOS

### 5.1. Análisis del ADN mitocondrial de las muestras.

Se estudiaron las regiones HVI y HVII del ADN mitocondrial del total de 154 muestras, procedentes de las 2 comunidades Huaorani en estudio. La región HVI fue secuenciada y editada entre las posiciones 16024 y 16365; y la región HVII, entre las posiciones 64 y 340.

El análisis conjunto de las regiones HVI y HVII permitió determinar un total

Figura 4.3



Árbol filogenético que describe los linajes de ADNmt principales entre nativoamericanos. En verde se indican las ramas asiáticas más próximas. (Achilli et al., 2008).

Para comprobar la asignación correcta de los haplogrupos se empleó el programa mt manager (disponible en la web <http://mtmanager.yonsei.ac.kr/>). Se trata de una herramienta que asigna automáticamente (mediante un algoritmo matemático) el haplogrupo de ADNmt más probable dada una secuencia de la región control de una muestra.

Tabla 5.1 a

Código	Haplotipo	Individuos
BAH1	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G	BA02 BA03 BA06 BA12 BA13 BA14 BA15 BA16 BA19 BA20 BA21 BA22 BA25 BA28 BA29 BA35 BA37 BA39 BA40 BA42 BA43 BA44 BA46 BA53 BA54 BA55
BAH2	16051G 16093C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 249d 263G 290d 291d	BA17 BA18 BA31 BA47 BA50
BAH3	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G	BA32 BA51
BAH4	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C 64T 73G 146C 153G 215 235G 263G	BA38
BAH5	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d	BA48
BAH6	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 263G	BA49
BAH7	16086C 16142T 16223T 16325C 16362C 73G 189G 263G 289G	BA52

Resumen de los haplotipos hallados en el análisis conjunto de HVI y HVII de las muestras de Bamenó. A cada haplotipo HVI-HVII se le asignó un código para facilitar su identificación en análisis posteriores.

Tabla 5.1 b

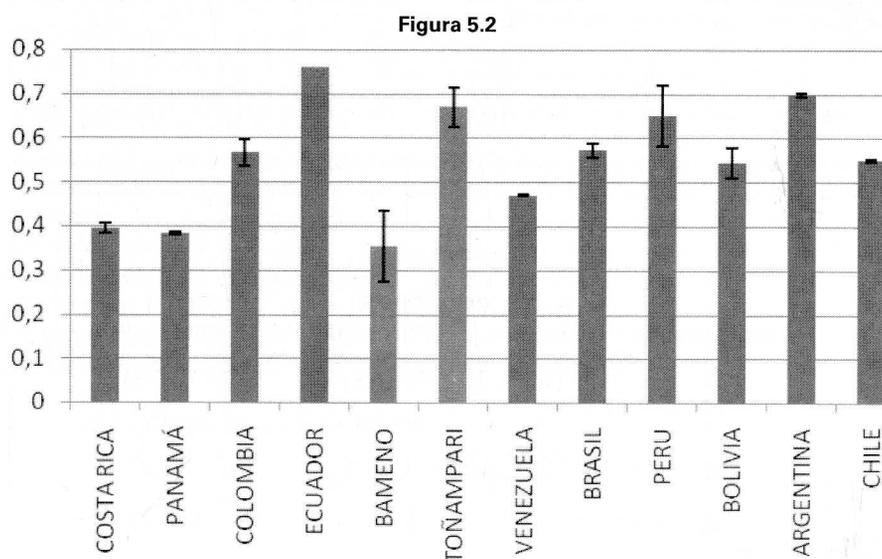
Código	Haplotipo	Individuos
TOH1	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G	T001 T002 T003 T004 T005 T009 T010 T011 T012 T018 T019 T020 T021 T022 T023 T030 T031 T032 T033 T034 T035 T039 T040 T041 T045 T046 T047 T056 T057 T059 T060 T061 T063 T064 T065 T067 T068 T069 T070 T071 T072 T073 T074 T075 T081 T084 T088 T089 T090 T091 T095 T096 T097
TOH2	16172C 16223T 16325C 16362C 67T 105d 106d 107d 108d 109d 110d 150 263G	T024 T025 T026 T042 T043 T050 T051 T052 T053 T055 T092 T094 T098 T099
TOH3	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G	T006 T007 T008 T027 T028 T029 T036 T037 T038 T082 T083 T085
TOH4	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 263G	T013 T014 T049 T058 T062 T066 T086 T087
TOH5	16182C 16183C 16189C 16217C 64T 73G 249d 263G	T076 T077 T078 T079
TOH6	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 152C 263G 315.1C	T015 T016 T017
TOH7	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d	T048 T093
TOH8	16223T 16298C 16325C 16327T 73G 249d 263G 290d 291d	T080
TOH9	16051G 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d	T054
TOH10	16092C 16145A 16157C 16183C 16189C 16193.1C 16217C 16274A 16294T 73G 263G	T044

Resumen de los haplotipos hallados en el análisis conjunto de HVI y HVII de las muestras de Toñampari. A cada haplotipo HVI-HVII se le asignó un código para facilitar su identificación en análisis posteriores.

Tabla 5.2.1

BAMENO			
	HVI	HVII	HVI+HVII
Diversidad nucleotídica ( $\pi$ )	0.0082 +/- 0.0049	0.0090 +/- 0.0055	0.0085 +/- 0.0047
Diversidad de secuencias (H)	0.3556 +/- 0.0807	0.3556 +/- 0.0807	0.3556 +/- 0.0807
TOÑAMPARI			
	HVI	HVII	HVI+HVII
Diversidad nucleotídica ( $\pi$ )	0.0120 +/- 0.0067	0.0189 +/- 0.0102	0.0154 +/- 0.0079
Diversidad de secuencias (H)	0.5446 +/- 0.0549	0.4676 +/- 0.0592	0.6757 +/- 0.0448

Resultados de los cálculos de diversidad nucleotídica y de secuencias



Diversidad de secuencias estimada para HVI y HVII en varios países.

de 7 haplotipos diferentes entre los 55 individuos de la población de Bameno (Tabla 5.1a).

En Toñampari, se determinaron un total de 10 haplotipos diferentes (Tabla 5.1b).

En el conjunto de las dos poblaciones se identificaron un total de 17 haplotipos distintos.

## 5.2 Cálculo de los parámetros de diversidad

Se realizó la estimación de la diversidad mediante los parámetros de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y de diversidad de secuencias o genética (H). A continuación se presentan los resultados obtenidos a partir del análisis independiente de HVI y HVII, y del análisis conjunto de HVI y HVII, en cada una de las poblaciones en estudio (Tabla 5.2).

De las dos poblaciones estudiadas, Toñampari mostró la mayor diversidad nucleotídica, al presentar un mayor número de sitios polimórficos y polimorfismos con mayor frecuencia. En cuanto a la diversidad de secuencias la población de Toñampari también presenta valores superiores a Bameno.

### 5.2.1 Comparación de la diversidad de secuencias con otras poblaciones de América Central y América del Sur.

Para situar en contexto la diversidad hallada en las dos poblaciones, se realizó un análisis comparativo de los valores de diversidad de secuencias (H) obtenidos con los de otras 10 poblaciones de América Central y del Sur.

La distribución de H de HVI y HVII es representada en la Figura 5.1. Para determinar este parámetro de diversidad en cada país, se hizo la media entre los distintos valores H de las poblaciones amerindias de cada país (Figura 5.2.1).

La diversidad de secuencias en las poblaciones en estudio se encuentran dentro de la tendencia general del resto de poblaciones del continente. No obstante, la población de Bameno presenta valores de diversidad (H=0.36) por debajo de la media, aunque comparable con otros grupos indígenas. En cambio, la población de Toñampari presenta un valor de diversidad elevado (H=0.67), convirtiéndose en una de las poblaciones representadas con mayor diversidad.

5.2.3 Análisis conjunto de los haplotipos descritos en las poblaciones en estudio.

A continuación se resumen todos los haplotipos encontrados en las poblaciones de estudio y el origen étnico de los individuos que lo presentan (Tabla 5.2.3).

El estudio de las regiones HVI y HVII en las muestras de la población de Bameno y Toñampari ha determinado un total de 17 haplotipos. De estos haplotipos, 14 son exclusivos de cada población, pero 3 haplotipos son comunes para ambas. Así habría correspondencia entre el haplotipo BAH1 y TOH1, BAH5 y TOH7; y BAH6 y TOH4.

Si se considera el origen étnico de los individuos se observa que cada haplotipo agrupa únicamente individuos del mismo pueblo indígena. Así los Huaorani (n=111) expresan únicamente dos haplotipos diferentes, los Kichwa (n=35) poseen 8 linajes mitocondriales, mientras que los Shuar (n=5) y los mestizos (n=2) presentan 2 haplotipos propios.

5.3 Clasificación en Haplogrupos.

La clasificación en haplogrupos de los haplotipos identificados en las muestras de Bameno y Toñampari se realizó siguiendo los modelos propuestos por Achilli (Achilli et al., 2008) y Tamm (Tamm et al., 2007). Estos modelos tienen en cuenta los polimorfismos presentes en la región control y codificante. No obstante, en este estudio, la clasificación en haplogrupos está basada únicamente en las posiciones diagnósticas de las regiones HVI y HVII del ADNmt.

A continuación se presentan los haplotipos ordenados según el haplogrupo al que pertenecen, para poder observar la variedad intragrupal/intergrupal (Tabla 5.3.a).

Todos los individuos analizados presentan uno de los cuatro linajes mitocondriales principales nativoamericanos: A, B, C y D, concretamente las variantes A2, B\*, C1 (C1d) y D1. En la Tabla se muestra la frecuencia de los principales haplogrupos para cada una de las poblaciones por separado y en conjunto (Tabla 5.3.b).

Los cuatro haplogrupos muestran diferencias importantes, tanto en su frecuencia de aparición, como en su distribución en las dos poblaciones. En ambas poblaciones el haplogrupo más abundante es el A. Ordenados de mayor a menor frecuencia se observa: el haplogrupo A

Tabla 5.2.3

Cód.	N	Haplotipos	Origen étnico
BAH1	44	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G	Huaorani
BAH2	5	16051G 16093C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 249d 263G 290d 291d	Kichwa
BAH3	2	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G	Kichwa
BAH4	1	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C 64T 73G 146C 153G 215 235G 263G	Kichwa
BAH5	1	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d	Kichwa
BAH6	1	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 263G	Kichwa
BAH7	1	16086C 16142T 16223T 16325C 16362C 73G 189G 263G 289G	Mestizo
TOH1	53	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G	Huaorani
TOH2	12	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G	Kichwa
TOH3	14	16172C 16223T 16325C 16362C 67T 105d 106d 107d 108d 109d 110d 150 263G	Huaorani
TOH4	8	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 263G	Kichwa
TOH5	4	16182C 16183C 16189C 16217C 64T 73G 249d 263G	Shuar
TOH6	3	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 152C 263G	Kichwa
TOH7	2	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d	Kichwa*
TOH8	1	16223T 16298C 16325C 16327T 73G 249d 263G 290d 291d	Shuar
TOH9	1	16051G 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d	Kichwa
TOH10	1	16092C 16145A 16157C 16183C 16189C 16193.1C 16217C 16274A 16294T 73G 263G	Mestizo

Haplotipos HVI-HVII identificados en las poblaciones de Bameno y Toñampari y origen étnico de los individuos que lo presentan. N: número individuos del subgrupo étnico en cuestión. \*Este haplotipo incluye un individuo con grupo étnico indeterminado, que no se tendrá en cuenta en los cálculos.

Tabla 5.3.a

Hg	Ba	To	Haplotipos
A2	44	53	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 64T 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G
A2	0	12	16111T 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 73G 146C 153G 189G 207A 235G 263G
A2	2	0	16086C 16111T 16213A 16223T 16290T 16293G 16304C 16319A 16362C 73G 146C 153G 195C 207A 210G 235G 263G
A2	1	0	16111T 16223T 16290T 16319A 16352C 16362C 64T 73G 146C 153G 215 235G 263G
B*	0	4	16182C 16183C 16189C 16217C 64T 73G 249d 263G
B*	0	1	16092C 16145A 16157C 16183C 16189C 16193.1C 16217C 16274A 16294T 73G 263G
C1	1	2 <sup>1</sup>	16172C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d
C1	0	1	16223T 16298C 16325C 16327T 73G 249d 263G 290d 291d
C1d	0	1	16051G 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 204C 249d 263G 290d 291d
C1d	5	0	16051G 16093C 16223T 16298C 16325C 16327T 73G 249d 263G 290d 291d
D1	0	14	16172C 16223T 16325C 16362C 67T 105d 106d 107d 108d 109d 110d 150 263G
D1	1	8	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 263G
D1	0	3	16142T 16223T 16325C 16362C 73G 152C 263G 315.1C
D1	1	0	16086C 16142T 16223T 16325C 16362C 73G 189G 263G 289G

Haplogrupos definidos para los individuos de Bameno (BA) y Toñampari (TO). \*Indica que el análisis de la región codificante permitiría identificar posiciones diagnósticas para incluirlos en otros subhaplogrupos. En colores se indican el origen de los individuos: huaorani (azul), kichwa (rosa), shuar (verde) y mestizo (amarillo). <sup>1</sup>Indica la presencia de un individuo de grupo étnico sin definir.

Tabla 5.3.b

Haplogrupo	Nº individuos		
	Bameno	Toñampari	Total
<b>A</b>	47 (85.45)	65 (65.66)	112 (72.73)
<b>B</b>	0	5 (5.05)	5 (3.25)
<b>C</b>	6 (10.91)	4 (4.04)	10 (6.49)
<b>D</b>	2 (3.64)	25 (25.25)	27 (17.53)

Número de individuos que presentan cada haplogrupo (en %).

Tabla 5.3.c

	A	B	C	D	H
Huaorani	87,38	0	0	12,61	0,23
Kichwa	42,85	0	22,8	34,28	0,78
Shuar*	0	75	25	0	0,32
Mestizo*	0	50	0	50	0,5

Frecuencia de cada haplogrupo en los distintos pueblos amazónicos (%).

\*Tamaño muestral pequeño.

(72.7%), D (17.5%), C (6.49) y B (3.25%) en el global de las dos poblaciones.

Por otro lado, teniendo en cuenta la procedencia étnica, se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 5.3.c).

En el grupo Huaorani el haplogrupo A (A2) es el más abundante con una frecuencia del 87,38% (100% en el caso de Bameno y 53.5% en Toñampari), también presentan el haplogrupo D con un 12.6%. El haplogrupo más abundante entre los Kichwa es el A, aunque C y D también están presentes en frecuencias importantes. Finalmente en los Shuar y Mestizos se identificaron los haplogrupos B y C, y B y D, respectivamente, aunque su análisis está limitado por su reducido tamaño muestral.

En el cálculo de la diversidad genética en cada subgrupo étnico se observan valores dispares: 0.24% (Huaorani), 0.78% (Kichwa), 0.5% (Mestizo) y 0.32 (Shuar). Es importante valorar estos resultados teniendo en cuenta las diferencias en cuanto tamaño muestral.

## 6. DISCUSIÓN

En este trabajo se han caracterizado los linajes mitocondriales de dos comunidades Huaorani de la Amazonia Ecuatoriana (Bameno y Toñampari). Este grupo estaba constituido en su mayoría (76.6%) por los Huaorani, pero también por individuos de distintos pueblos amazónicos que, como consecuencia de varios procesos migratorios, forman parte del actual acervo genético de las poblaciones en estudio, como son los mestizos, Kichwas y Shuars. En todos los casos se trata de individuos de origen materno amerindio, cuyo análisis mitocondrial viene a completar las bases de datos ecuatorianas construidas en los últimos años por nuestro grupo de investigación, con nuevos perfiles amerindios anteriormente no caracterizados.

Uno de los principales hallazgos de este trabajo fue la baja diversidad genética de estos grupos poblacionales: 0.3 en el caso de Bameno y 0.67 en Toñampari. Se trata de unos valores bajos si se comparan con la diversidad descrita en la mayoría de poblaciones caucasoides europeas y norteamericanas, que rondan el 0.97-0.98 (Martinez-Jarreta et al., 2000). No obstante, los valores observados son similares al de otras poblaciones amerindias. En el caso de Bameno, la diversidad genética obtenida es de las más bajas, lo que se explicaría por el rechazo al contacto externo que ha caracterizado esta comunidad, que habría supuesto un menor aporte genético no Huaorani. Por el contrario, la mayor diversidad genética presente en la población de Toñampari sería resultado de un mayor flujo genético, derivado de las recientes migraciones por parte de individuos Huaorani de todo el territorio, así como de individuos de otros pueblos indígenas.

Cuando se analiza de forma independiente el subgrupo étnico predominante –los Huaorani– se observa la misma tendencia en cuanto a la diversidad, con valores muy bajos (0.23). Este valor es coherente con su largo aislamiento y posible proceso de deriva genética, que habrían restringido su flujo genético y en consecuencia la variabilidad de linajes mitocondriales. En cambio, los otros grupos presentes en las comunidades en estudio (Kichwas, mestizos y Shuars) presentan una diversidad genética mayor (0.78, 0.5 y 0.32 respectivamente), como resultado de su mayor flujo genético con pueblos cercanos.

Se puede hacer una doble lectura de la escasa diversidad característica de estas poblaciones. Por un lado, pone de manifiesto la irrenunciable necesidad de caracterizar las poblaciones mediante varios marcadores genéticos forenses para incrementar el poder de discriminación en una identificación individual.

Pero por otro, facilita la identificación específica de ese grupo en cuestión ya que la mayoría de individuos pertenecerán a la misma línea genética materna. Por lo tanto, cuando sea necesario desde el punto de vista forense, se podrá determinar la procedencia étnica de una muestra o de una persona, mediante el estudio de su ADNmt. Precisamente esta especificidad grupal implica una mayor variabilidad genética entre poblaciones geográficamente cercanas. Esta diferencia intergrupal justifica la necesidad de profundizar en la caracterización genética de estas poblaciones para posibles investigaciones forenses, ya que sería incoherente e incorrecto aplicar las mismas frecuencias genéticas para todos los grupos.

Otra observación destacable del trabajo es el hallazgo de linajes mitocondriales exclusivos de los diferentes subgrupos étnicos estudiados. Esta capacidad de discriminación ha convertido el análisis del ADNmt en una herramienta de gran interés en la antropología, porque permite determinar el linaje materno de los ancestros. Como anteriormente se ha comentado, la distribución geográfica de los linajes maternos concurre paralela a los procesos de dispersión de las poblaciones humanas alrededor del mundo. Así, el aislamiento de determinados grupos supuso la concentración de sus haplogrupos en esas regiones y la posible aparición de linajes únicos en determinados grupos étnicos, tal y como se observa en este trabajo.

En su conjunto, el análisis de las dos poblaciones reveló un total de 17 haplotipos, cada uno de los cuales agrupaba únicamente individuos del mismo origen étnico. Consecuentemente los haplotipos comunes entre ambas poblaciones estaban formados por individuos del mismo pueblo indígena. Así se puede observar que los Huaorani, el grupo analizado más amplio (n=111), presentan 2 haplotipos exclusivos, no observados en ningún otro grupo. Lo mismo ocurre con los otros grupos indígenas: los Kichwa (n=35) presentan 8 haplotipos únicos mientras que tanto mestizos (n=2) como Shuars (n=5) presentan 2 característicos. Respecto al individuo sin grupo étnico definido, presenta un haplotipo propio de los Kichwas, por lo que se podría inferir que pertenece a este subgrupo.

Se ha comprobado que todos los haplotipos presentes en las poblaciones de Bamenó y Toñampari son de origen amerindio, sin ninguna contribución genética de otros grupos étnicos de Ecuador, como los afroamericanos o caucásicos. Se han hallado los 4 principales haplogrupos mitocondriales característicos de los indígenas americanos: A, B, C y D (Schurr et al., 1990; Horai et al., 1993; Torroni et al., 1993a). En cuanto a las variantes mitocondriales panamericanas A2, C1, D1 y B2, descritas a lo largo de todo el continente americano (Achilli et al 2008), en las poblaciones en estudio se han observado las tres primeras. No obstante, esto no significa que el haplogrupo B2 esté ausente en dichas poblaciones, dado que seguramente los haplotipos B\* sean B2. Para corroborarlo se realizará el análisis de la región codificante del ADNmt, que contiene los polimorfismos que definen el haplogrupo B2 (3547, 4977, 6473, 9950, 11177).

La ausencia de aporte genético no amerindio que se desprende del análisis de los linajes maternos, será también comprobada en la línea paterna mediante los análisis del Cromosoma Y y de STRs autosómicos que actualmente se están llevando en el laboratorio. No obstante, a diferencia de otros grupos étnicos de Ecuador como afroamericanos, Kichwas o los propios mestizos, en los que se ha descrito asimetría sexual derivada del también asimétrico proceso de colonización (con mayoría de apareamientos entre hombres europeos y mujeres indígenas), en los Huaorani no se espera observar aporte genético no amerindio por parte de padre, debido a su largo aislamiento y mínimo mestizaje (Gonzalez-Andrade et al., 2007).

En resumen, la elevada homogeneidad genética mitocondrial de los Huaorani estaría de acuerdo con el largo periodo de aislamiento en que vivieron, así como a la subsecuente endogamia. Las características de este grupo amerindio (pequeño tamaño de la población, altas tasas de mortalidad hasta recientemente y el largo aislamiento geográfico y social) habrían favorecido un posible proceso de deriva genética. Esta situación habría causado la reducción del número de haplogrupos, así como la predominancia y la fijación de unos pocos, lo que podría haber dado lugar a un haplogrupo específico de los Huaorani. Para confirmar esto último se está

realizando un estudio filogenético más profundo bajo la hipótesis de que la combinación de los polimorfismos A16239G, T16304C, A189G y G207A, junto con otras mutaciones en la región control, son únicas de este grupo indígena, constituyendo un subhaplogrupo A2 específico.

Como continuidad de este trabajo se va a caracterizar el genoma mitocondrial de otros grupos étnicos presentes en Ecuador, como los mestizos, afroamericano u otros grupos.

## 7. CONCLUSIONES

El análisis de la variación de la región control del ADNmt ha permitido identificar el perfil genético de 154 individuos amerindios de dos comunidades Huaorani de la Amazonía Ecuatoriana. Estos datos contribuirán a la generación de una base de ADN mitocondrial para cálculos estadísticos en posibles casos forenses en los que esta población esté involucrada.

Se han definido linajes mitocondriales exclusivos de los diferentes subgrupos étnicos/pueblos amazónicos estudiados, confirmando la utilidad del ADN mitocondrial para inferir el origen étnico de las personas.

Los linajes mitocondriales identificados son representativos del acervo genético americano, con la totalidad de individuos incluidos en uno de los 4 principales haplogrupos nativoamericanos.

No se ha observado aportación genética materna de origen europeo o afroamericano en los individuos analizados. Los análisis del cromosoma Y y autosómicos que se están llevando a cabo actualmente determinarán si hay asimetría sexual en la población, tal y como previamente se ha descrito en otros grupos amerindios. No obstante, debido al largo aislamiento en que ha vivido el pueblo Huaorani no se espera observar aportación genética procedente de la colonización española, ni de posteriores mestizajes.

El largo aislamiento geográfico y genético de los Huaorani, y, por lo tanto, un flujo genético restringido, explica la reducida diversidad genética intragrupal observada. La homogeneidad presente entre los Huaorani sería consecuencia de un proceso de deriva genética que habría reducido el número de linajes mitocondriales, y habría dado lugar a la fijación de unos pocos y a la aparición de

al menos un haplogrupo específico de los Huaorani.

Se ha encontrado una elevada diversidad genética intergrupala entre los distintos pueblos amazónicos estudiados que está de acuerdo con la biodiversidad de fauna y flora que caracteriza a la región Amazónica, y que por lo tanto, también estaría reflejada en las poblaciones humanas.

Los datos obtenidos son de gran valor antropológico y forense al tratarse de una población de muy difícil acceso y que corre el riesgo de desaparecer. Este estudio permitirá trazar mejor la historia de la formación de las poblaciones de la Amazonía y su patrimonio genético.

## 8. REFERENCIAS

- Achilli, A. et al., 2008. The phylogeny of the four pan-American MtDNA haplogroups: implications for evolutionary and disease studies. *PLoS One*, 3(3): e1764.
- Anderson, S. et al., 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806): 457-65.
- Ankel-Simons, F. and Cummins, J.M., 1996. Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: Implications for theories on human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24): 13859-13863.
- Bailliet, G., Rothhammer, F., Carnese, F.R., Bravi, C.M. and Bianchi, N.O., 1994. Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *Am J Hum Genet*, 55(1): 27-33.
- Bendall, K.E., Macaulay, V.A., Baker, J.R. and Sykes, B.C., 1996. Heteroplasmic point mutations in the human mtDNA control region. *Am J Hum Genet*, 59(6): 1276-87.
- Bert, F., Corella, A., Gene, M., Perez-Perez, A. and Turbon, D., 2001. Major mitochondrial DNA haplotype heterogeneity in highland and lowland Amerindian populations from Bolivia. *Hum Biol*, 73(1): 1-16.
- Bogenhagen, D.F., 1999. Repair of mtDNA in Vertebrates The American Society of Human Genetics 64(5): 1276-1281
- Bonilla, C. et al., 2004. Substantial Native American female contribution to the population of Tacuarembó, Uruguay, reveals past episodes of sex-biased gene flow. *Am J Hum Biol*, 16(3): 289-97.
- Brandstatter, A., Niederstatter, H. and Parson, W., 2004. Monitoring the inheritance of heteroplasmy by computer-assisted detection of mixed basecalls in the entire human mitochondrial DNA control region. *Int J Legal Med*, 118(1): 47-54.
- Brown, W.M., 1980. Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 77(6): 3605-9.

- Brown, M.D. et al., 1998. mtDNA haplogroup X: An ancient link between Europe/Western Asia and North America? *Am J Hum Genet*, 63(6): 1852-61.
- Cabodevilla, M.Á., 1994 Los Huaorani en la historia de los pueblos del Oriente Cícame.
- Carracedo, A. et al., 2000. DNA commission of the international society for forensic genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Forensic Sci Int*, 110(2): 79-85.
- Comas, D., Paabo, S. and Bertranpetit, J., 1995. Heteroplasmy in the control region of human mitochondrial DNA. *Genome Res*, 5(1): 89-90.
- Chen, X. et al., 1995a. Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes. *Am J Hum Genet*, 57(2): 239-47.
- Chen, Y.S., Torroni, A., Excoffier, L., Santachiara-Benerecetti, A.S. and Wallace, D.C., 1995b. Analysis of mtDNA variation in African populations reveals the most ancient of all human continent-specific haplogroups. *Am J Hum Genet*, 57(1): 133-49.
- D'Aurelio, M. et al., 2004. Heterologous mitochondrial DNA recombination in human cells. *Hum. Mol. Genet.*, 13(24): 3171-3179.
- De Salle, R. and Yudell, M., 2002. *The Genomic Revolution: Unveiling the Unity of Life*. Joseph Henry Press.
- Demarchi, D.A., Panzetta-Dutari, G.M., Motran, C.C., Lopez de Basualdo, M.A. and Marcellino, A.J., 2001. Mitochondrial DNA haplogroups in Amerindian populations from the Gran Chaco. *Am J Phys Anthropol*, 115(3): 199-203.
- Elson, J.L. et al., 2001. Analysis of European mtDNAs for recombination. *Am J Hum Genet*, 68(1): 145-153.
- Eyre-Walker, A. and Awadalla, P., 2001. Does human mtDNA recombine? *J Mol Evol*, 53(4-5): 430-5.
- Fagundes, N.J., Bonatto, S.L., Callegari-Jacques, S.M. and Salzano, F.M., 2002. Genetic, geographic, and linguistic variation among South American Indians: possible sex influence. *Am J Phys Anthropol*, 117(1): 68-78.
- Filosto, M. et al., 2003. Lack of paternal inheritance of muscle mitochondrial DNA in sporadic mitochondrial myopathies. *Ann Neurol*, 54(4): 524-6.
- Finnila, S., Lehtonen, M.S. and Majamaa, K., 2001. Phylogenetic network for European mtDNA. *Am J Hum Genet*, 68(6): 1475-84.
- Forster, P., Harding, R., Torroni, A. and Bandelt, H.J., 1996. Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. *Am J Hum Genet*, 59(4): 935-45.
- Fuentes, B.C., 1997 Huaomoni, huarani, covvudi: una aproximación a los Huaorani en la práctica política multi-étnica ecuatoriana Abya Yala.
- Fuselli, S. et al., 2003. Mitochondrial DNA diversity in South America and the genetic history of Andean highlanders. *Mol Biol Evol*, 20(10): 1682-91.
- Giles, R.E., Blanc, H., Cann, H.M. and Wallace, D.C., 1980. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(11): 6715-6719.
- Gonzalez-Andrade, F., Sanchez, D. and Martinez-Jarreta, B., 2003. Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population (Ecuador-South America) by using the Power Plex 16 System Kit. *Forensic Sci Int*, 135(1): 64-6.
- Gonzalez-Andrade, F., Sanchez, Q.D. and Martinez-Jarreta, B., 2006. Genetic analysis of the Amerindian Kichwas and Afroamerican descendants populations from Ecuador characterized by 15 STR-PCR polymorphisms. *Forensic Sci Int*, 160(2-3): 231-5.
- Gonzalez-Andrade, F., Sanchez, D., Gonzalez-Solorzano, J., Gascon, S. and Martinez-Jarreta, B., 2007. Sex-specific genetic admixture of Mestizos, Amerindian Kichwas, and Afro-Ecuadorians from Ecuador. *Hum Biol*, 79(1): 51-77.
- Gonzalez-Andrade, F., Sanchez, D., Martinez-Jarreta, B. and Budowle, B., 2008. Y-chromosome STR haplotypes in three different population groups from Ecuador (South America). *J Forensic Sci*, 53(2): 512-4.
- Gonzalez-Andrade, F., Roewer, L., Willuweit, S., Sanchez, D. and Martinez-Jarreta, B., 2009. Y-STR variation among ethnic groups from Ecuador: Mestizos, Kichwas, Afro-Ecuadorians and Waoranis. *Forensic Sci Int Genet*, 3(3): e83-91.
- Hauswirth, W.W. and Laipis, P.J., 1982. Mitochondrial DNA polymorphism in a maternal lineage of Holstein cows. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79(15): 4686-90.
- Horai, S. et al., 1993. Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol Biol Evol*, 10(1): 23-47.
- Ingman, M., Kaessmann, H., Paabo, S. and Gyllensten, U., 2000. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature*, 408(6813): 708-13.
- Jansen, R.P., 2000. Germline passage of mitochondria: quantitative considerations and possible embryological sequelae. *Hum Reprod*, 15 Suppl 2: 112-28.
- Jones, M., 2003. Ancient DNA in pre-Columbian archaeology: a review. *J Archaeol Sci*, 30: 629-35.
- Kaestle, F.A. and Smith, D.G., 2001. Ancient mitochondrial DNA evidence for prehistoric population movement: the Numic expansion. *Am J Phys Anthropol*, 115(1): 1-12.
- Keyeux, G., Rodas, C., Gelvez, N. and Carter, D., 2002. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian populations. *Hum Biol*, 74(2): 211-33.
- Kolman, C.J. et al., 1995. Reduced mtDNA diversity in the Ngobe Amerinds of Panama. *Genetics*, 140(1): 275-83.
- Kolman, C.J., Sambuughin, N. and Bermingham, E., 1996. Mitochondrial DNA analysis of Mongolian populations and implications for the origin of New World founders. *Genetics*, 142(4): 1321-34.
- Kraytsberg, Y. et al., 2004. Recombination of human mitochondrial DNA. *Science*, 304(5673): 981.
- Lalueza, C., Perez-Perez, A., Prats, E., Cornudella, L. and Turbon, D., 1997. Lack of founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia. *Hum Mol Genet*, 6(1): 41-6.
- Larrick, J.W., James A. Yost, Jonathan E. Kaplan, Garland King, y John Mayhall, 1979. Patterns of health and disease among the Waorani Indians of Eastern Ecuador. *Medical Anthropology* 3(2): 147-189.
- Lewis, C.M., Jr., Tito, R.Y., Lizarraga, B. and Stone, A.C., 2005. Land, language, and loci: mtDNA in Native Americans and the genetic history of Peru. *Am J Phys Anthropol*, 127(3): 351-60.
- Lutz, S., Weisser, H.J., Heizmann, J. and Pollak, S., 2000. Mitochondrial heteroplasmy among maternally related individuals. *Int J Legal Med*, 113(3): 155-61.
- Macaulay, V. et al., 1999. The emerging tree of West Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs. *Am J Hum Genet*, 64(1): 232-49.
- Malhi, R.S. and Smith, D.G., 2002. Brief communication: Haplogroup X confirmed in prehistoric North America. *Am J Phys Anthropol*, 119(1): 84-6.
- Martinez-Jarreta, B. La prueba del ADN en medicina forense. 1999. Editorial Masson.
- 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 Sep;45(5):1162-3.
- Melton, P.E. et al., 2007. Biological relationship between Central and South American Chibchan speaking populations: evidence from mtDNA. *Am J Phys Anthropol*, 133(1): 753-70.
- Mendes-Junior, C.T. and Simoes, A.L., 2009. Mitochondrial DNA variability among eight Tikuna villages: Evidence for an intratribal genetic heterogeneity pattern. *Am J Phys Anthropol*.
- Merrivether, D.A., Ferrell, R.E. and Rothhammer, F., 1995. mtDNA D-loop 6-bp deletion found in the Chilean Aymara: not a unique marker for Chibcha-speaking Amerindians. *Am J Hum Genet*, 56(3): 812-3.
- Mesa, N.R. et al., 2000. Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America. *Am J Hum Genet*, 67(5): 1277-86.
- Mishmar, D. et al., 2003. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(1): 171-6.
- Monnat, R.J., Jr. and Loeb, L.A., 1985. Nucleotide sequence preservation of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 82(9): 2895-9.

- Montalvo, P.T., 2001 Amazonia ecuatoriana Abya Yala.
- Moraga, M.L. et al., 2000. Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the southern cone of the continent. *Am J Phys Anthropol*, 113(1): 19-29.
- Morris, A.A. and Lightowers, R.N., 2000. Can paternal mtDNA be inherited? *Lancet*, 355(9212): 1290-1.
- Pakendorf, B. and Stoneking, M., 2005. Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 6: 165-83.
- Perego, U.A. et al., 2009. Distinctive Paleo-Indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. *Curr Biol*, 19(1): 1-8.
- Poulton, J., Macaulay, V. and Marchington, D.R., 1998. Mitochondrial genetics '98 is the bottleneck cracked? *Am J Hum Genet*, 62(4): 752-7.
- Rickards, O., Martinez-Labarga, C., Lum, J.K., De Stefano, G.F. and Cann, R.L., 1999. mtDNA history of the Cayapa Amerinds of Ecuador: detection of additional founding lineages for the Native American populations. *Am J Hum Genet*, 65(2): 519-30.
- Richards, M. et al., 1996. Paleolithic and neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am J Hum Genet*, 59(1): 185-203.
- Richards, M.B., Macaulay, V.A., Bandelt, H.J. and Sykes, B.C., 1998. Phylogeography of mitochondrial DNA in western Europe. *Ann Hum Genet*, 62(Pt 3): 241-60.
- Richter, C., Park, J.W. and Ames, B.N., 1988. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(17): 6465-6467.
- Rodas, C., Gelvez, N. and Keyeux, G., 2003. Mitochondrial DNA studies show asymmetrical Amerindian admixture in Afro-Colombian and Mestizo populations. *Hum Biol*, 75(1): 13-30.
- Rodriguez-Delfin, L.A., Rubin-de-Celis, V.E. and Zago, M.A., 2001. Genetic diversity in an Andean population from Peru and regional migration patterns of Amerindians in South America: data from Y chromosome and mitochondrial DNA. *Hum Hered*, 51(1-2): 97-106.
- Ruhlen, M., 1998. A guide to the world's languages, Stanford, California.
- Salas, A. et al., 2002. The making of the African mtDNA landscape. *Am J Hum Genet*, 71(5): 1082-111.
- Salas, A. et al., 2008. The mtDNA ancestry of admixed Colombian populations. *Am J Hum Biol*, 20(5): 584-91.
- Salzano, F.M., 2002. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *An Acad Bras Cienc*, 74(2): 223-63.
- Santos, M. and Barrantes, R., 1994. Direct screening of a mitochondrial DNA deletion valuable for Amerindian evolutionary research. *Hum Genet*, 93(4): 435-6.
- Santos, M., Ward, R.H. and Barrantes, R., 1994. mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Hum Biol*, 66(6): 963-77.
- Schurr, T., 2002. A molecular anthropological view of the peopling of the Americas. *Athena Review* 3(2).
- Schurr, T.G. et al., 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet*, 46(3): 613-23.
- Schurr, T.G., 2004. The peopling of the new world: Perspectives from Molecular Anthropology. *Annual Review of Anthropology*, 33: 551-583.
- Schwartz, M. and Vissing, J., 2002. Paternal Inheritance of Mitochondrial DNA. *N Engl J Med*, 347(8): 576-580.
- Schwartz, M. and Vissing, J., 2003. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *Ugeskr Laeger*, 165(38): 3627-30.
- Schwartz, M. and Vissing, J., 2004. No evidence for paternal inheritance of mtDNA in patients with sporadic mtDNA mutations. *Journal of the Neurological Sciences*, 218(1-2): 99-101.
- Smith, R., 1996. Drama Bajo El Manto Amazónico: El Turismo Y Otros Problemas de Los Huaorani en la Actualidad 2. Abya Yala.
- Starikovskaya, Y.B., Sukernik, R.I., Schurr, T.G., Kogelnik, A.M. and Wallace, D.C., 1998. mtDNA diversity in Chukchi and Siberian Eskimos: implications for the genetic history of Ancient Beringia and the peopling of the New World. *Am J Hum Genet*, 63(5): 1473-91.
- Stoneking, M. and Soodyall, H., 1996. Human evolution and the mitochondrial genome. *Curr Opin Genet Dev*, 6(6): 731-6.
- Sutovsky, P. et al., 1999. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature*, 402(6760): 371-2.
- Tamm, E. et al., 2007. Beringian Standstill and Spread of Native American Founders. *PLoS ONE*, 2(9): e829.
- Thompson, W.E., Ramalho-Santos, J.o. and Sutovsky, P., 2003. Ubiquitination of Prohibitin in Mammalian Sperm Mitochondria: Possible Roles in the Regulation of Mitochondrial Inheritance and Sperm Quality Control 1. *Biology of Reproduction*, 69(1): 254-260.
- Torroni, A. et al., 1992. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*, 130(1): 153-62.
- Torroni, A. et al., 1993a. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet*, 53(3): 563-90.
- Torroni, A. et al., 1993b. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am J Hum Genet*, 53(3): 591-608.
- Torroni, A. et al., 1994a. mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four Native American populations from southern Mexico. *Am J Hum Genet*, 54(2): 303-18.
- Torroni, A. et al., 1994b. mtDNA and the origin of Caucasians: identification of ancient Caucasian-specific haplogroups, one of which is prone to a recurrent somatic duplication in the D-loop region. *Am J Hum Genet*, 55(4): 760-76.
- Tully, L.A. et al., 2000. A sensitive denaturing gradient-Gel electrophoresis assay reveals a high frequency of heteroplasmy in hypervariable region 1 of the human mtDNA control region. *Am J Hum Genet*, 67(2): 432-43.
- Vigilant, L., Stoneking, M., Harpending, H., Hawkes, K. and Wilson, A.C., 1991. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science*, 253(5027): 1503-7.
- Vona, G., Falchi, A., Moral, P., Calo, C.M. and Varesi, L., 2005. Mitochondrial sequence variation in the Guahibo Amerindian population from Venezuela. *Am J Phys Anthropol*, 127(3): 361-9.
- Walsh, P.S., Metzger, D.A. and Higuchi, R., 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4): 506-13.
- Ward, R.F., FM. Bonatto, S.L. HUTZ, M. COIMBRA, C. SANTOS, R., 1996. Mitochondria DNA Polymorphism in Three Brazilian Indian Tribes. *American Journal of Human Biology* 8: 317-323.
- Watson, E., Forster, P., Richards, M. and Bandelt, H.J., 1997. Mitochondrial footprints of human expansions in Africa. *Am J Hum Genet*, 61(3): 691-704.
- Zsurka, G. et al., 2005. Recombination of mitochondrial DNA in skeletal muscle of individuals with multiple mitochondrial DNA heteroplasmy. *Nat Genet*, 37(8): 873-7.

# Una mutación en el gen *SOS1* causa un Fenotipo clásico en el Síndrome de Noonan

## A mutation in gene *SOS1* causes a classic Phenotype in Noonan Syndrome

María Pilar Ribate Molina<sup>1</sup>, María Arnedo Muñoz<sup>1</sup>, Beatriz Puisac Uriol<sup>1</sup>, María Concepción Gil Rodríguez<sup>1</sup>, Inés Bueno Martínez<sup>2</sup>, Juan Plé Juste<sup>1</sup>, Feliciano J. Ramos Fuentes<sup>1,2</sup>.

1. Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional. Departamentos de: Farmacología y Fisiología, y Pediatría, Radiología y Medicina Física. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.

2. Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa" c/ Domingo Miral s/n, Zaragoza, E-50009, España.

### RESUMEN

El Síndrome de Noonan (SN) (OMIM 163950) es un trastorno genético autosómico dominante caracterizado por un fenotipo dismórfico (similar al síndrome de Turner), talla baja y cardiopatía congénita. La incidencia del SN se estima entre 1/1000 y 1/2500 de recién nacidos vivos. El fenotipo se caracteriza por unos rasgos faciales peculiares que incluyen ptosis palpebral, hipertelorismo ocular, fisuras palpebrales inclinadas hacia abajo, y orejas de implantación baja. Otros hallazgos frecuentes son talla baja, *pectus excavatum*, retraso mental de grado variable, defectos cardíacos y criptorquidia en varones. En la actualidad existen 4 genes relacionados con el SN, *PTPN11*, *KRAS*, *SOS1* y *RAF1*, y todos ellos codifican proteínas que participan en la vía de señalización Ras/MAPK.

### PALABRAS CLAVE:

Síndrome de Noonan, Fenotipo, Genotipo, Gen *SOS1*.

### SUMMARY

Noonan syndrome (NS) (OMIM 163950) is an autosomal dominant genetic syndrome characterized by a dysmorphic phenotype (with similarities to Turner syndrome), short stature and congenital heart disease. Its prevalence is estimated in 1/1000 and 1/2500 live newborns. Common physical findings include a distinctive facial appearance with ptosis, ocular hypertelorism, downslanting palpebral fissures and low set ears. Other frequent manifestations include short stature *pectus excavatum*, psychomotor/mental delay, congenital heart disease and cryptorchidism in males. Currently, four genes are associated to NS: *PTPN11*, *KRAS*, *SOS1* and *RAF1*, and all of them codify proteins involved in the Ras/MAPK signaling pathway.

### KEY WORDS:

Noonan syndrome, Phenotype, Genotype, Gene *SOS1*.

### INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Noonan (SN) (OMIM 163950) es un trastorno genético autosómico dominante caracterizado por un fenotipo dismórfico (similar al síndrome de Turner), talla baja y cardiopatía congénita. La incidencia del SN se estima entre 1/1000 y 1/2500 de recién nacidos vivos<sup>1</sup>. El fenotipo se caracteriza por unos rasgos faciales peculiares que incluyen ptosis palpebral, hipertelorismo ocular, fisuras palpebrales inclinadas hacia abajo, y orejas de implantación baja (Tabla 1). Otros hallazgos frecuentes son talla baja, *pectus excavatum*, retraso mental de grado variable, defectos cardíacos y criptorquidia en varones<sup>2</sup>. En la actualidad existen 4 genes relacionados con el SN, *PTPN11*, *KRAS*, *SOS1* y *RAF1*, y todos ellos codifican proteínas que participan en la vía de señalización Ras/MAPK.

Aproximadamente el 50% de los individuos con SN presentan mutaciones en el gen *PTPN11*, situado en el cromosoma 12q24.1, que dan lugar a una activación prolongada de la proteína que codifica, la tirosin fosfatasa citosólica (SHP-2)<sup>3</sup>. Las mutaciones en este gen están relacionadas con la presencia de estenosis pulmonar, talla baja y deformidades torácicas<sup>4</sup>. El segundo gen más común, causante del 13% de casos de SN, es el gen *SOS1*, cuyas mutaciones dan lugar a un fenotipo más leve que las del gen *PTPN11* con talla y desarrollo psicomotor normales<sup>5</sup>. Los

Correspondencia: Feliciano J. Ramos Fuentes.

Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional. Dpto. de Pediatría, Radiología y Medicina Física (Área Pediatría). Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza. C/ Domingo Miral s/n, Zaragoza E-50009, España. Tel.: 976 76 17 39. E-mail: f Ramos@unizar.es

genes *KRAS* y *RAF1* son menos frecuentes, y sus mutaciones se han identificado en un 2% y en un 5% de los pacientes respectivamente (Fig. 1). El fenotipo asociado a mutaciones del gen *KRAS* es mucho más grave<sup>6</sup> siendo frecuente el desarrollo de leucemias.

Hoy se conoce que las mutaciones en estos genes originan un incremento de la respuesta de la vía de señalización Ras/MAPK lo que supone un mayor riesgo de cáncer en pacientes con SN<sup>7</sup>.

## CLÍNICA

Paciente varón remitido a las 15 horas de vida a nuestro Servicio por presentar piel redundante en la parte posterior del cuello, *pectus excavatum*, bolsas escrotales vacías y renomegalia derecha (Figura 2). A los 12 días de vida se le realiza una plastia pielo-ureteral del riñón derecho. Posteriormente presentó convulsiones neonatales (hipocalcemia / hipomagnesemia). La criptorquidia bilateral fue intervenida alrededor del año de vida.

A los 2 años de edad se empiezan a perfilar rasgos craneofaciales característicos como hipertelorismo ocular, epicantho bilateral, fisuras palpebrales hacia abajo, cuello corto con piel redundante en parte posterior y (*pterygium coli*) (intervenido a los 10 años). En la piel presenta una hiperpigmentación, mucho más acusada en la zona de las mejillas. El cariotipo fue normal.

Se le realizan repetidas intervenciones quirúrgicas que permiten mitigar el fenotipo. La talla final del paciente a los 19 años era de 168,5 cm, situándose en el límite de la normalidad. Además tiene un desarrollo puberal completo y no presenta retraso cognitivo, permitiéndole desarrollar una vida normal e independiente.

## ESTUDIO MOLECULAR

Con la sospecha clínica de Síndrome de Noonan y una vez conocida la etiología molecular del síndrome, se inició el estudio molecular para identificar la

mutación en los genes asociados a SN. Inicialmente se estudió el gen *PTPN11*, que no reveló ninguna alteración. A continuación se analizó el gen *KRAS-1*, con resultado también negativo. El estudio de un tercer gen, el *SOS1*, permitió la identificación de una mutación en el exón 10, que daba lugar a un cambio de una adenosina por una guanina en la posición 1654, lo que originaba la sustitución del aminoácido arginina por glicina en la posición 552 (R552G). Este cambio modifica la funcionalidad de la vía de señalización Ras/MAPK, incrementando su actividad<sup>8</sup>. El estudio de esta mutación en la madre del paciente resultó negativo. Hasta el momento no se ha descrito ninguna relación entre las mutaciones identificadas en este gen y el desarrollo de algún tipo de cáncer<sup>9</sup>.

## DISCUSIÓN

El síndrome de Noonan (SN) pertenece a una familia de trastornos denominados Neuro-Cardio-Facio-Cutáneos. Se trata de un desorden genético clínicamente muy heterogéneo, en el que se han descrito mutaciones en distintos genes que codifican una serie de proteínas que participan de forma activa en la vía de señalización Ras/MAPK. El gen que alberga el mayor número de mutaciones (aproximadamente un 50% de los pacientes) es el *PTPN11*, que codifica una proteína denominada SHP-2. Del segundo de ellos, el gen *SOS1*, se obtiene una proteína (SOS) imprescindible para la activación del receptor tirosinquinasa. Esta proteína forma parte de un complejo sistema de autorregulación, y sus mutaciones, como la decrita en nuestro paciente, inhiben este sistema provocando un incremento de la vía de señalización. Los individuos afectados presentan un fenotipo diferenciado que permiten distinguirlo del fenotipo asociado a los demás genes implicados, principalmente las alteraciones ectodérmicas y la presencia de una talla y un desarrollo intelectual normales. Nuestro paciente presenta una talla dentro de

los percentiles normales, con una pubertad completa y desarrollo cognitivo normal.

Aunque hoy día se conocen ciertas correlaciones genotipo-fenotipo en el SN, sigue siendo necesario el análisis de nuevos pacientes para completarlas.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- Mendez HM, Opitz JM. Noonan syndrome: a review. *Am J Med Genet* 1985; 21:493-506.
- 2- Tartaglia M, Kalidas K, Shaw X et al. *PTPN11* mutations in Noonan syndrome: molecular spectrum, genotype-phenotype correlation, and phenotypic heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2002; 70:1555-1563.
- 3- Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R et al. Mutations in *PTPN11*, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. *Nat Genet* 2001; 29:465-468.
- 4- Zenker M, Buheitel G, Rauch R et al. Genotype-phenotype correlations in Noonan syndrome. *J Pediatr* 2004; 144:368-374.
- 5- Roberts AE, Araki T, Swanson KD et al. Germline gain-of-function mutations in *SOS1* cause Noonan syndrome. *Nat Genet* 2007; 39:70-74.
- 6- Carta C, Pantaleoni F, Bocchinfuso G et al. Germline missense mutations affecting *KRAS* isoform B are associated with a severe Noonan syndrome phenotype. *Am J Hum Genet* 2006; 79:129-135.
- 7- Niihori T, Aoki Y, Ohashi H et al. Functional analysis of *PTPN11*/SHP-2 mutants identified in Noonan syndrome and childhood leukemia. *J Hum Genet* 2005; 50:192-202.
- 8- Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R et al. Gain-of-function *SOS1* mutations cause a distinctive form of Noonan syndrome. *Nat Genet* 2007; 39:75-79.
- 9- Swanson KD, Winter JM, Reis M et al. *SOS1* mutations are rare in human malignancies: implications for Noonan syndrome patients. *Genes Chromosomes Cancer* 2008; 47:253-259.

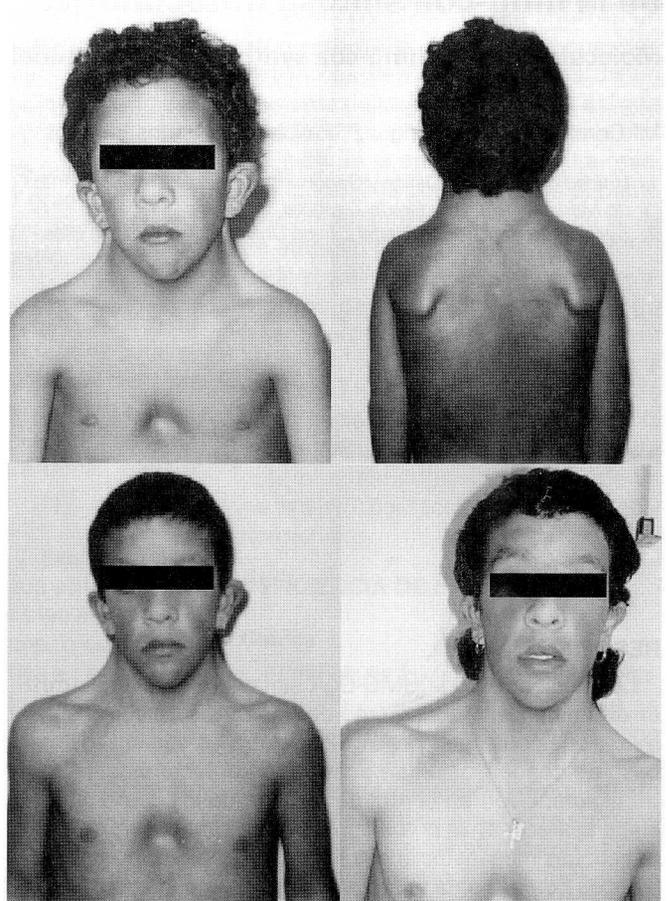
## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha recibido la ayuda que la Diputación General de Aragón (DGA) da a los Grupos de Investigación Consolidados de la Comunidad (B20). M<sup>a</sup> Concepción Gil-Rodríguez disfruta de una beca de Formación del Personal Investigador de la DGA (REF# B120/2006).

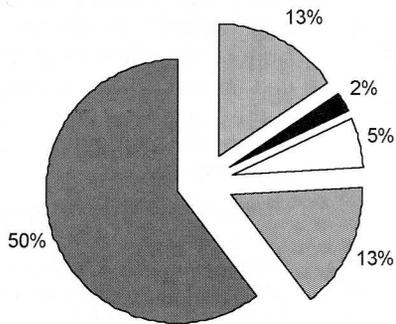
**Tabla 1**  
**Manifestaciones clínicas asociadas al Síndrome de Noonan.**

Crecimiento	Talla baja
Craneofaciales y cuello	Cara triangular Ptosis palpebral, hipertelorismo ocular, epicanto, fisuras palpebrales hacia abajo, estrabismo, miopía. Pabellones auriculares de implantación baja y alados <i>Philtrum</i> excavado Paladar ojival, anomalías dentarias (malposición) Micrognatia Cuello corto y alado, baja implantación del cabello en la nuca
Cardiovascular	Cardiopatía congénita: estenosis pulmonar, cardiomiopatía hipertrófica, comunicación interauricular/interventricular, otros.
Tórax	<i>Pectus excavatum</i> , <i>pectus carinatum</i> .
Genitourinario	Criptorquidia Retraso de la pubertad
Esquelético	<i>Cubitus valgus</i> Clinodactilia y braquidactilia Anomalías vertebrales
Neurológico	Retraso psicomotor/mental (grado variable) Retraso del lenguaje Problemas de aprendizaje
Hematología	Hemorragias Enfermedad de von Willebrand Disfunción de plaquetas Leucemia
Otros	Linfedema periférico, esplenomegalia, sordera neurosensorial

**Figura 2**



**Figura 1**



■ Causa desconocida ■ KRAS □ RAF-1 ■ SOS-1 ■ PTPN11

Frecuencia de las mutaciones de los distintos genes relacionados con el SN

Fenotipo del paciente a los 6 años (arriba), a los 12 (abajo izquierda) y a los 18 (abajo derecha).

# Bases moleculares de la deficiencia de la hmg-coa sintasa mitocondrial

## Molecular basis of hmg-coa synthase mitochondrial deficiency

Mónica Ramos Álvarez<sup>1</sup>, María Arnedo Muñoz<sup>1</sup>, Beatriz Puisac Uriol<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Pilar Ribate Molina<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Concepción Gil-Rodríguez<sup>1</sup>, Feliciano J. Ramos Fuentes<sup>1,2</sup>, Juan Pié Juste<sup>1</sup>

1. Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional. Departamentos de Farmacología-Fisiología y de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.
2. Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa" c/ Domingo Miral s/n, Zaragoza, E-50009, España.

### RESUMEN

La deficiencia de la HMG-CoA sintasa mitocondrial (mHS) (MIM 600234) es un error innato del metabolismo de tipo autosómico recesivo que está causada por mutaciones en el gen *HMGCS2*. La mHS es una enzima mitocondrial que cataliza el paso de condensación de acetyl-CoA con acetoacetyl-CoA para forma 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA en la ruta de síntesis de los cuerpos cetónicos. Esta deficiencia suele aparecer en la primera infancia en situaciones de ayuno y alto consumo energético. Las manifestaciones clínicas son inespecíficas e incluyen vómitos, letargia y a veces coma. Hasta la fecha, sólo se han diagnosticado a nivel clínico y genético ocho pacientes en todo el mundo.

### PALABRAS CLAVE:

Deficiencia HMG-CoA sintasa, mutaciones, cetogénesis.

### SUMMARY

The HMG-CoA synthase mitochondrial (mHS) deficiency (OMIM 600234) is an autosomal recessive inborn error of metabolism caused by mutations in the *HMGCS2* gene. mHS is a mitochondrial enzyme that catalyzes the condensation step of acetyl-CoA with acetoacetyl-CoA to form 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA in the synthesis pathway of the ketone bodies. This deficiency frequently appears during childhood under fasting and/or high energy consumption situations. Clinical manifestations are rather inespecific and include vomiting, letargy and, in some cases, coma. To date, only eight patients have been clinically and genetically characterized around the world.

### KEY WORDS:

HMG-CoA synthase deficiency, mutations, ketogenesis.

### INTRODUCCIÓN

La deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA (HMG-CoA) sintasa mitocondrial (MIM 600234) es un error innato del metabolismo de carácter autosómico recesivo, difícil de caracterizar y que probablemente está infradiagnosticado<sup>1</sup>. En la actualidad, se considera una enfermedad rara por tener una incidencia <1/1000000, aunque podría ser mayor, al incluirse a veces, dentro del Síndrome de Muerte Súbita del Recién Nacido.

La enzima HMG-CoA sintasa mitocondrial (mHS, EC 4.1.3.5) es clave en el metabolismo de la síntesis de cuerpos cetónicos y en la formación del HMG-CoA. Los cuerpos cetónicos actúan como combustible alternativo a la glucosa en tejidos como el corazón, músculo esquelético y cerebro, y su función es básica en el estrés metabólico y el ayuno. Es precisamente en estas situaciones donde la deficiencia se manifiesta. La enfermedad fue descrita por primera vez en 1997<sup>1</sup>, en un niño de 11 años que presentó, tras una gastroenteritis y tres días de inanición, un estado semicomatoso con hipoglucemia e hipocetonemia<sup>2</sup>. Hasta la fecha, se han diagnosticado en todo el mundo sólo ocho pacientes. El fallo de la enzima está causado por mutaciones en el gen *HMGCS2* localizado en el cromosoma uno.

Correspondencia: Juan Pié Juste. Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional. Dpto. Farmacología y Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza. c/ Domingo Miral s/n, Zaragoza E-50009, España. Tel.: 976 76 16 77. Fax: 976 76 17 00. E-mail: juanpie@unizar.es

## ENZIMA mHS

### Estructura y función

La enzima mHS cataliza la condensación de acetyl-CoA y acetoacetyl-CoA, para formar 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) (Figura 1). Existen dos isoenzimas que catalizan la misma reacción pero con distinta localización, la HMG-CoA sintasa citosólica (cHS) que es fundamental para la síntesis del colesterol<sup>3,4</sup> y la HMG-CoA sintasa mitocondrial (mHS)<sup>3</sup>, que es la que nos ocupa, y que facilita la síntesis de cuerpos cetónicos en el interior de las mitocondria.

La mHS humana está formada por 508 aminoácidos y es un homodímero constituido por dos monómeros idénticos unidos entre sí por puentes salinos (Figura 2). En el extremo N-terminal se encuentra el péptido líder, de 37 aa, que le permite introducirse en la mitocondria. En 1985, se identificaron los aminoácidos catalíticos en la mHS de hígado de pollo<sup>5</sup>. Esta región está formada por 21 aminoácidos y su centro catalítico es la Cys 166. Muy recientemente la enzima humana ha sido cristalizada, confirmándose una estructura del tipo alfa/beta, con 17 hojas beta y

19 hélices alfa. El canal de entrada del sustrato, y posterior salida del producto, está localizado en la zona exterior de la molécula, en la cara opuesta a la zona de interacción de los dos monómeros<sup>6</sup>.

La enzima se expresa principalmente en hígado y en menor grado en riñón, tejido adiposo<sup>7</sup>, intestino de mamíferos durante la lactancia<sup>8</sup> y astrocitos corticales de neonatos<sup>9,10</sup>.

El conocimiento de la estructura de la proteína y de sus aminoácidos catalíticos ha resultado muy útil en el diagnóstico molecular de los pacientes, para interpretar el efecto de las mutaciones sobre la actividad de la enzima.

### Regulación

Es conocido que la síntesis de cuerpos cetónicos tiende a aumentar cuando el sujeto pasa de estar bien alimentado a una situación de ayuno, o cuando se le somete a una dieta rica en grasas. En situaciones patológicas como la diabetes también se puede producir un aumento de los cuerpos cetónicos. Sin embargo, la síntesis de estos compuestos tiende a disminuir en la alimentación tras el ayuno, en el paso de la lactancia al destete y tras la adminis-

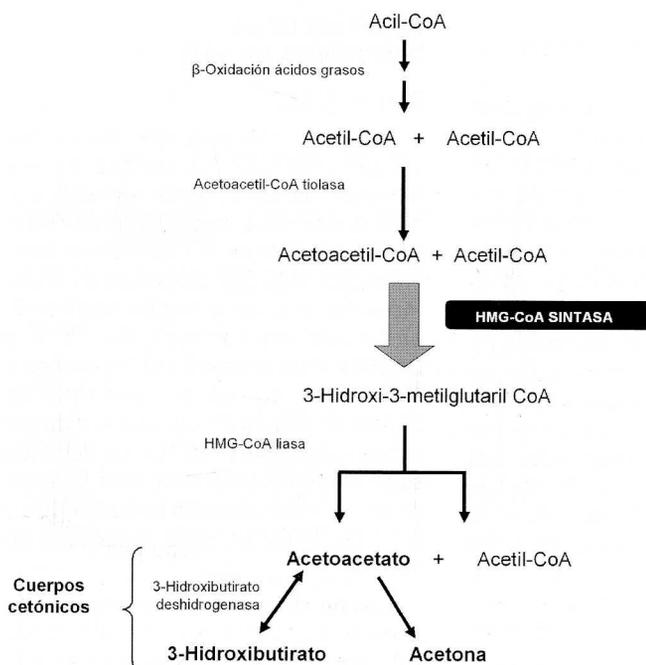
tración de insulina<sup>11-13</sup>. En general, todas las condiciones que implican un aumento de la síntesis de cuerpos cetónicos van acompañadas de un aumento del nivel de expresión del gen *HMGCS2*<sup>14</sup>, y de un aumento de la producción de la enzima mHS<sup>15</sup>. La reacción catalizada por la mHS es el punto más importante de regulación de la vía de síntesis de cuerpos cetónicos<sup>16,17</sup>. En la actualidad, se admiten dos mecanismos de regulación: uno a largo plazo, a nivel de la transcripción del gen *HMGCS2*<sup>14,18</sup>, y otro a corto plazo, a nivel de la proteína por mecanismos de succinilación y de desuccinilación de la enzima<sup>19,20</sup>. Ambos mecanismos de control están influenciados, como ya se ha visto, por factores nutricionales y hormonales.

## DEFICIENCIA DE mHS

### Clínica

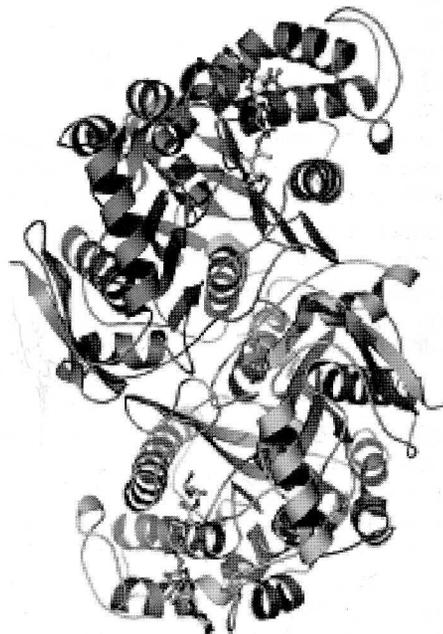
El déficit de HMG-CoA sintasa mitocondrial es una enfermedad que se pone de manifiesto en situaciones de ayuno y de alto consumo energético (fiebre, estrés, ejercicio). En el sujeto sano, estas situaciones activan rutas metabólicas que generan combustibles alternativos a la glucosa, entre los que

Figura 1



**Vía metabólica de la síntesis de cuerpos cetónicos.** La HMG-CoA sintasa mitocondrial juega un papel clave en la producción de cuerpos cetónicos al ser el punto de regulación de la vía metabólica.

Figura 2



Estructura tridimensional del dímero de la enzima mHS.

**Tabla 1**  
**Características clínicas y datos bioquímicos de las deficiencias de HL y mHS.**

	Síntomas y datos del laboratorio	Deficiencia de mHS	Deficiencia de HL
<b>Síntomas</b>	Vómitos	+/-	+/-
	Diarrea	+/-	+/-
	Hipotonía	-	+/-
	Letargia	+/-	+/-
	Respiración alterada	+/-	+/-
	Coma	+/-	+/-
	Hepatomegalia	+	+/-
	Desarrollo normal	+	+/-
	Secuelas o fallecimiento	-	+/-
	<b>Datos Analíticos</b>	Hipoglucemia	+
Hipocetonemia		+	+
Aumento de ácidos grasos libres		+	-
Hiperamonemia		-	+/-
Aumento de transaminasas		+/-	+/-
Acidosis metabólica		+/-	+
Elevación de ácidos dicarboxílicos en orina		+	-
Elevación de los ácidos 3-hidroxi-3-metilglutárico, 3-hidroxiisovalérico, 3-metilglutacónico y 3-metilglutárico		-	+
Niveles de Carnitina normales		+	+/-

+Siempre; -Nunca; +/- en ocasiones.

destacan, los cuerpos cetónicos. Un defecto de la cetogénesis, en situaciones de baja disponibilidad de glucosa, puede desencadenar el coma del paciente o incluso su muerte.

La deficiencia de mHS cursa con una clínica poco específica, lo que dificulta su diagnóstico. La enfermedad suele debutar con vómitos, letargia y a veces coma (Tabla 1). En la mayoría de los casos, estos síntomas van acompañados de una ligera hepatomegalia<sup>1</sup>. Los síntomas revierten rápidamente tras la administración de glucosa.

Todos los casos descritos hasta el momento, han presentado una buena evolución tras las crisis agudas. No se conoce ningún paciente que haya fallecido por esta deficiencia.

### Diagnóstico

El dato analítico más importante, que se detecta durante la crisis aguda es la hipoglucemia con hipocetonemia. Pero también puede encontrarse un aumento de ácidos grasos libres en plasma, con elevación de ácidos dicarboxílicos en orina. A diferencia de otros procesos similares los valores de lactato, amonio y acilcarnitinas son normales en plasma<sup>21</sup>. En algunas ocasiones se ha descrito acidosis metabólica.

### Diagnóstico diferencial

Merece la pena insistir en el diagnóstico diferencial entre las deficiencias de mHS y de HL. Aunque la clínica de ambas es bastante parecida, existen características importantes que las distinguen (Tabla 1).

Los pacientes con deficiencia de HL (aciduria 3-hidroxi-3-metilglutárica) debutan, también, con crisis agudas durante el período neonatal o en la primera infancia. Ambas deficiencias se desencadenan cuando se produce una falta de aporte exógeno de glucosa (situaciones de inanición), o cuando existe un consumo excesivo de la misma.

Las crisis agudas en la deficiencia de mHS cursan, en la mayor parte de los casos, con hepatomegalia y coma superficial. Los síntomas que presentan estos pacientes están relacionados con su localización hepática y con la baja disponibilidad de glucosa. En cambio, en el caso de deficiencia de HL o de otros enzimas de la  $\beta$ -oxidación, la clínica suele manifestarse con afectación multiorgánica<sup>1</sup>. En estas últimas, la mayoría de los pacientes presentan debilidad muscular y miopatía<sup>22</sup>. En los casos de la deficiencia de HL se describen situaciones que incluyen deshidratación, hipoto-

nía, hipotermia, respiración alterada, letargia, coma, y a veces la muerte<sup>23,24</sup>.

Las complicaciones crónicas de la aciduria 3-hidroxi-3-metilglutárica, aunque no son frecuentes, pueden incluir macrocefalia<sup>25</sup>, retraso en el desarrollo y cardiomiopatía dilatada con arritmia<sup>26</sup>. En los casos de deficiencia de mHS no se han descrito complicaciones crónicas.

La diferencia más importante se encuentra en el perfil de expresión de los ácidos orgánicos en orina que es típico de la deficiencia de HL y que no aparece en la de mHS. Los metabolitos que se acumulan en orina son el ácido 3-hidroxiisovalérico, la 3-metilcrotonil glicina, el ácido 3-metilglutárico, el 3-metilglutacónico y el ácido 3-hidroxi-3-metilglutarárico. En la Tabla 1 se recogen los datos clínicos y analíticos de ambas deficiencias.

### Tratamiento

El tratamiento es sintomático durante los episodios agudos y consiste en la administración intravenosa de glucosa para contrarrestar la hipoglucemia. Para la terapia de mantenimiento o a largo plazo se recomienda una dieta baja en grasas, evitando los periodos de inanición de más de 12 horas. Es fundamental evitar situaciones de estrés metabólico, como hipoglucemias o infecciones recurrentes, en estos casos se debe dar un aporte calórico extra<sup>21</sup>.

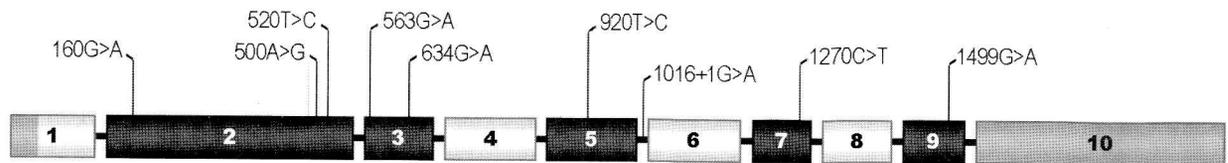
### GENÉTICA DE LA DEFICIENCIA DE mHS

#### Gen HMGCS2

En el año 1994 se caracterizó el cDNA del gen *HMGCS2* que codifica la mHS humana<sup>27</sup>. Anteriormente se había clonado la secuencia de cDNA del gen de la HMG-CoA sintasa de rata<sup>28</sup>. En el hombre el gen *HMGCS2* se localiza en el cromosoma uno, en la región 1p12-p13, entre los marcadores WI-7519 y D1S514. Está formado por 10 exones y 9 intrones, con un tamaño total de 21708 pb (Figura 3). La longitud de los exones varía entre las 107 pb del exón siete y las 846 pb del exón diez. El tamaño de los intrones oscila entre 0.4 kDa y 4.1 kDa. El cDNA tiene un tamaño de 2082 pb.

Estudios de expresión del gen en tejidos humanos y en condiciones basales, muestran una expresión específica de tejido. Se detectan niveles elevados de mRNA en hígado, como era de esperar por ser el órgano con

Figura 3



Esquema de la estructura genómica del gen HMGCS2 en el que se representan las ocho mutaciones encontradas hasta la fecha en la población mundial.

mayor capacidad cetogénica. La expresión es también elevada en colón, este hallazgo se relaciona con el proceso fermentativo que tiene lugar en él<sup>29</sup>. Una expresión menor se observa en corazón, músculo esquelético, gónadas, riñón y páncreas<sup>29,30</sup>.

Este gen tiene un *splicing* fisiológico que produce dos variantes, una completa que codifica la proteína activa y otra con delección del exón 4 que codifica una proteína inactiva<sup>31</sup>.

#### Mutaciones conocidas del gen HMGCS2

Se han diagnosticado molecularmente ocho pacientes con deficiencia de la HMG-CoA sintasa mitocondrial a nivel mundial, aunque es probable que su incidencia sea mayor debido a la dificultad diagnóstica de la enfermedad. En los ocho pacientes diagnosticados se han identificado nueve variantes alélicas: siete variantes missense, una non-

sense y una mutación intrónica. Todas las mutaciones missense afectan a aminoácidos que se encuentra muy conservados en la escala evolutiva. Una de estas variantes, la Y167C, afecta a un aminoácido muy próximo a la Cys166, considerada el centro catalítico de la enzima<sup>32</sup>. La variante nonsense, R424X<sup>2,21</sup>, produce una proteína trunca da de sólo 424 aminoácidos, que muy posiblemente será incapaz de formar el dímero activo de la proteína. La mutación intrónica está localizada en el primer nucleótido del intrón 5 (1016+1 G>A). Este tipo de mutaciones generan habitualmente un *splicing* aberrante con delección del exón precedente (exón 5), aunque este hecho no ha podido ser confirmado<sup>33</sup>.

En la Tabla 2 se muestran todas las mutaciones del gen HMGCS2 encontradas hasta el momento, junto con la clínica que presentaron cada uno de los pacientes.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Thompson, G.N., Hsu, B.Y., Pitt, J.J., Treacy, E. & Stanley, C.A. Fasting hypoketotic coma in a child with deficiency of mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase. *The New England Journal of Medicine* 1997; 337, 1203-1207.
2. Bouchard, L., Robert, M. F. Vinarov, D et al. Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase deficiency: clinical course and description of causal mutations in two patients. *Pediatric Research* 2001; 49, 326-331.
3. Clinkenbeard, K.D., Reed, W.D., Mooney, R.A. & Lane, M.D. Intracellular localization of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A cycle enzymes in liver. Separate cytoplasmic and mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A generating systems for cholesterologenesis and ketogenesis. *The Journal of Biological Chemistry* 1975; 250, 3108-3116.
4. Reed, W.D., Clinkenbeard, D. & Lane, M.D. Molecular and catalytic properties of mitochondrial (ketogenic) 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase of liver. *The Journal of Biological Chemistry* 1975; 250, 3117-3123.

Tabla 2. Características clínicas y datos bioquímicos de los pacientes diagnosticados con deficiencia de mHS.

PACIENTE	EDAD DE DEBUT DE LA ENFERMEDAD	VARIANTES ALELICAS	EXON/ INTRON	GENOTIPO	SINTOMAS Y SIGNOS	ÁCIDOS ORGANICOS	ACILCARNITINA	REFERENCIAS
Paciente 1	6 años	c.520T>C	2	F174L/F174L	Gastroenteritis, hipoglucemia, hipocetonemia, coma superficial	Normal	Normal	[1] [2]
Paciente 2	1 año y 4 meses	c.1270C>T	7	R424X/ desconocida	Diarrea, vómitos, hepatomegalia, hipoglucemia, hipocetonemia, coma	Aciduria dicarboxilica	Normal	[2] [20]
Paciente 3	11 meses	c.634G>A; c.1499G>A	3 y 9	G212R/R500H	Gastroenteritis, vómitos, hepatomegalia, hipoglucemia, hipocetonemia, coma	Aciduria dicarboxilica	Normal	[34]
Paciente 4	9 meses	c.634G>A; c.1016+1G>A	3 y 5	G212R/ IVS5+1G>A	Gastroenteritis, diarrea, vómitos, hepatomegalia, hipoglucemia, hipocetonemia, coma	Aciduria dicarboxilica	Normal	[32]
Paciente 5	4 años y 6 meses	c.160G>A; c.500A>G	2	V54M/Y167C	Gastroenteritis, diarrea, vómitos, hipoglucemia, hipocetonemia, coma	Aciduria dicarboxilica	Normal	[35]
Paciente 6	1 año y 7 meses	c.160G>A; c.500A>G	2	V54M/Y167C	Hepatomegalia, función hepática anormal	Aciduria dicarboxilica	Normal	[35]
Paciente 7	7 meses	c.920T>C; c.563G>A	5 y 3	M307T/R188H	Vómitos, hepatomegalia, hipoglucemia hipocetonemia, encefalopatía.	Aciduria dicarboxilica	Normal	[36]
Paciente 8	1 año	c.920T>C;	5 y 3	M307T/R188H c.563G>A	Vómitos, letargia	Normal	Normal	[36]

El número del cDNA está basado en referencia a la secuencia del GenBank NM\_005518.2; +1 respecto a la A del codón de inicio de transcripción ATG;

5. Miziorko, H.M. & Behnke, C.E. Active-site-directed inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase by 3-chloropropionyl coenzyme A. *Biochemistry* 1985; 24, 3174-3179.
6. Yue, W.W., Shafiqat, N. Savitsky P, et al. Crystal Structure of Human Mitochondrial 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Synthase 2 (Hmgcs2). *Structure Summary MMDB* 2008. MMDB ID: 67689 PDB ID: 2V4W
7. Thumelin, S., Forestier, M., Girard, J. & Pegorier, J.P. Developmental changes in mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase gene expression in rat liver, intestine and kidney. *The Biochemical Journal* 1993; 292 (Pt 2), 493-496.
8. Hahn, P. & Tallor, M. Ketone formation in the intestinal mucosa of infant rats. *Life Science* 1987; 41, 1525-1528.
9. Cullingford, T.E., Bhakoo, K.K. & Clark, J.B. Hormonal regulation of the mRNA encoding the ketogenic enzyme mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase in neonatal primary cultures of cortical astrocytes and meningeal fibroblasts. *Journal of Neurochemistry* 1998; 71, 1804-1812.
10. Blázquez, C., Sanchez, C., Velasco, G. & Guzman, M. Role of carnitine palmitoyl-transferase I in the control of ketogenesis in primary cultures of rat astrocytes. *Journal of Neurochemistry* 1998; 71, 1597-1606.
11. Williamson, D.H. & Whitelaw, E. Physiological aspects of the regulation of ketogenesis. *Biochemical Society symposium* 1978; 137-161.
12. McGarry, J.D. & Foster, D.W. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annual Review of Biochemistry* 1980; 49, 395-420.
13. Robinson, B.H., Oei, J., Sherwood, W.G et al. Hydroxymethylglutaryl CoA lyase deficiency: features resembling Reye syndrome. *Neurology* 1980; 30, 714-718.
14. Casals, N., Roca, N., Guerrero, M et al. Regulation of the expression of the mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase gene. Its role in the control of ketogenesis. *The Biochemical Journal* 1992; 283 (Pt 1), 261-264.
15. Serra, D., Casals, N., Asisns, G et al. Regulation of mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthase protein by starvation, fat feeding, and diabetes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1993; 307, 40-45.
16. Williamson, D.H., Bates, M.W. & Krebs, H.A. Activity and intracellular distribution of enzymes of ketone-body metabolism in rat liver. *The Biochemical Journal* 1968; 108, 353-361.
17. Dashti, N. & Ontko, J.A. Rate-limiting function of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthase in ketogenesis. *Biochemical Medicine* 1979; 22, 365-374.
18. Hegardt, F.G. Transcriptional regulation of mitochondrial HMG-CoA synthase in the control of ketogenesis. *Biochimie* 1998; 80, 803-806.
19. Lowe, D.M. & Tubbs, P.K. Succinylation and inactivation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase by succinyl-CoA and its possible relevance to the control of ketogenesis. *The Biochemical Journal* 1985; 232, 37-42.
20. Quant, P.A., Tubbs, P.K. & Brand, M.D. Glucagon activates mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase in vivo by decreasing the extent of succinylation of the enzyme. *European Journal of Biochemistry / FEBS* 1990; 187, 169-174.
21. Morris, A.A., Lascelles, C.V., Olpin, S.E et al. Hepatic mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthase deficiency. *Pediatric Research* 1998; 44, 392-396.
22. Osorio, J.H., Lluch, M. & Ribes, A. Analysis of organic acids after incubation with (16-2H3) palmitic acid in fibroblasts from patients with mitochondrial beta-oxidation defects. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 2003; 26, 795-803.
23. Wysocki, S.J. & Hahnel, R. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency: a review. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 1986; 9, 225-233.
24. Menao, S., Lopez-Viñas, E., Mir, C et al. Ten novel HMGCL mutations in 24 patients of different origin with 3-hydroxy-3-methyl-glutaric aciduria. *Human Mutation* 2009; 30, E520-529.
25. Stacey, T.E., de Sousa, C., Tracey, B.M et al. Dizygotic twins with 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria; unusual presentation, family studies and dietary management. *European Journal of Pediatrics* 1985; 144, 177-181.
26. Gibson, K.M., Cassidy, S.B., Seaver, L.H et al. Fatal cardiomyopathy associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 1994; 17, 291-294.
27. Boukaftane, Y., Duncan, A., Wang, S et al. Human mitochondrial HMG CoA synthase: liver cDNA and partial genomic cloning, chromosome mapping to 1p12-p13, and possible role in vertebrate evolution. *Genomics* 1994; 23, 552-559.
28. Ayte, J., Gil-Gomez, G., Haro, D., Marrero, P.F. & Hegardt, F.G. Rat mitochondrial and cytosolic 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthases are encoded by two different genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1990; 87, 3874-3878.
29. Mascaro, C., Buesa, C., Ortiz, J.A., Haro, D. & Hegardt, F.G. Molecular cloning and tissue expression of human mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1995; 317, 385-390.
30. Royo, T., Pedragosa, M.J., Ayte, J et al. Testis and ovary express the gene for the ketogenic mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase. *Journal of Lipid Research* 1993; 34, 867-874.
31. Ramos, M. Estudio funcional de la enzima HMG-CoA sintasa mitocondrial humana. Nuevo método de expresión y ensayo enzimático. Zaragoza. Facultad de Medicina, 2009. Tesis Doctoral.
32. Hegardt, F.G. Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase: a control enzyme in ketogenesis. *The Biochemical Journal* 1999; 338 (Pt 3), 569-582.
33. Zschocke, J., Penzien, J.M., Bielen, R et al. The diagnosis of mitochondrial HMG-CoA synthase deficiency. *The Journal of Pediatrics* 2002; 140, 778-780.
34. Aledo, R., Zschocke, J., Pie, J et al. Genetic basis of mitochondrial HMG-CoA synthase deficiency. *Human Genetics* 2001; 109, 19-23.
35. Wolf, N.I., Rahman, S., Clayton, P.T. & Zschocke, J. Mitochondrial HMG-CoA synthase deficiency: identification of two further patients carrying two novel mutations. *European Journal of Pediatrics* 2003; 162, 279-280.
36. Aledo, R., Mir, C., Dalton, R.N et al. Refining the diagnosis of mitochondrial HMG-CoA synthase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 2006; 29, 207-211.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha recibido la ayuda que la Diputación General de Aragón (DGA) da a los Grupos de Investigación Consolidados de la Comunidad (B20). M<sup>o</sup> Concepción Gil-Rodríguez disfruta de una beca de Formación del Personal Investigador de la DGA (REF# B120/2006).

# “Hemólisis como complicación en una válvula cardíaca protésica”

## “Hemolysis as a complication of prosthetic mitral valve”

M<sup>a</sup>Pilar Martín-Fortea<sup>1</sup>, Beatriz Sierra-Bergua<sup>2</sup>, Francisco José Ruiz-Ruiz<sup>2</sup>, Daniel Sáenz-Abad<sup>2</sup>, Miguel Ángel Aibar-Arregui<sup>1</sup>, Teresa Escolar Martínez-Berganza<sup>2</sup>.

1. Servicio de Medicina Interna. Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza

2. Servicio de Urgencias. Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa” de Zaragoza

### RESUMEN

La anemia hemolítica es una complicación poco frecuente asociada a prótesis valvular, tanto mecánica como biológica, y se produce por varios fenómenos. Se presenta el caso clínico de un paciente portador de anuloplastia mitral que acude a urgencias por astenia, cambios en el color de la orina e ictericia, y a través de la presencia de hemólisis se diagnostica de disfunción protésica valvular mediante un ecocardiograma. Se realiza una revisión bibliográfica de la fisiopatología de la hemólisis mecánica producida por prótesis valvulares y su repercusión clínico-analítica, así como de las indicaciones de reintervención quirúrgica.

### PALABRAS CLAVE

Ictericia, prótesis valvular, hemólisis.

### SUMMARY

Haemolytic anaemia is an uncommon complication associated with mechanical or biological prosthetic valve. It is developed by different mechanisms. A case of patient with mitral valve repair is presented, who arrive at the emergency room with asthenia, changes in urine colour and jaundice. Haemolysis is proved, and an echocardiogram is necessary to diagnose of prosthetic valve dysfunction. A review of literature about mechanical haemolysis physiopathology, its clinical and analytical consequences and indications for reoperation is made.

### KEY WORDS

Jaundice, prosthetic valve, haemolysis.

### INTRODUCCIÓN:

Las complicaciones de las válvulas cardíacas protésicas tienen una incidencia de 3-5% paciente/año<sup>1</sup>, siendo la anemia hemolítica una complicación infrecuente<sup>2</sup>. Un 26% de pacientes con prótesis mecánica y un 5% con prótesis biológica presentan hemólisis subclínica<sup>1</sup>. En este caso, la hemólisis puede deberse a múltiples factores como la colisión de las células sanguíneas que condiciona el flujo de regurgitación a través del anillo valvular, la fragmentación del flujo por una dehiscencia de la anuloplastia, y por aceleración rápida del flujo a través de los canales para-anulares<sup>2</sup>. El desgarro de las suturas y la rotura de las cuerdas tendinosas son otras causas de lisis hemática. También se ha visto que la falta de endotelización de la prótesis puede contribuir a la aparición de hemólisis<sup>3</sup>.

### OBSERVACIÓN CLÍNICA:

Presentamos el caso de un varón de 54 años, con antecedentes de hipertensión arterial y dislipemia, con el diagnóstico reciente de arritmia completa por fibrilación auricular, miocardiopatía restrictiva y prolapso de la válvula mitral con insuficiencia valvular severa, motivo por el que se realiza cirugía reparadora mitral consistente en anuloplastia con anillo y colocación de dos cuerdas de Gerotex® en alveolo anterior. Tres semanas después de esta intervención presenta, de forma progresiva, un cua-

dro de astenia, malestar y presencia de orinas oscuras, al que se añade ictericia cutánea. En la exploración física destaca, además, la presencia de una ingurgitación yugular positiva, una ligera hepatomegalia y la presencia de un soplo pansistólico irradiado a axila, con un 3º ruido audible en decúbito lateral izquierdo. En las pruebas complementarias básicas se aprecia la existencia de una discreta anemia (hemoglobina 10 g/dl, hematocrito 28'4%,), una hiperbilirrubinemia a expensas de la fracción indirecta (bilirrubina total 3,3 mg/dl y directa 1 mg/dl), y una cardiomegalia grado II en la radiografía torácica. Ante la sospecha de la existencia de una hemólisis mecánica se solicita nuevas pruebas: haptoglobina sérica, que es inferior a 7,25 mg/dl (normal: 50-150 mg/dl), un frotis sanguíneo donde se visualizan esferocitos (1-2%) y esquistocitos (>1%). Finalmente en un ecocardiograma de urgencia se aprecia la existencia de insuficiencia valvular mitral aguda, con un engrosamiento distal de la dicha válvula, de aspecto mixoide, con un prolapso del velo anterior que condiciona una regurgitación severa; el corazón izquierdo está dilatado y la función sistólica está conservada. Se realiza tratamiento quirúrgico, consistente en una sustitución valvular mitral por prótesis mecánica, al comprobarse la rotura de la cuerda tendinosa primaria al velo anterior.

## DISCUSIÓN

La hemólisis mecánica, como la que se produce en nuestro caso, es extracorpúscular, ya que no se debe a defectos intrínsecos del hematíe sino a factores externos, e intravascular, porque los hematíes son destruidos en el lecho vascular y no son secuestrados en otras

estructuras del organismo. La hemoglobina que se libera al destruir a los hematíes se une a la haptoglobina que ha sido sintetizada por el hígado. Cuando la cantidad de hemoglobina liberada excede a la haptoglobina sintetizada (entonces se detectan niveles séricos de haptoglobina bajos), se filtra en el riñón, parte se excretará con la orina dando lugar a una hemoglobinuria, y parte será captada por las células tubulares donde se metabolizará a hemosiderina y ferritina<sup>1</sup>. Habrá también un aumento de la bilirrubina debido a una mayor metabolización del grupo *hemo*, sobre todo de la fracción no conjugada o indirecta debido a la saturación de los catalizadores enzimáticos<sup>4</sup>; clínicamente se manifestará como ictericia. Además, con la lisis se va a liberar la gran cantidad de LDH (lactodeshidrogenasa) que hay en el citoplasma de los hematíes. Por otro lado, la anemia que produce la hemólisis estimula la producción de eritropoyetina para incrementar la síntesis de hematíes, lo que produce un aumento de la liberación de reticulocitos a la sangre<sup>1</sup> (es decir, reticulocitosis en el análisis sanguíneo).

La base del diagnóstico diferencial de la anemia hemolítica, además de la historia clínica, es la realización de un test de Coombs y una extensión de sangre periférica. En la prueba de Coombs directa se buscan anticuerpos que se unen a la membrana del hematíe y activan el complemento para destruirlo; este test es positivo en el caso de una anemia hemolítica autoinmune, pero se han descrito Coombs directos falsamente positivos en algunos pacientes con hemólisis de origen cardíaco<sup>1</sup>. La morfología de los hematíes, en muchas ocasiones, es la clave para orientar la

causa de la hemólisis, aunque los datos que aporta no son patognomónicos<sup>4</sup>. Las células características de la hemólisis mecánica secundaria a disfunción de válvula protésica son los esquistocitos, aunque también se pueden ver en anemias hemolíticas microangiopáticas, como la coagulación intravascular diseminada, la púrpura trombótica trombocitopénica y la eclampsia, y en algunas neoplasias<sup>1,5</sup>.

Ante la presencia de una anemia hemolítica en un paciente portador de prótesis valvular cardíaca hay que realizar un ecocardiograma para determinar la presencia de regurgitación mitral. La indicación principal para realizar una reintervención quirúrgica es la progresión de la regurgitación mitral hasta hacerse severa<sup>1</sup>. Otras indicaciones son la incapacidad para corregir de forma conservadora los síntomas asociados y la necesidad de continuar realizando transfusiones sanguíneas<sup>3</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. García MA, Rosero MA, Ábalos A, Talavera M et al. Anemia hemolítica en relación con una dehiscencia de prótesis mitral biológica. *Med Intensiva* 2004; 28: 470-6.
2. Ward RP, Sugeng L, Weinert L, Korcarz C et al. Images in cardiovascular medicine. Hemolysis after mitral valve repair. *Circulation*. 2000; 1695-6.
3. Cerfolio RJ, Orszulak TA, Daly RC, Schaff HV. Reoperation for hemolytic anemia complicating mitral valve repair. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1997;11:479-84.
4. Pratt DS, Kaplan MM. Ictericia. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16<sup>th</sup> ed. Mexico DF: McGraw-Hill; 2005, 270-6.
5. Dhaliwal G, Cornett PA, Tierney LM. Hemolytic anemia. *Am Fam Physician* 2004; 69: 2599-606.

## CASO CLÍNICO

### Infección por *Coxiella Burnetti* (Fiebre Q)

#### *Coxiella Burnetti* infection (Q Fever)

Marta Sánchez Marteles<sup>1</sup>, María Jesús Callejo Plazas<sup>1</sup>, Beatriz Sierra Bergua<sup>1</sup>, Beatriz Amores Arriaga<sup>1</sup>, F.J. Ruiz-Ruiz<sup>2</sup>

1. Servicio de Medicina Interna. Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa", Zaragoza (España)

2. Servicio de Urgencias. Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa", Zaragoza (España)

#### RESUMEN

La Fiebre Q es una zoonosis de distribución universal. Su verdadera incidencia en España es desconocida y probablemente subestimada. Su presentación clínica puede ser aguda o crónica y muy variada. Presentamos el caso clínico de un paciente de 69 años con neumonía y hepatitis secundaria a infección por *Coxiella Burnetti* (Fiebre Q). Se ha realizado una revisión de la literatura.

#### PALABRAS CLAVE:

Infección por *Coxiella Burnetti*, Fiebre Q, Neumonía, Hepatitis

#### ABSTRACT

Q Fever is a worldwide zoonosis. Real incidence is unknown and probably underestimated. Clinical manifestations are varied and can be acute and chronic. A case report of a 69 year old man with a pneumonia and hepatitis due to a *Coxiella Burnetti* infection (Q fever) is presented. A review of literature was made.

#### KEY WORDS:

*Coxiella Burnetti* infection, Q fever, Pneumonia, Hepatitis

#### INTRODUCCIÓN

La infección por *Coxiella Burnetti*, también llamada fiebre Q, es una zoonosis de distribución universal, y manifestaciones clínicas, variadas en presentación, curso y gravedad de las mismas. Mediante la presente nota clínica pretendemos ilustrar la necesidad de considerar esta entidad dentro del diagnóstico diferencial de multitud de entidades clínicas, en especial de las infecciones respiratorias.

#### CASO CLÍNICO

Presentamos el caso un paciente varón de 69 años, con hábito alcohólico y sin otros antecedentes patológicos de interés. Ingresa por cuadro de 1 mes de evolución consistente en disnea, tos escasamente productiva, mialgias difusas y sensación distérmica, sin mejoría a pesar de haber sido tratado con claritromicina y amoxicilina-clavulánico. En la exploración el paciente presentaba fiebre 38°C, subictericia conjuntival, un soplo sistólico mitral y aórtico con irradiación a axila, crepitantes en base izquierda y hepatomegalia de unos 4cm. Analíticamente destacaba VSG 60 mm, bilirrubina total 2,22 mg/dl (a expensas de la bilirrubina directa: 1.13 mg/dl), AST: 43 UI/L, ALT 29 UI/L, GGT 141 UI/L, fosfatasa alcalina 185 UI/L y una actividad de protrombina era del 71%, con INR-TP 1,22. En la radiografía de tórax se apreciaba condensaciones en lóbulo superior e inferior izquierdo

(Fig. 1). Se practicó una ecografía abdominal evidenciándose esplenomegalia e hígado ligeramente heterogéneo; una tomografía computerizada (TC) toraco-abdominal, donde se apreció hepatopatía crónica, esplenomegalia y varices esofágicas; y un ecocardiograma sin alteraciones. El antígeno de Neumococo y Legionella en orina fueron negativos, así como el cultivo de los esputos recogidos. Las serologías para Virus de la Hepatitis B y C, VIH, Citomegalovirus, Virus respiratorio sincitial, Ch. Pneumoniae y Virus Epstein-Barrh fueron negativas y positiva para *Coxiella Burnetti* (Ig M positivo 1.36).

Ante el cuadro clínico descrito, se comenzó tratamiento empírico con levofloxacino quedando apirético desde las primeras 24 horas de tratamiento. El paciente evolucionó favorablemente desapareciendo la disnea y la ictericia, con normalización analítica, y resolución radiológica del cuadro neumónico. El paciente fue dado de alta con diagnóstico de Neumonía y hepatitis secundaria a infección por *Coxiella Burnetti* (Fiebre Q) y hepatopatía crónica de origen alcohólico. 4 semanas después el paciente se encontraba asintomático y la Serología Ig G a *Coxiella Burnetti* fue positiva (4,97)

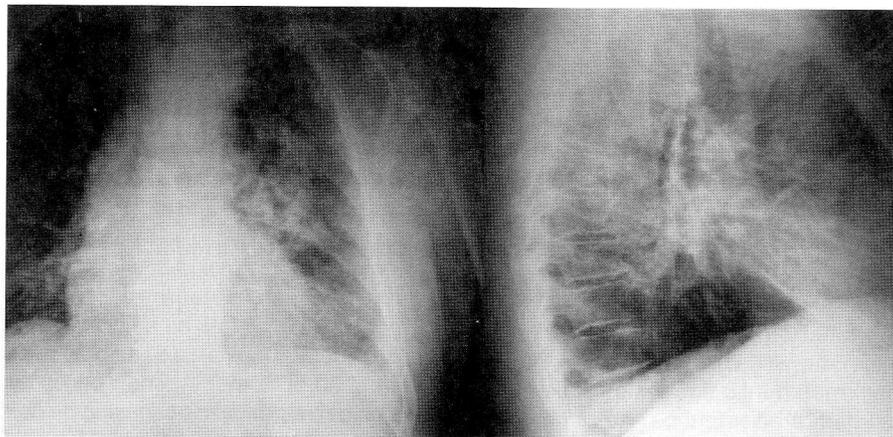
## DISCUSIÓN

La fiebre Q es una infección producida por *Coxiella Burnetti*, considerada como potencial agente de bioterrorismo, es un parásito intracelular obligado, que crece en el interior de los fagolisosomas celulares. Se tiñe con los métodos de Giemsa, Giménez o Machiavello. Considerada durante años como *Rickettsia*, hoy se la considera como única representante de un género aparte (*Coxiella*).

La Fiebre Q es una zoonosis de distribución mundial. Su verdadera incidencia en nuestro país es desconocida y probablemente subestimada (1,2).

Las garrapatas son el reservorio natural de la *Coxiella Burnetti*, aunque se describen también como portadores numerosas especies animales domésticas y urbanas (perro, gato, ovejas, ratas..) (2). Este microorganismo forma esporas resistentes a la desecación y es muy infectante por vía aérea. De

Figura 1



Radiografías PA y lateral de tórax donde se aprecia condensaciones en lóbulo superior e inferior izquierdos

modo que la principal vía de infección es la inhalación de aerosoles que vehiculizan las esporas procedentes de las secreciones o productos contaminados de los animales previamente mencionados. Por lo tanto es un agente productor de brotes epidémicos, incluso a distancia del foco de infección, incluidos ambientes urbanos (2). Están descritas otras formas de infección mucho menos frecuentes, como el contacto directo con las secreciones animales, consumo de productos lácteos contaminados, incluso transmisión vertical e interpersonal entre miembros convivientes (1,2).

Es difícil saber la verdadera incidencia, puesto que varía su presentación clínica según la zona geográfica, siendo más frecuente en el Norte de España la afectación pulmonar, y en el Sur y Levante, la afectación hepática (1). No está claro si esto puede ser debido a la virulencia de la cepa, a los diferentes modos de transmisión, a la dosis infectante, o bien a factores huésped-dependientes.

El cuadro clínico es muy variable tanto en sintomatología como en intensidad, pudiendo ir desde cuadros febriles autolimitados con astenia hasta neumonías, endocarditis, osteomielitis o cuadros de afectación neurológica. Se produce tras un periodo de incubación variable de 15 a 40 días, y clásicamente se describen formas agudas y crónicas (más de 6 meses de evolución) (2, 3,4).

El tratamiento recomendado es la doxiciclina, a dosis de 100 mg. cada 12 horas durante 14 días. Una alternativa eficaz y reconocida, hoy en día, son las fluorquinolonas, especialmente si existe afectación neurológica (3, 5,6).

En conclusión, la infección por *Coxiella Burnetti* (Fiebre Q) es prevalente en nuestro medio, y por tanto debe ser considerada en el diagnóstico diferencial de la infección respiratoria.

## BIBLIOGRAFÍA

1. García-Clemente M, Seco-García AJ, Gutiérrez-Rodríguez M, Romero-Álvarez P, Fernández-Bustamante J, Rodríguez-Pérez M. Brote epidémico de neumonía por *Coxiella Burnetti*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25(3): 184-6.
2. De Alarcón A. Fiebre Q: todavía muchas preguntas por resolver. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25 (3): 165-7
3. Thomas J. Marrie, Didier Raoult. *Coxiella Burnetti* (fiebre Q). In: Mandell. *Agentes etiológicos de las enfermedades infecciosas. Parte III.* , 2296-2302
4. Niro Okimoto, Naoko Asaoka, Kohichi Osaki, takeyuki Kurihara, Kenji Yamato. Taka-ro Sungawa, Kazue Fujita, Hideo Ohba, Junichi Nakamura and Kehichi Nakada. Clinical features of Q fever pneumonia. *Respirology* (2004) 9, 278-282.
5. Raoult D. Microbiology and epidemiology of Q fever. [monografía en internet] [citado en febrero 2007]. Disponible en [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
6. Raoult D. Clinical features, diagnosis, treatment and prevention of Q fever. [monografía en internet] [citado en febrero 2007]. Disponible en [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

## CASO CLÍNICO

# Quiste epitelial esplénico y peliosis hepática: una infrecuente asociación.

### Splenic epithelial cyst and hepatic peliosis: an infrequent association.

Dr. Rafael Pila Pérez<sup>1</sup>, Dr. Pedro Rosales Torres<sup>2</sup>, Dr. Rafael Pila Peláez<sup>3</sup>, Dr. Víctor A. Holguín Prieto<sup>4</sup>, Dr. Roger Campos Batueca<sup>5</sup>

Hospital Universitario "Manuel Ascunce Domenech". Camagüey. Cuba

1. Especialista de II grado en Medicina Interna. Profesor Titular y Consultante.

2. Especialista de I grado en Anatomía Patológica. Profesor Instructor.

3. Especialista de II grado en Medicina Interna. Profesor Asistente.

4. Residente de III año en Medicina Interna.

5. Especialista de I grado en Medicina Interna.

## RESUMEN

**Introducción:** Se describe el caso de una mujer de 58 años de edad con un quiste epitelial esplénico asociado a peliosis hepática, constituyendo una relación no reportada en la literatura médica hasta la actualidad.

**Caso clínico:** Mujer de 58 años que ingresa por dolor, masa palpable en flanco izquierdo, dispepsia, estreñimiento y derrame pleural izquierdo discreto. A la exploración física se encuentra una masa de 11 x 10 cm, que se corresponde con el bazo, lo cual fue demostrado por estudios imagenológicos y drenaje del quiste. Sólo se encontró el antecedente de ingestión de vitamina A por espacio de 43 años, con dosis de 50000 UI diarias, debido a padecer de retinosis pigmentaria. La terapéutica empleada fue la esplenectomía total, con una resección "en cuña" del hígado por sus características morfológicas, dando como resultado un quiste epitelial esplénico asociado a una peliosis hepática, los cuales se demostraron en los posteriores estudios histológicos.

**Conclusiones:** Los quistes epiteliales esplénicos son entidades muy raras, diagnosticándose de forma excepcional por estudios imagenológicos, o a veces por asociarse a otras entidades de clínica más florida; en este caso, se asoció a una peliosis hepática, con pobres características clínicas y requiriendo de estudio histopatológico para su confirmación. Esta es una asociación muy infrecuente, y su diagnóstico se realizó de forma casual.

## PALABRAS CLAVE:

Quiste epitelial esplénico, peliosis hepática, asociación.

## ABSTRACT

**Introduction:** This paper reports on a 58-year female patient with a splenic epithelial cyst associated to hepatic peliosis a relation not being reported on in medical literature as of yet.

**Clinical case:** A 58-year female is admitted on account of pain, a palpable mass on her left flank, dyspepsia, constipation, and discrete left pleural effusion. Upon physical examination a mass of 11x10cm was found adjoining to the spleen. The history of retinitis pigmentosa treated with vitamin A, 50000 UI daily, during 43 years was obtained. Splenectomy and wedge resection of the liver were performed. The histopathological study demonstrated an epithelial splenic cyst associated to peliosis hepatitis.

**Conclusion:** The epithelial splenic cysts are very rare, its diagnosis is exceptional through ultrasound or CT-scan, however, this can be facilitated due to association with other diseases. Our patient presented a peliosis hepatitis, uncommon entity and clinically poor. The findings were casual and they needed histopathological investigations to confirm them.

## KEY WORDS:

Epithelial splenic cysts, peliosis hepatitis, association.

Correspondencia:

Dr. Rafael Pila Pérez.

General Gómez # 452. Camagüey. Cuba. CP. 70100. E-mail: vadolfo@finlay.cmw.sld.cu

## INTRODUCCIÓN

Los quistes esplénicos (QE) son raros, independientemente de su origen. Las formaciones quísticas ocurren en el bazo con menor frecuencia que en cualquier otra víscera intraabdominal (1). Los QE pueden ser parasitarios y no parasitarios; los primeros son 5-10 veces más comunes que los no parasitarios, con diferencias muy importantes en los países occidentales (2). No existen datos exactos de la incidencia de los QE no parasitarios, sin embargo, sólo 2 casos de los 102 QE estudiados por Garvin y King fueron parasitarios (2). Una amplia y completa clasificación de los QE fue expuesta por Fowler, quien estudió esta entidad por más de 40 años (3). Martin (4) modificó y simplificó esta clasificación, la cual a pesar de sus años sigue siendo la más aceptada:

1. Quistes primarios (o verdaderos), con revestimiento celular.
  - a) Parasitarios
  - b) No parasitarios
    - Congénitos
    - Neoplásicos

2. Quistes secundarios (o falsos), sin verdadero revestimiento celular.

Burring (5) clasifica a los no parasitarios en verdaderos o falsos atendiendo a la presencia o no de revestimiento epitelial, que en ocasiones puede ser difícil de identificar, siendo los verdaderos (con epitelio) los menos frecuentes.

Los QE secundarios o falsos son más comunes que los primarios, pero han

recibido menos atención porque su etiopatogenia no es clara, citándose a los traumatismos como un factor contribuyente importante (6).

El término "peliosis" (*del griego "πελιος"*, que quiere decir púrpura, morado) hace referencia a una entidad morfológica caracterizada por la presencia en el hígado de espacios quísticos ocupados por sangre (7). Su etiopatogenia es desconocida, pero se ha relacionado con enfermedades debilitantes crónicas o con la ingestión de medicamentos (8). Habitualmente cursa de forma subclínica, por lo que suele ser un hallazgo de autopsia o de cirugía; sin embargo, eventualmente puede ocasionar complicaciones, algunas veces mortales (7).

La introducción de la laparoscopia, la ultrasonografía y la tomografía axial computarizada (TAC) en la práctica clínica ha facilitado el reconocimiento de estas lesiones en vida y ha mostrado que son más frecuentes de lo que hasta ahora se había pensado (8).

El objetivo de este trabajo es comunicar el caso de una paciente con un QE epitelial asociado a una peliosis hepática (PH). Esta asociación no fue hallada por nosotros en el rastreo bibliográfico realizado.

## PRESENTACIÓN DEL CASO

Paciente femenina, de 58 años de edad, ama de casa, sin antecedentes patológicos familiares de interés, que ha padecido desde los 15 años de retinosis pigmentaria y otras enfermedades ocu-

lares, para las cuales ha llevado tratamiento con vitamina A, tabletas de 25000 U, 2 tabletas diarias, y vitamina C, tabletas de 500 mg, 1 tableta diaria, desde esa edad sin abandonar nunca esta terapéutica. No se recogieron datos de consumo de otros tóxicos o medicamentos, con excepción de cuando fue intervenida quirúrgicamente por oftalmología. La paciente desde hace 2 meses comenzó a presentar aumento de volumen del abdomen, con dolor usualmente moderado con "sensación de peso"; acompañado de dispepsia, vómitos y estreñimiento marcado, asociándose algunas veces a tos pertinaz y disnea, la cual ha ido en aumento. Toda esta sintomatología ha empeorado en los últimos días, por lo que acudió al servicio de Urgencias donde fue ingresada para su estudio.

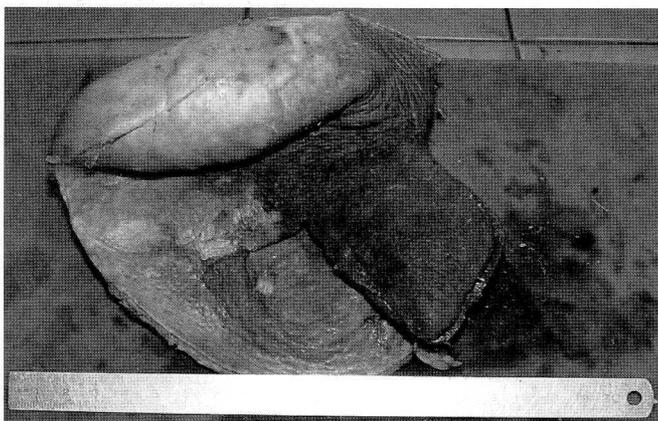
## Examen físico

Todos los aparatos y sistemas fueron totalmente normales, excepto el abdomen, el cual era globuloso, doloroso a la palpación profunda; encontrándose en el hipocondrio izquierdo una masa de aproximadamente 11 cm, de consistencia blanda, superficie lisa, que se desplazaba con la respiración, de bordes imprecisos, que llegaba a la porción inferior del flanco izquierdo y que parecía corresponderse con el bazo. La exploración vaginal y rectal fue normal.

## Estudio analítico y evolución

Los exámenes de hemoquímica, enzimas hepáticas y pancreáticas, iones,

Figura 1



Quiste esplénico de gran tamaño en un bazo pequeño.

Figura 2



Obsérvense las trabéculas dentro de la cavidad quística y el pequeño bazo normal.

proteínas totales y fraccionadas, función renal, conteo de plaquetas; tiempos de coagulación, sangría, protrombina, y parcial de tromboplastina (kaolín) fueron todos normales, excepto la velocidad de sedimentación globular que fue de 55 mm/1ª hora.

**Electrocardiograma:** Taquicardia sinusal. **Radiografía de tórax:** ligero derrame pleural izquierdo con elevación del hemidiafragma homolateral. **Ultrasonografía abdominal:** masa de aspecto quístico de 11x10 cm que forma parte del bazo, al cual desplaza. **TAC de abdomen:** gran imagen hipodensa de aproximadamente 11.5x10 cm, de pared gruesa, en la proyección del área esplénica, desplazando el bazo hacia atrás; cuando se administra contraste, existe discreto realce de la densidad de la cápsula en la periferia de dicha imagen.

Después de la ultrasonografía y la TAC se practicó una punción del quiste con el fin de drenarlo y estudiar el líquido. Se extrajeron 300 ml de un líquido seroso en el cual se realizaron estudios de enzimas, como amilasa; estudios microbiológicos para descartar tuberculosis, brucelosis, y otros microorganismos; y citología en búsqueda de procesos malignos, siendo todos negativos.

Se practicó *laparotomía exploratoria* y se realizó abordaje de la lesión esplénica, encontrándose una formación tumoral quística de 11x10 cm, con un peso de 383 g, que hacía cuerpo con el bazo (Figura 1 y 2), con cavidad uniloculada y trabéculas. El bazo era pequeño, de

6x4x2 cm. Al inspeccionar la cavidad abdominal se observó el hígado de un color rojo-vino, con moteado en la superficie, haciéndose más marcado en la cara diafragmática, por lo que se realizó una resección "en cuña", para estudio histopatológico, siendo necesarios varios puntos de sutura para cohibir el sangrado.

El estudio histopatológico describe:

- Muestra esplénica: formación quística de 11x10x7 cm de consistencia firme, uniloculada, trabeculada, sin engrosamiento de la pared ni formación de papilas, no calcificaciones, no salida de líquido. Presencia de revestimiento epitelial cuboidal plano con apariencia mesotelial (Figura 3 y 4). El resto del tejido esplénico sin alteraciones histológicas. Se concluye el diagnóstico de quiste esplénico primario no parasitario tipo epidermoide (también llamado mesotelial). Se indica citokeratina y antígeno de membrana epitelial (no realizados).
- Muestra hepática: fragmento de tejido hepático de 3x2x1 cm de color rojo pardusco con presencia de moteado subcapsular petequeal, de milímetros de diámetro; algunas lesiones son de aspecto quístico. Histológicamente se observa gran dilatación de los sinusoides hepáticos llegando a la formación de quistes con contenido hemático. Se concluye el diagnóstico como una peliosis hepática.

La paciente fue egresada a las tres semanas con el diagnóstico de un QE epitelial primario no parasitario tipo epidermoide asociado a peliosis hepática por hipervitaminosis A, encontrándose al alta hospitalaria totalmente asintomática.

## DISCUSIÓN

Los QE verdaderos no parasitarios del bazo han sido reportados de manera anecdótica a través de los años, con poco más de 1000 casos de existencia en la actualidad (9). Suelen ser más frecuentes entre la cuarta y la sexta décadas de la vida y su mayor incidencia es en el sexo femenino (2), como ocurrió en el caso que presentamos. Una de las características clínicas más importantes de estas lesiones, es la escasez de síntomas que originan, siendo en muchos casos descubiertas de modo incidental en el curso de otras enfermedades (5). En ocasiones las manifestaciones clínicas dependen del tamaño del quiste y puede debutar por dolor abdominal, distensión abdominal, dispepsia y estreñimiento, los cuales aumentan paulatinamente (10), como se apreció en esta paciente; en ocasiones se puede presentar con complicaciones agudas como ruptura, hemorragia o infección (2, 5). El tamaño puede variar desde menos de 1 cm hasta más de 16 cm (11); en nuestro caso media 11x10 cm, siendo el bazo de 6x4x2 cm.

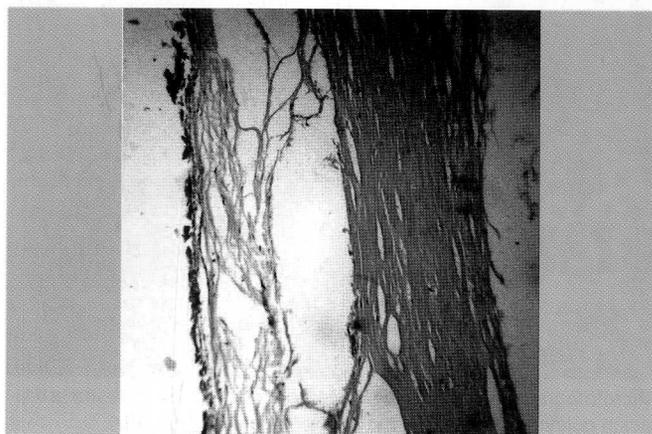
Los QE verdaderos no parasitarios son clasificados de acuerdo a la aparición histológica de la cubierta epitelial,

Figura 3



Corte histológico donde se aprecia tejido esplénico normal rodeado por la pared del quiste (H/E 20x).

Figura 4



Quiste esplénico de gran tamaño en un bazo pequeño.

la misma es muy variable y va desde cuboidal plana, pasando por transicional, hasta escamosa; pudiendo existir variación de un tipo de epitelio a otro en diferentes zonas de la lesión (2). Histológicamente las lesiones con epitelio cuboidal plano fueron consideradas como quistes mesoteliales. En la actualidad con la ayuda de la inmunohistoquímica, se pueden separar en verdaderas lesiones epiteliales con apariencia mesotelial y lesiones endoteliales como los hemangiomas y linfangiomas; las lesiones epiteliales de aparición mesotelial son también llamadas epidermoides por otros autores (5). Una vez demostradas las características epiteliales de la cubierta, existen solamente dos grupos dentro de los QE verdaderos: los QE epidermoides (llamados mesoteliales) y los QE dermoides. Los estudios histopatológicos concluyeron que nuestra paciente presentaba un QE verdadero de tipo epidermoide.

Las técnicas de imagen y en especial la ecografía abdominal constituyen una herramienta diagnóstica muy útil, si bien en ocasiones hay que establecer un diagnóstico diferencial con los linfomas (1, 12).

El origen de estas lesiones es controversial; su formación se atribuye a inclusiones embrionarias de tejido epitelial, provenientes de las estructuras vecinas o del mesotelio con subsecuente desarrollo de metaplasia escamosa secundaria a hemorragia o irritación (5).

Debemos diferenciar las lesiones verdaderas con cubierta epitelial de los pseudoquistes, ya que los quistes verdaderos son resistentes a terapia no quirúrgica (1, 6). El tratamiento de estas lesiones está indicado siempre que sean sintomáticas, afecten a órganos vecinos, tengan más de 5 cm o se presenten con cualquiera de las complicaciones (12).

Dentro de las terapias no quirúrgicas, la aspiración percutánea seguida de esclerosis de la pared, usando tetraciclina o alcohol, ha sido ampliamente usada, sin embargo, debe ser evitada debido a que existe reacumulación temprana del fluido (12). La decapsulación parcial o completa mediante técnicas laparoscópicas, ha sido empleada con un bajo índice de recurrencias, pero con mayores problemas para lograr hemostasia (13). La esplenectomía total sigue siendo el tratamiento definitivo para los QE epiteliales que ocupan la mayor parte del bazo y también en los casos en que la lesión afecta al hilio (12).

Nuestro caso hasta el momento quirúrgico fue diagnosticado y tratado como un QE epitelial, pero la observación del hígado por el cirujano y el estudio histopatológico posterior mostrando una PH, nos llevó a pensar en la existencia de una entidad multisistémica con afección de otros órganos como el bazo, médula ósea, ganglios linfáticos, pulmón, paratiroides y riñón (8), sin embargo, los estudios histológicos afirmaron la presencia de estas dos entidades al

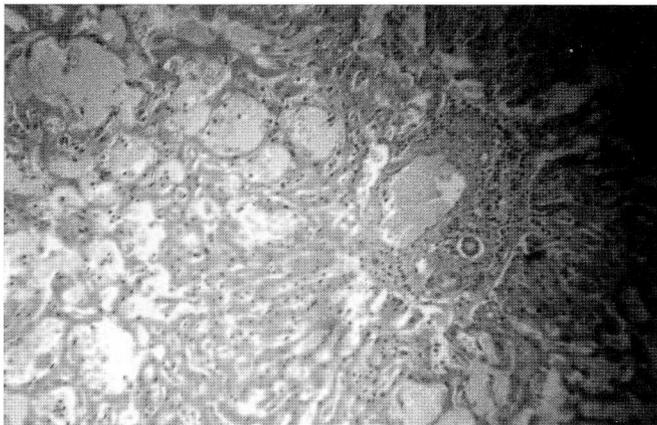
parecer de manera independiente: QE epitelial esplénico y una PH.

Basados en los aspectos microscópicos de las lesiones, Yanoff y Rawson (14) diferenciaron en la PH las formas parenquimatosa, flebectásica y mixta, mientras que Degott (15) la divide en forma "mayor" y "menor". En el caso que nos ocupa se observó marcada dilatación sinusoidal y flebectásica.

No se sabe con exactitud la prevalencia de esta lesión, debido a que se trata de una entidad que habitualmente no origina ningún síntoma, además de que no se dispone de un método diagnóstico sencillo para la confirmación de la misma. Lo que sí es cierto es que es una lesión muy rara (7, 8). La prevalencia de la PH en la laparoscopia se ha calculado aproximadamente en el 0.85% (16). La mayoría de los pacientes cuando se diagnostican son adultos y se encuentran en la quinta década de la vida (7), como en el caso que nos ocupa.

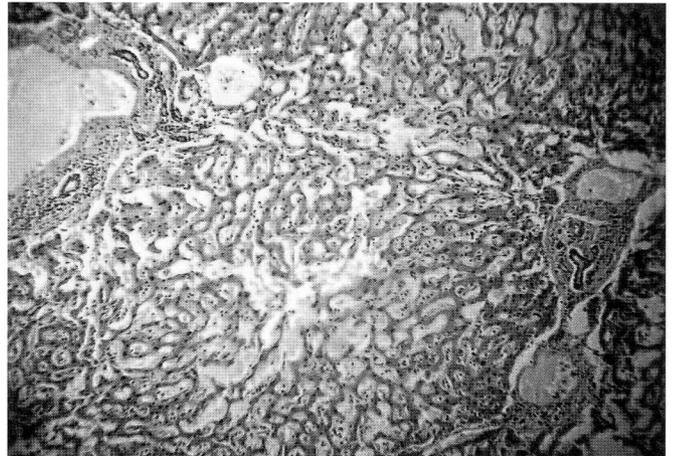
La PH se ha descrito asociada a tuberculosis, enfermedades neoplásicas y diversas hepatopatías sometidas a biopsia hepática o laparoscopia (7). Algunos autores (8), señalan la PH relacionada con la terapéutica de fármacos tales como: andrógenos, anovulatorios orales, antineoplásicos e inmunosupresores, glucocorticoides, hipervitaminosis A y tóxicos del tipo torotrast y lisiocarpina. Se ha sugerido la etiología infecciosa (17) como hepatitis aguda, amebiasis, SIDA, leishmaniasis visceral, entre otras. En ocasiones hay que recurrir al origen crip-

**Figura 5**



Microfotografía panorámica de un campo hepático. Se muestra la dilatación quística parenquimatosa de los sinusoides (H/E 40x).

**Figura 6**



Histología hepática de un corte teñido con H/E observada con cristal de filtro verde para mejor contraste, mostrando la flebectasia de las venas centrolobulillares (H/E 40x).

togenético al no hallar ningún factor etiológico que pueda explicar su origen (18).

La única y probable etiología peliótica de este caso es la ingestión de vitamina A durante 43 años, a una dosis excesiva, lo cual es señalado por Zafrani et al (19), ya que ellos reconocieron la extravasación de células hemáticas a través de amplias comunicaciones existentes entre la luz sinusoidal y el espacio perisinusoidal, así como la hinchazón y desaparición de las células endoteliales; por ello estos autores (19) interpretan que la PH se origina como consecuencia de una alteración de la pared sinusoidal, relacionada con la ingestión de este medicamento.

La enfermedad puede ser asintomática y la sintomatología es determinada por la enfermedad acompañante, como ocurrió en nuestra paciente, en ocasiones puede presentarse por complicaciones como hemorragia peritoneal por rotura de cavidades, fallo hepático, síndrome hepatorenal, coagulación de la cavidad peliótica y desarrollo de neoplasias (7), siendo el diagnóstico diferencial fundamental con los hemangiomas, la leucemia de células peludas con afectación esplénica o con el síndrome de Budd-Chiari (8).

Dada la parquedad expresiva clínica de la PH, el diagnóstico de la lesión suele ser casual (16), como se observó en este caso. En no pocas ocasiones, constituye un hallazgo de autopsia, de cirugía o de laparoscopia (16). La biopsia hepática confirma el diagnóstico, careciendo de riesgo si las lesiones son pequeñas, tal y como se evidenció en nuestra paciente; no siendo así en las lesiones de mayor tamaño, donde las hemorragias son importantes (20).

En la casi totalidad de los casos, la PH no requiere tratamiento y se ha comuni-

cado la regresión espontánea tras la supresión del agente causal (15-19).

Se concluye este caso como una asociación infrecuente y casual, siendo el primer reporte en nuestro país y probablemente el primero en la literatura médica hasta el momento actual.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Volk M, Strotzer H. Diagnostic imaging of splenic disease. *Radiologe*. 2006;46:229-44.
2. Garvin F, King M. Cysts and non lymphomatous tumors of the spleen. *Pathol Ann*. 1981;16:61-5.
3. Fowler H. Nonparasitic benign cystic tumors of the spleen. *Surg Gynecol Obstet*. 1953;96:209.
4. Martin W. Congenital splenic cysts. *Am J Surg*. 1958;96:302-6.
5. Burrig KF. Epithelial (true) splenic cysts. Pathogenesis of the mesothelial and so-called epidermoid cyst of the spleen. *Am J Surg Pathol*. 1988;12:275-81.
6. Hansen B, Moller C. Splenic cysts. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2004;14:316-22.
7. Cereceda CN, Solis Herruzo A, Muñoz Yagüe MT, De Blas C. Peliosis hepática. Revisión de la literatura. *Rev Esp Enf Ap Digest*. 1989;75:201-11.
8. Tsokos M, Erbersdobler A. Pathology of peliosis. *Forensic Sci Int*. 2005;149:25-33.
9. Morgenstern L. Non parasitic splenic cysts: pathogenesis, classification and treatment. *J Am Coll Surg*. 2002;194:306-14.
10. Mellissas J, De Bree E, Schoretsanitidis G, Tsiftsis D. Experience with benign splenic disease. *Acta Chir Belg*. 2004;104:559-63.
11. Añon Requena MJ, Pérez Requena J, Palomo González MJ, Guerrero Cauqui R. Quiste epidermoide esplénico. Presentación de un caso. *Rev Esp Patol*. 2004;37:449-52.
12. Dillemans B, Mottrie A, Decoster M, Gruwez A. Epidermoid cysts of the spleen. *Acta Chir Belg*. 1993;93:265-7.
13. Calisti A, Perrotta L, Molle P, Marrocco G, Miele V. Epithelial splenic cysts in children: Surgical treatment by cyst-wall "peeling". *Pediatr Surg Int*. 2003;19:300-2.
14. Yanoff M, Rawson J. Peliosis hepatis. An anatomic study with demonstration of two varieties. *Arch Pathol*. 1964;77:159-65.
15. Degott C, Rueff B, Kreis H, Duboust A, Potet F, Benhamou P. Peliosis hepatis in recipients of renal transplants. *Gut*. 1978;19:748.
16. Cereceda CN, Solis JA, Colina F, Muñoz Yagüe MT, Castellano G, Morillas JD et al. Peliosis hepática: estudio de 31 casos. *Ann Med Intern*. 1986;3:371-6.
17. Devars Dumayne JF. Hepatic vascular lesions in AIDS. *JAMA*. 1985;254:53-4.
18. Duffau D, Thierman D, Hecht Y, Ragasol A, Ferrier P, Callard P, Goldlust D. Peliose cryptogénétique régressive. Un cas. *Nouvelle Presse Medicale*. 1977;6:110.
19. Zafrani S, Bernuau D, Feldmann G. Peliosis-like ultrastructural changes of the hepatic sinusoids in human chronic hypervitaminosis A: Report of three cases. *Hum Pathol*. 1984;15:1166-70.
20. Smathers L, Heiken P, Lee T, Press A, Balfe DM. Computed tomography of fatal hepatic rupture due to peliosis hepatis. *J Comput Assist Tomogr*. 1984;8:768-9.



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

# ARCHIVOS

de la Facultad de

# MEDICINA

de Zaragoza

Volumen 49

Núm. 3

Diciembre 2009

## VI Encuentro de Neurociencias Estructura y función del Sistema Nervioso

*Zaragoza, 11 de diciembre de 2009*

- Bases físicas y moleculares
- Estructura y función
- Patologías asociadas al Sistema Nervioso
- Aplicaciones clínicas. Neurociencia aplicada al comportamiento y la conducta
- Sesiones de posters

Entidades Colaboradoras:



### 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

Juan Pie Juste

Adjuntos al Decano para Estudiantes

### Por el Ilustre Colegio de Médicos

Miguel Ángel Lechuga Monge

Vicepresidente del Ilustre Colegio de Médicos de Zaragoza

### CONSEJO DE REDACCIÓN

María Dolores Abós Olivares  
Carlos Aibar Remón  
Julia Aísa 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 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<sup>o</sup> 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<sup>o</sup> Miguélana 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 Serrat 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

# VI Encuentro de Neurociencias

## Estructura y función del Sistema Nervioso

Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

Zaragoza, 11 de diciembre de 2009

### Comité Organizador

#### Secretaría Técnica

**María Jesús Azanza**  
**Concepción Junquera**

#### Vocales

**Rosario Osta**  
**Ana Isabel Alcalde**  
**Manuel Sarasa**  
**Antonio Lobo**  
**Nicolás Fayed**  
**Yamir Moreno**  
**José Ramón Ara**  
**José Gazulla**  
**Pedro C. Marijuán**

### Colaboradores

**Irene Cantarero, Teresa Figols, M<sup>a</sup> José Luesma,**  
**Rodolfo Pérez Bruzón, Carmen Pérez Castejón**

### Conferencias Invitadas

**Prof. Dr. Agustín del Moral Gámiz.**

Catedrático de Física de la Materia Condensada.

Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza.

*“Modelos de dinámica neuronal espontánea y bajo campos magnéticos alternos de frecuencia extremadamente baja (ELF)”.*

**Dr. Manuel Sarasa.**

Director Científico de Araclón, Zaragoza.

*“El pool de beta-amiloide en sangre puede ser marcador biológico de las etapas iniciales de Alzheimer”.*

**Prof. Dr. Santiago Ramón y Cajal Junquera.**

Catedrático de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza.

*“Santiago Ramón y Cajal, 75 años más tarde”*

# ARCHIVOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA



## SUMARIO

VOLUMEN 49, NUMERO 3, DICIEMBRE DE 2009

VI Encuentro de Neurociencias  
Estructura y función del Sistema Nervioso

Zaragoza, 11 de diciembre de 2009

Sesión I	
• <i>Bases físicas y moleculares</i> •	9
<hr/>	
Sesión II	
• <i>Estructura y función</i> •	17
<hr/>	
Sesión III	
• <i>Patologías asociadas al Sistema Nervioso</i> •	25
<hr/>	
Sesión IV	
• <i>Aplicaciones clínicas. Neurociencia aplicada al comportamiento y la conducta</i> •	33
<hr/>	
Sesiones Posters	45



21 ENE 2010

Esta revista está subvencionada por:

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

ILUSTRE COLEGIO DE  
MÉDICOS DE ZARAGOZA

# P R O G R A M A

## ORGANIZAN:

**M<sup>a</sup> Jesús Azanza.**

Dpto. de Anatomía e Histología Humanas (UZ)

**Concha Junquera.**

Dpto. de Anatomía e Histología Humanas (UZ),

Investigadora del I +CS

## PROGRAMA

### 9:00 h. APERTURA

Excmo. y Mgfco. Sr. Rector de la Universidad de Zaragoza.  
Ilmo Sr. Decano de la Facultad de Medicina. Sr. Director  
Gerente del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud  
(I+CS).

### 9:30-11:00 h. SESIÓN I: BASES FÍSICAS Y MOLECULARES

**Moderador:** Dra. D. Murillo

ESTUDIO DE LA TRANSMISIÓN NEUROMUSCULAR INHIBITORIA INTESTINAL MEDIANTE REGISTRO DEL POTENCIAL DE MEMBRANA CON MICROELECTRODOS INTRACELULARES.

L. Grasa, D. Murillo, D. Gallego, M. Jiménez.

EFFECTO PROTECTOR DE 5-METOXI-INDOLAMINAS PINEALES EN LA OXIDACIÓN DE SINAPTOSOMAS MEDIADA POR RADICALES LIBRES.

S. Millán-Plano, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón, F.J. Miana-Mena, L. Fuentes-Broto, E. Piedrafita, J.J. García.

INHIBICIÓN DE LA RECAPTACIÓN DE SEROTONINA EN PROCESOS INFLAMATORIOS.

N. Matheus, C. Menzona, R. Iceta, E. Latorre, J.E. Mesonero, A.I. Alcalde.

ESTUDIO DE LA REPERCUSIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO SOBRE LA FLUIDEZ DE MEMBRANA EN UN MODELO ANIMAL DE LA ESCLEROSIS LATERAL AMNIOTRÓFICA.

F.J. Miana-Mena, E. Piedrafita, C. González-Mingot, P. Larróde, E. Martínez-Ballarín, S. Oliván, L. Fuentes-Broto, M.J. Muñoz, R. Osta, J.J. García.

**Conferencia** Prof. Dr. Agustín del Moral Gámiz. Universidad de Zaragoza. "Modelos de dinámica neuronal espontánea y bajo campos magnéticos alternos de frecuencia extremadamente baja (ELF)".

### 11:00-11:30 h. Pausa Café y Sesión de Posters 1

### 11:30-11:55 h. SESIÓN I (Continuación)

PAPEL DEL EJE CORTICOTROPO EN LA AGRESIVIDAD CANINA.

B. Rosado, S. García-Belenguer, M. León-Artozqui, G. Chacón, A. Villegas, J. Palacio.

PARADOJAS EN EL DISEÑO DEL OJO ¿CREACIÓN, EVOLUCIÓN, ADAPTACIÓN?

R. Navarro Belsué.

### 12:00-14:00 h. SESIÓN II: ESTRUCTURA Y FUNCION

**Moderador:** Dra. A.I. Alcalde

**Conferencia** Dr. Manuel Sarasa. Director Científico de Aragón, Zaragoza. "El pool de beta-amiloide en sangre puede ser marcador biológico de las etapas iniciales de Alzheimer".

CÉLULAS MADRE SATÉLITE MUSCULARES EN EL MODELO DE ELA MURINO hSOD-1G93A.

R. Manzano, F. Fernandes, A.C. Calvo, S. Oliván, D. Montarras, M. Buckingham, L. Ordovás, M.J. Muñoz, P. Zaragoza, C. Rodellar, R. Osta.

CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES DE CÉLULAS PRECURSORAS NEURONALES EN INTESTINO DE RATA.

M.J. Luesma Bartolomé, I. Cantarero Carmona, C. Martínez Cirano, T. Castiella, J.M. Álvarez Dotu, S. Ramón y Cajal, C. Junquera Escribano.

PAPEL DE LA CICLOOXIGENASA (COX) EN LAS ALTERACIONES MOTORAS GASTROINTESTINALES Y LA FIEBRE INDUCIDAS POR EL LIPOPOLISACÁRIDO (LPS) EN LA OVEJA.

M. Castro, A. Gimeno, E. Guerrero-Lindner, S. Gonzalo, M.P. Arruebo, M.D. Murillo, C. Arnal, J.I. Bonafonte, M.A. Plaza.

DEGENERACIÓN DE CÉLULAS GANGLIONARES FOTOSENSIBLES EN RETINAS HUMANAS CON LA EDAD Y EN MODELOS DE RETINOSIS PIGMENTARIA.

G. Esquiva, I. González-Menéndez, L. Fernández-Sánchez, E. García Martín, I. Pinilla, J.M. García-Fernández, N. Cuenca.

EL TUDCA (ÁCIDO TAUROURSODESOXICÓLICO) PREVIENE LA PÉRDIDA DE ASTROCITOS EN LA RATA TRANSGÉNICA MODELO DE RETINOSIS PIGMENTARIA (P23H)

L. Fernández-Sánchez, G. Esquiva, I. Pinilla, N. Cuenca.

ORGANIZACIÓN FUNCIONAL VERSUS ORGANIZACIÓN DINÁMICA EN EL CEREBRO DEL GATO.

J. Gómez Gardeñes, G. Zamora López, Y. Moreno, A. Arenas.

### 14:00-14:10 h. Neurociencia Joven

#### Posters presentados en Sesión 1

CÉLULAS MADRE NEURALES POSITIVAS A LA NESTINA EN EL SISTEMA NERVIOSO ENTÉRICO.

I. Cantarero, M.J. Luesma, C. Martínez-Ciriano, T. Castiella, C. Junquera.

MODIFICACIÓN DE LA ACCIÓN FISIOLÓGICA DE LA FSH POR LAS VARIANTES GENÉTICAS DE SU RECEPTOR (FSHR).

B.P. Monge-Ochoa, C. Cordero, L. Montoro, F. De Castro, F. Montiel-Sosa, D. Martínez-Redondo, M.J. López-Pérez, C. Díez-Sánchez.

DEGENERACIÓN AXONAL DE LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA EN FUNCIÓN DEL TRATAMIENTO RECIBIDO PARA LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

E. García-Martín, V. Pueyo, J.R. Ara, J. Martín, M. Idoipe, J. Fernández, I. Pinilla.

HAPLOGRUPOS MITOCONDRIALES CON RESISTENCIA AL ALZHEIMER: ESTUDIO MOLECULAR Y CELULAR.

A. Gómez-Durán, D. Pacheu-Grau, J. Montoya, M.J. López-Pérez, E. Ruiz-Pesini.

DIFERENCIAS EN EL ESPESOR MACULAR RETINIANO EN SUJETOS SANOS MEDIDO CON TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA DE DOMINIO TIEMPO Y CON DE DOMINIO ESPECTRAL.

M. Idoipe, E. García-Martín, I. Fuertes Lázaro, L. Gil, I. Pinilla.

LOS DILEMAS MORALES EN EL DAÑO CEREBRAL.

M.P. Jiménez-Cortés, C. Pelegrín Valero, J. Olivera Pueyo.

DISMINUCIÓN DE LA CAPACIDAD EMPÁTICA TRAS UN TRAUMATISMO CRANEOENCEFÁLICO GRAVE.

M.P. Jiménez-Cortés, C. Pelegrín Valero, J. Olivera Pueyo.

EFFECTO PROTECTOR DE LA MELATONINA FRENTE A LA TOXICIDAD DE LA MITOMICINA C.

M. López-Vicente, S. Ortega-Gutiérrez, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón, M.A. Sáenz, I. Cebrián, C. Berzosa, J.J. García.

INMUNO PREEMBEDING GOLD ANTI C-KIT EN DUODENO DE RATA.

M.J. Luesma, I. Cantarero, C. Martínez-Ciriano, T. Castiella, S. Ramón y Cajal, J.M. Álvarez-Dotu, C. Junquera.

CARACTERIZACIÓN DE UNA POSIBLE NUEVA MUTACIÓN PATOLÓGICA EN EL GEN MITOCONDRIAL ND1 ASOCIADA A NEUROPATÍA ÓPTICA HEREDITARIA DE LEBER.

I. Martínez-Romero, M.D. Herrero-Martín, E. López-Gallardo, B. Narberhaus, E. Ruiz-Pesini, J. Montoya.

REDES NEURONALES EN NANOTUBOS DE CARBONO: FUNCIONALIZACIONES ESPECÍFICAS PARA PROCESOS NEUROTROFICOS, NEURODEGENERATIVOS Y DE PLASTICIDAD SINÁPTICA.

R.N. Pérez-Bruzón, M.J. Azanza, A. Ansón, M. González, R. del Moral, P. Marijuán, M.T. Martínez.

CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS PRECURSORAS DE EPITELIO PIGMENTARIO RETINIANO HUMANO.

I. Pinilla, N. Cuenca, E. García-Martín, L. Fernández-Sánchez, M. Idoipe, L. Wright, D. Gamm.

COMPARACIÓN DE LOS ESPESORES DE LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA PERIPAPILAR CON TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA DE DOMINIO FOURIER Y DE DOMINIO TIEMPO.

I. Pinilla, E. García-Martín, M. Idoipe, I. Fuertes, L. Gil.

VALOR DE LA TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA EN EL ESTUDIO DEL NERVIÓ ÓPTICO DE PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

E. Ruiz de Gopegui Bayo, F.J. Ascaso Puyuelo, C. Iñiguez Martínez.

**14:15-15:30 h. Comida**

**15:30-15:50 h. Conferencia**

Prof. Dr. Santiago Ramón y Cajal Junquera. Universidad de Zaragoza. "Santiago Ramón y Cajal, 75 años más tarde".

**16:00-17:15 SESIÓN III:**

**PATOLOGÍAS ASOCIADAS AL SISTEMA NERVIOSO**

**Moderador:** Dr. N. Fayed

PEROXIDACIÓN LIPÍDICA EN PACIENTES AFECTOS DE TUMORES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

M.J. Zubero, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón, E.M. Gómez-Trullén, M. Aranda, M. Sebastián, E. Piedrafita, J.J. García.

CORRELACIÓN CLINICOMORFOLÓGICA DE DISTINTAS FORMAS DE DEMENCIA ASOCIADA A ENFERMEDAD DE NEURONA MOTORA.

P. Larrodé, S. Ramón y Cajal, L.F. Pascual, C. Iñiguez, T. Castiella, A.C. Calvo, R. Osta.

ESTUDIO DE LA DEGENERACIÓN AXONAL A NIVEL DE LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

E. García-Martín, V. Pueyo, I. Pinilla, M. Idoipe, C. Almárcegui, I Dolz, J.R. Ara, J. Fernández.

COMPARACIÓN DE MEDICIONES DE ESPESORES MACULARES Y DE CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA (RNFL) EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 CON OCT DE DOMINIO TIEMPO (STRATUS OCT) Y ESPECTRAL (CIRRUS OCT)

L. Gil-Arribas, M. Idoipe, I. Fuertes, E. García-Martín, I. Pinilla.

COMPLEJIDAD ESTADÍSTICA Y COMPORTAMIENTO COLECTIVO NO-TRIVIAL EN SEÑALES ELECTROENCEFALOGRÁFICAS

M. Escalona-Morán, M.G. Cosenza, P. García, R. López-Ruiz.

**17:15-17:45 h Pausa Café y Sesión de Posters 2**

**17:45- 20:00 SESIÓN IV: APLICACIONES CLÍNICAS. NEUROCIENCIA APLICADA AL COMPORTAMIENTO Y LA CONDUCTA**

**Moderador:** Dr. P.C. Marijuán

ANÁLISIS DE CORRELACIÓN Y VALIDEZ PREDICTIVA DE LOS CONSTRUCTOS RELACIONADOS CON EL DOLOR EN FIBROMIALGIA.

J. García-Campayo, B. Rodero, R. Magallón, Y. López del Hoyo, B. Olivan, S. Moreno, J. Magdalena, A. Escudero.

MECANISMOS DE LA SEÑAL DOLOROSA Y ALGUNOS DESÓRDENES EN FIBROMIALGIA.

C. Maestu.

CORDANCIA ELECTROENCEFÁLICA: APLICACIÓN AL DIAGNÓSTICO EN FIBROMIALGIA.

J. Navarro, R. del Moral, P.C. Marijuán.

DISEÑO METODOLÓGICO DEL PROYECTO ZARADEMP.

J.F. Roy, R. López-Antón, J. Santabábara, G. Marcos, P. Saz, A. Lobo.

RIESGO DE DEPRESIÓN INCIDENTE Y ACV EN EL ESTUDIO ZARADEMP.

J. Santabárbara, R. López-Antón, J.F. Roy, P. Gracia-García, G. Marcos, A. Lobo

INCIDENCIA DE DEMENCIA EN EL ESTUDIO ZARADEMP.

R. López-Antón, J. Santabárbara, J.F. Roy, G. Marcos, A. Lobo

MEMANTINA VERSUS DONEPEZILLO EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER LEVE O MODERADA. ESTUDIO RANDOMIZADO CON ESPECTROSCOPÍA POR RESONANCIA MAGNÉTICA

N. Fayed, P. Modrego, J. Errea, C. Ríos, M.A. Pina, M. Sarasa.

FUNDAMENTOS Y UTILIDAD DE LA TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA.

I. Pinilla, E. García-Martín, I. Fuertes, M. Idoipe, L. Gil.

PROTESIS SUB-RETINIANAS DE FOTO-RECEPTORES CERÁMICOS MONTADOS SOBRE POLÍMEROS DE PLGA. PARADIGMA DE INVESTIGACIÓN INTERDISCIPLINAR.

J.M. Lou-Bonafonte, S. Bonafonte-Royo, C. García.

¿SE PUEDE MOVER EL NERVIOS DE FORMA ESPECÍFICA?

E. Bueno García, E. Estébanez de Miguel, M.O. Lucha López, P. Fanlo Mazas, C. Hidalgo García, S. Caudevilla Polo, J.M. Tricás Moreno.

#### **20:15-20:30 h Clausura**

#### **Posters presentados en la Sesión de tarde:**

COMPLEJIDAD DE PACIENTES MÉDICO-QUIRÚRGICOS HOSPITALIZADOS: DEPRESIÓN, PARÁMETROS BIOLÓGICOS Y ENFERMEDAD FÍSICA.

M.F. Barcones, J. Santabárbara, A. Campayo, A Lobo y Grupo GZEMPP.

HIPOCONDRIASIS Y SÍNTOMAS DEPRESIVOS EN MEDICINA INTERNA: ESTUDIO FA-MIDEP.

M. Buil-Labat, C.B. Torrubia, P. Gracia-García, I. Álvarez-Silva, I. Irigoyen, J. Santabárbara, A. García-Barrecheguren, C. Fanlo-Meroño, A. Campayo.

ESTUDIO FA-MIDEP: ILLNES BEHAVIOR QUESTIONNAIRE, ESTUDIO DE LA FIABILIDAD INTEREXAMINADORES EN NUESTRO MEDIO.

M. Buil-Labat, C.B. Torrubia, G. Marcos, P. Gracia-García, I. Álvarez-Silva, M. Corbera, M. Sánchez, J. Santabárbara, A. Campayo.

AMNESIA SEMÁNTICA EN TCE.

P. Jaime Fregenal, M. Guallart Balet, P. Gracia-García.

DETECCIÓN DE LA ATROFIA DE LAS CAPAS DE LA RETINA EN PACIENTES CON RETINOSIS PIGMENTARIA MEDIANTE TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA DE DOMINIO ESPECTRAL.

E. García-Martín, I. Pinilla, M. Idoipe, I. Fuertes, L. Gil, E. Abecia.

REPRODUCIBILIDAD INTRA E INTEROPERADOR PARA LA MEDICIÓN DEL ESPESOR DE LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA CON TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA DE DOMINIO FOURIER.

E. García-Martín, I. Pinilla, M. Idoipe, L. Gil, I. Fuertes, V. Pueyo.

ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO DE UN PROGRAMA DE REFORZAMIENTO PARA MUSCULATURA INTRÍNSECA CERVICAL EN SUJETOS ASINTOMÁTICOS.

O. García Santesteban, S. Pérez Guillén, M.O. Lucha López, M. Malo Urriés, H. Aguilar Cabrera, A. Ruiz de Escudero Zapico, A. Rubio Peiroten, J.M. Tricás Moreno.

COMPARACIÓN DE MEDICIÓN DE ESPESOR MACULAR EN PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 CON SPECTRALIS OCT Y STRATUS OCT.

L. Gil-Arribas, E. García-Martín, M. Idoipe, I. Fuertes, I. Pinilla.

ESTUDIO DE FIABILIDAD INTRA E INTEREXAMINADOR MEDIANTE DINAMOMETRÍA Y ECOGRAFÍA PARA LA DETECCIÓN DE LOS GRADOS DE TRACCIÓN CAUDAL DE LA ARTICULACIÓN COXOFEMORAL EN SUJETOS SANOS Y EN SUJETOS CON COXARTROSIS.

C. Hidalgo García, E. Estebanez de Miguel, M.O. Lucha López, S. Caudevilla Polo, E. Bueno Gracia, S. Pérez Guillén, O. García Santesteban, J.M. Tricás Moreno.

DIFERENCIAS EN LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA PERIPAPILAR MEDIDA MEDIANTE TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA (OCT) DE DOMINIO TIEMPO Y DE DOMINIO ESPECTRAL EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO I SIN RETINOPATÍA.

M. Idoipe, E. García-Martín, I. Pinilla, J. Acha, I. Fuertes Lázaro, L. Gil.

LA ENFERMEDAD DE MENIERE. ¿EXISTE UNA IMPLICACIÓN MITOCONDRIAL?

D. Pacheu-Grau, A. Gómez-Durán, L. Pérez-Delgado, C. Gómez-Díez, M.L. Pérez Pérez, A. Anguas Gracia, J. Montoya, E. Ruíz-Pesini.

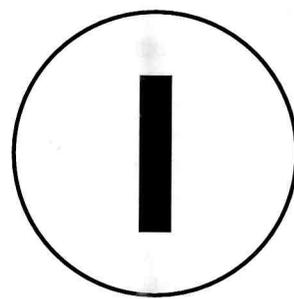
REPRODUCIBILIDAD DE LAS MEDICIONES DEL ESPESOR DE CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA CON TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA DE DOMINIO FOURIER Y DE DOMINIO TIEMPO.

I. Pinilla, E. García-Martín, M. Idoipe, L. Gil, I. Fuertes.

# SESIÓN

## • BASES FÍSICAS Y MOLECULARES •

MODERADORA: Dra. D. Murillo



### CONFERENCIA INVITADA

**Modelos de dinámica neuronal espontánea y bajo campos magnéticos alternos de frecuencia extremadamente baja (ELF)**”.

*Prof. Dr. Agustín del Moral Gámiz. Universidad de Zaragoza.*

### PONENCIAS

**Estudio de la transmisión neuromuscular inhibitoria intestinal mediante registro del potencial de membrana con microelectrodos intracelulares.**

*L. Grasa, D. Murillo, D. Gallego, M. Jiménez.*

**Efecto protector de 5-metoxi-indolaminas pineales en la oxidación de sinaptosomas mediada por radicales libres.**

*S. Millán-Plano, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón, F.J. Miana-Mena, L. Fuentes-Broto, E. Piedrafita, J.J. García.*

**Inhibición de la recaptación de serotonina en procesos inflamatorios.**

*N. Matheus, C. Menzona, R. Iceta, E. Latorre, J.E. Mesonero, A.I. Alcalde.*

**Estudio de la repercusión del estrés oxidativo sobre la fluidez de membrana en un modelo animal de la esclerosis lateral amiotrófica.**

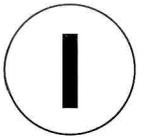
*F.J. Miana-Mena, E. Piedrafita, C. González-Mingot, P. Larrodé, E. Martínez-Ballarín, S. Oliván, L. Fuentes-Broto, M.J. Muñoz, R. Osta, J.J. García.*

**Papel del eje corticotropo en la agresividad canina.**

*B. Rosado, S. García-Belenguer, M. León-Artozqui, G. Chacón, A. Villegas, J. Palacio.*

**Paradojas en el diseño del ojo ¿Creación, evolución, adaptación?**

*R. Navarro Belsué.*



## Estudio de la transmisión neuromuscular inhibitoria intestinal mediante registro del potencial de membrana con microelectrodos intracelulares

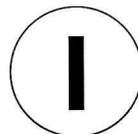
Laura Grasa<sup>1</sup>, Divina Murillo<sup>1</sup>, Diana Gallego<sup>2</sup>, Marcel Jiménez<sup>2</sup>

1. Departamento de Farmacología y Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

2. Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Facultad de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona.

La motilidad intestinal es el proceso fisiológico a través del cual el alimento es transportado a lo largo del intestino para facilitar su absorción. Alteraciones de la motilidad intestinal son la diarrea o estreñimiento, patologías muy frecuentes en la clínica, por lo que el estudio de los mecanismos implicados en este proceso puede ayudar a su tratamiento. Las capas musculares longitudinal y circular del intestino, así como el plexo neuronal mientérico, son las estructuras histológicas responsables de la contracción intestinal que se produce en la motilidad intestinal. La contracción o relajación de las capas musculares está regulada por neurotransmisores liberados por las neuronas mientéricas excitatorias o inhibitorias. La relajación o contracción muscular se produce cuando la célula se hiperpolariza o despolariza, es decir, cuando su potencial de membrana se hace más negativo o positivo, respectivamente. El registro del potencial de membrana mediante microelectrodos celulares permite estudiar las hiperpolarizaciones y despolarizaciones que se producen cuando los neurotransmisores inhibitorios o excitatorios son liberados por las neuronas del plexo mientérico. Ejemplos de neurotransmisores inhibitorios son el NO y el ATP. El nitroprusiato sódico, un donador de NO, y el ADP's, un análogo más estable del ATP, producen hiperpolarización de las células musculares circulares del colon de rata. La estimulación eléctrica de las células musculares produce unos potenciales postsinápticos inhibitorios (inhibitory junction potential: IJP) debido a la liberación de neurotransmisores inhibitorios. Mediante el uso de antagonistas del ATP y NO podemos estudiar la participación de estos neurotransmisores en los IJPs. Como conclusión podemos decir que la técnica de registro del potencial de membrana con microelectrodos intracelulares nos permite estudiar los neurotransmisores implicados en la contracción y relajación muscular. El conocimiento de estos mecanismos implicados en la motilidad intestinal puede ayudar a solucionar patologías intestinales.

zaciones que se producen cuando los neurotransmisores inhibitorios o excitatorios son liberados por las neuronas del plexo mientérico. Ejemplos de neurotransmisores inhibitorios son el NO y el ATP. El nitroprusiato sódico, un donador de NO, y el ADP's, un análogo más estable del ATP, producen hiperpolarización de las células musculares circulares del colon de rata. La estimulación eléctrica de las células musculares produce unos potenciales postsinápticos inhibitorios (inhibitory junction potential: IJP) debido a la liberación de neurotransmisores inhibitorios. Mediante el uso de antagonistas del ATP y NO podemos estudiar la participación de estos neurotransmisores en los IJPs. Como conclusión podemos decir que la técnica de registro del potencial de membrana con microelectrodos intracelulares nos permite estudiar los neurotransmisores implicados en la contracción y relajación muscular. El conocimiento de estos mecanismos implicados en la motilidad intestinal puede ayudar a solucionar patologías intestinales.



## P O N E N C I A S

## Efecto protector de 5-metoxi-indolaminas pineales en la oxidación de sinaptosomas mediada por radicales libres

**S. Millán-Plano, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón,  
F.J. Miana-Mena, L. Fuentes-Broto, E. Piedrafita, J.J. García.**

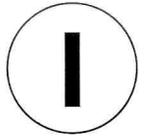
Fisiología del Envejecimiento y del Estrés Oxidativo (B40). Universidad de Zaragoza.

En las dos últimas décadas, numerosas investigaciones han demostrado la actividad antioxidante de la melatonina (aMT) o N-acetil-5-metoxi-triptamina en modelos de estrés oxidativo tanto in vivo como in vitro. En este estudio, valoramos la capacidad antioxidante de otras tres indolaminas pineales que poseen un resto metoxi: 5-metoxi-triptamina (MT), 5-metoxi-triptofol (MF) y ácido 5-metoxi-indolacético (MIA) comparándolas a aMT en un modelo de oxidación de lípidos y proteínas inducida por un sistema Fenton en sinaptosomas de rata.

Los sinaptosomas se obtuvieron de ratas Sprague-Dawley de  $200 \pm 25$ g por centrifugación diferencial. Las membranas, 0.5 mg de proteína sinaptosómica, fueron suspendidas en 1 mL de tris buffer (50 mM pH=7.4) e incubadas durante 30 min a 37°C en ausencia o presencia de aMT (0.1 mM-3 mM), MT (0.01 mM-5 mM), MF o MIA (0.001 mM-5 mM), y de FeCl<sub>3</sub> (0.1 mM) y ascórbico (0.1 mM) como sistema inductor de oxidación. Las concentraciones de malonildialdehído (MDA) y 4-

hidroxi-alquenales (4-HDA) y la aparición de restos carbonilo fueron determinadas mediante espectrofotometría, considerándose como índices de oxidación de lípidos y proteínas de los sinaptosomas respectivamente.

Tras la exposición a FeCl<sub>3</sub> y ascórbico, MDA+4-HDA y la carbonilación proteica aumentaron significativamente. La presencia de todas las indolaminas excepto MIA evitaron el daño oxidativo en los sinaptosomas de forma dosis dependiente. Las concentraciones de aMT, MT y MF necesarias para inhibir el 50% de la peroxidación lipídica en los sinaptosomas (IC<sub>50</sub>) fueron 1.7, 0.3 y 1.7 mM respectivamente, y para prevenir la carbonilación, 1.4, 3.4 y 0.8 mM. Estos datos demuestran que bajo estas condiciones experimentales además de aMT, tanto MT como MF son dos indolaminas pineales que pueden contribuir significativamente a la función antioxidante de la glándula pineal.



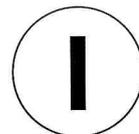
## Inhibición de la recaptación de serotonina en procesos inflamatorios

**N. Matheus, C. Mendoza, R. Iceta, E. Latorre, J.E. Mesonero y Al. Alcalde.**

Dpto. Farmacología y Fisiología. Fisiología. Facultad de Veterinaria.  
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza.

La serotonina (5-HT) es un neuromodulador implicado en la regulación de multitud de funciones del organismo, y cuya actividad se encuentra alterada en trastornos crónicos del sistema nervioso central y del tracto gastrointestinal. Los efectos de la serotonina dependen de su disponibilidad, en parte regulada por el transportador de serotonina (SERT), que transporta serotonina al interior celular. Aunque es bien conocido que en diversas patologías inflamatorias se encuentra alterado el sistema serotoninérgico, se desconoce la afectación de SERT debida a los mediadores de la inflamación. Por ello en el presente trabajo se ha estudiado el efecto de dos factores implicados en la inflamación, la adenosina y el lipopolisacárido bacteriano (LPS) sobre SERT, y los mecanismos de acción implicados. Para ello se han utilizado las células Caco-2 como modelo de expresión de SERT. Los resultados muestran que tanto el LPS como la adenosina disminuyen la actividad de SERT, de manera dependiente de la dosis y del periodo de tra-

tamiento. Ambas sustancias no modifican los niveles totales de ARNm ni de la proteína SERT. Sin embargo, el tratamiento con LPS reduce la proteína SERT en la membrana apical, a diferencia de la adenosina; posiblemente debido a un mecanismo post-traducciona que puede involucrar el tráfico intracelular de esta proteína. La disminución de la actividad de SERT causada por el LPS parece estar mediada por la activación de la vía intracelular de la PKC, tras su unión al receptor TLR-4. Mientras que la adenosina parece que actúa por la vía intracelular del AMPc/PKA una vez que este nucleósido se acopla a sus receptores A<sub>2</sub>. Estos resultados confirman que los diferentes procesos y mediadores liberados en las alteraciones inflamatorias crónicas pueden provocar inhibición de SERT; utilizando diferentes vías de señalización intracelular, resultando un aumento de la disponibilidad de este neuromodulador en el medio extracelular.



## Estudio de la repercusión del estrés oxidativo sobre la fluidez de membrana en un modelo animal de la esclerosis lateral amiotrófica

F.J. Miana-Mena<sup>1</sup>, E. Piedrafita<sup>1</sup>, C. González-Mingot<sup>1,2</sup>, P. Larrodé<sup>2</sup>, E. Martínez-Ballarín<sup>1</sup>, S. Oliván<sup>3</sup>, L. Fuentes-Broto<sup>1</sup>, M.J. Muñoz<sup>1,3</sup>, R. Osta<sup>3</sup>, J.J. García<sup>3</sup>

1. Departamento de Farmacología y Fisiología. Grupo de Fisiología del Envejecimiento y del Estrés Oxidativo (B40). Universidad de Zaragoza.
2. Servicio de Neurología, Hospital Lozano Blesa, Zaragoza.
3. LAGENBIO-I3A. Departamento de Embriología y Genética Animal. Facultad de Veterinaria. IC+S-Universidad de Zaragoza.

La mayor parte de los pacientes que sufren la forma familiar de la esclerosis lateral amiotrófica (FALS) presentan diferentes mutaciones en la enzima Cu,Zn-Superóxido Dismutasa (SOD1). En estos casos no sólo disminuye su actividad antioxidante sino que además aumenta la formación de radicales libres en la célula.

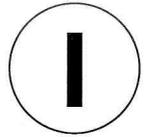
En este estudio, hemos analizado el daño oxidativo a nivel funcional de la membrana celular procedente de médula espinal y cerebro de los ratones SODG93A, que sobreexpresan la SOD1 mutada y que sirven de modelo animal de la FALS.

Se utilizaron 50 ratones SOD<sup>G93A</sup> distribuidos en cuatro grupos según edad y genotipo: Dos grupos control constituidos por animales sanos de 70 y 100 días de edad; otros dos grupos con animales portadores de la SOD1 mutada, con una edad de 70 días (fase asintomática) y 100 días (aparición de los primeros síntomas motores). Para determinar el índice de daño funcional sufrido por las membranas celulares de estos órganos,

se determinó su fluidez por espectroscopía de fluorescencia utilizando TMA-DPH como marcador. Existe un nivel de fluidez óptimo para cada función y su alteración puede modificar dichas funciones, originando una patología.

Las membranas procedentes de la médula espinal de los animales enfermos de 100 días mostraban una rigidez significativamente superior a aquella de los animales sanos de la misma edad. Sin embargo, la fluidez de membrana fue similar en los animales de 70 días, ya fueran portadores de la mutación o no. Por otra parte, en el cerebro no se detectó afección a ninguna edad.

Nuestros resultados sugieren que el aumento de producción de radicales libres por parte de la SOD1 mutada en los ratones SODG93A, conlleva un daño funcional a nivel de médula espinal que podría estar estrechamente relacionado con la patogenia de la FALS.



## Papel del eje corticotropo en la agresividad canina

Rosado, B.<sup>1</sup>, García-Belenguer, S.<sup>1</sup>, León-Artozqui, M.<sup>2</sup>, Chacón, G.<sup>1</sup>, Villegas, A.<sup>1</sup>, Palacio, J.<sup>1</sup>

1. Dpto. Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

2. Merial Laboratorios, SA, Barcelona.

La agresividad canina dirigida hacia personas constituye el principal problema de comportamiento atendido en los servicios de etología clínica y representa un importante problema de salud pública derivado de los incidentes por mordedura. Muchos especialistas en compartimiento subrayan el hecho de que una alta proporción de perros agresivos muestran señales de estrés durante los episodios de agresividad y problemas comórbidos relacionados con la ansiedad. En la especie humana se han relacionado altos niveles de cortisol con formas afectivas de agresividad.

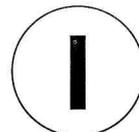
El objetivo del presente estudio fue el de valorar el papel del eje corticotropo (hipotálamo-hipófisis-adrenal) en la agresividad canina dirigida hacia personas. Con este fin, se llevó a cabo la determinación de las concentraciones plasmáticas de cortisol y dehidroepiandrosterona (DHEA), un esteroide neuroactivo con propiedades antiglucocorticoides, en perros agresivos y no agresivos. Así mismo, se investigó el papel del sexo en tales concentraciones.

Se consideraron 82 perros agresivos (52 machos y 28 hembras) y 19 controles (8 machos y 11 hembras). El cortisol y la

DHEA plasmáticos se determinaron por duplicado con dos técnicas de enzimoimmunoensayo. Se llevó a cabo un análisis multifactorial multivariable de varianza para valorar el efecto de los factores "agresividad" y "sexo" en los valores de cortisol y DHEA, y en el ratio DHEA/cortisol.

Los perros agresivos mostraron concentraciones de cortisol significativamente superiores que el grupo control (21.4 vs. 10.6 ng/ml,  $p \leq 0.05$ ). Los machos, independientemente del grupo, mostraron concentraciones significativamente superiores de DHEA y valores de ratio DHEA/cortisol más altos que las hembras. (DHEA: 90.9 vs. 29.8 ng/ml,  $p < 0.05$ ; ratio: 9.5 vs. 3.8,  $p < 0.01$ ).

La mayor concentración de cortisol en los perros agresivos podría sugerir una relación entre la agresividad y el estrés en esta especie. El dimorfismo sexual en las concentraciones de DHEA y en los valores de ratio DHEA/cortisol podría sugerir la existencia de una diferencia entre machos y hembras a la hora de contrarrestar los efectos centrales, negativos del estrés.



## Paradojas en el diseño del ojo ¿Creación, evolución, adaptación?

**Rafael Navarro Belsué**

ICMA, Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Universidad de Zaragoza.

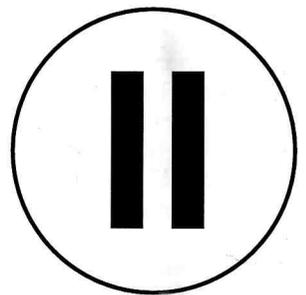
Uno de los argumentos de la teoría creacionista es que algo tan perfecto como el ojo humano no puede ser resultado del azar. En el año de Darwin, se ha analizado el diseño óptico del ojo y comparado con la estructura y función de la retina y la corteza visual primaria. La óptica del ojo es imperfecta (presencia de aberraciones ópticas) y su diseño es paradójico con evidente desacuerdo entre la calidad óptica y la respuesta neuronal, que aumenta hacia la periferia del campo visual. Sin embargo la óptica ocular es del tipo gran angular y todos los principios de diseño parecen dirigidos a conseguir una gran homogeneidad de campo. Esto parece incompatible con la existencia de la fovea, área muy reducida donde se concentra la mayor parte de conos (fotorreceptores), y que lleva asociada una enorme inhomogeneidad retiniana y del "cortical mapping" del campo visual. Desde un planteamiento evolutivo, el

diseño óptico del ojo sería anterior a la aparición de la fovea. La visión foveatizada supone la migración de conos hacia el centro de la retina (fovea), la aparición de la visión de detalles y reconocimiento de formas, y tuvo que conllevar un gran desarrollo del cortex visual, mientras que la óptica ocular se mantuvo básicamente igual. Como resultado, los diseños óptico y neuronal resultan armónicos sólo en el centro de la fovea. Por otra parte la calidad visual es sustancialmente menor que lo que podría llegar a ser con una óptica mejor, pero cualquier mejora requeriría aumentar el número de conos y neuronas en V1 en la misma proporción. A pesar de que la calidad óptica del ojo no es especialmente buena, cualquier modificación realizada mediante cirugía refractiva o de cataratas la empeora, por lo que la "ingeniería" asociada (creación o evolución) va delante de la tecnología actual.

# SESIÓN

## • ESTRUCTURA Y FUNCIÓN •

MODERADORA: Dra. A. I. Alcalde



### CONFERENCIA INVITADA

**El pool de beta-amiloide en sangre puede ser marcador biológico de las etapas iniciales de Alzheimer.** *Dr. Manuel Sarasa.* Director Científico de Araclón, Zaragoza.

### PONENCIAS

**Células madre satélite musculares en el modelo de ELA murino hSOD-1G93A.**

R. Manzano, F. Fernandes, A.C. Calvo, S. Oliván, D. Montarras,  
M. Buckingham, L. Ordovás, M.J. Muñoz, P. Zaragoza, C. Rodellar, R. Osta

**Características ultraestructurales de células precursoras neuronales en intestino de rata.**

M.J. Luesma Bartolomé, I. Cantarero Carmona, C. Martínez Cirano,  
T. Castiella, J.M. Álvarez Dotu, S. Ramón y Cajal, C. Junquera Escribano.

**Papel de la ciclooxigenasa (COX) en las alteraciones motoras gastrointestinales y la fiebre inducidas por el lipopolisacárido (LPS) en la oveja.**

M. Castro, A. Gimeno, E. Guerrero-Lindner, S. Gonzalo,  
M.P. Arruebo, M.D. Murillo, C. Arnal, J.I. Bonafonte, M.A. Plaza.

**Degeneración de células ganglionares fotosensibles en retinas humanas con la edad y en modelos de retinosis pigmentaria.**

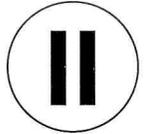
G. Esquiva, I. González-Menéndez, L. Fernández-Sánchez,  
E. García Martín, I. Pinilla, J.M. García-Fernández, N. Cuenca.

**El TUDCA (ácido Tauroursodesoxicólico) previene la pérdida de astrocitos en la rata transgénica modelo de retinosis pigmentaria (P23H).**

L. Fernández-Sánchez, G. Esquiva, I. Pinilla, N. Cuenca.

**Organización funcional versus Organización dinámica en el cerebro del gato.**

J. Gómez Gardeñes, G. Zamora López, Y. Moreno, A. Arenas.



## Células madre satélite musculares en el modelo de ELA murino hSOD-1G93A

**Manzano R., Fernandes F., Calvo A.C., Oliván S., Montarras D., Buckingham M., Ordovás L., Muñoz, M.J., Zaragoza P., Rodellar C., Osta, R.**

Facultad de Veterinaria, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Universidad de Zaragoza.

Las células madre satélite musculares son las principales células implicadas en la respuesta regenerativa tras el daño muscular. Aunque la ELA se ha descrito como una enfermedad relacionada principalmente con la degeneración de las motoneuronas superiores e inferiores, los primeros sucesos descritos en ella están relacionados con la perturbación de las uniones neuromusculares, sugiriendo que una alteración del músculo podría producir señales tóxicas que destruirían dichas uniones causando una axonopatía retrógrada. Si este es el caso, es interesante el estudio del estatus de las células madre satélite musculares y su respuesta regenerativa a lo largo de la enfermedad.

El objetivo de este estudio fue analizar el número y estado de activación de las células madre satélite musculares en el modelo murino de ELA hSOD1-G93A en el curso de la enfermedad.

Se aislaron fibras musculares esqueléticas de los músculos Extensor Digital largo y Sóleo de animales hSOD1G93A y sus

controles Wildtype de 40, 60, 90 y 120 días de edad. Se llevó a cabo el marcaje inmunohistoquímico de estas fibras con anticuerpos para Pax7 y MyoD1, marcadores de las mencionadas células satélites y por último se realizó el marcaje nuclear con Hoescht 33342. El número de células satélite fue determinado como la suma de las células Pax7 y MyoD1 positivas y las que coexpresaban ambos marcadores.

Se observó un menor número de células satélite Pax7 positivas por fibra en los animales hSOD1G93A comparados con sus controles Wildtype a la edad de 40 días. Este número fluctúa a lo largo de los siguientes estadios de la enfermedad hasta los 120 días cuando no se observan diferencias entre los animales transgénicos y sus grupos control. El estado de activación de las células satélite (determinado como número de células MyoD1 positivas) fue mayor en animales enfermos de todas las edades. Estos resultados sugieren que el número de células satélite y su estado de activación está alterado en respuesta a la enfermedad incluso en fases previas a la denervación muscular en el modelo murino de ELA hSOD1 G93A.



## Características ultraestructurales de células precursoras neurales en intestino de rata

Luesma Bartolomé MJ.<sup>1</sup>, Cantarero Carmona I.<sup>1</sup>, Martínez Ciriano C.<sup>1</sup>, Castiella T.<sup>2</sup>, Alvarez Dotu JM.<sup>1</sup>, Ramón y Cajal S.<sup>2</sup>, Junquera Escribano C.<sup>1</sup>

1. Dpto. de Anatomía e Histología Humanas. Facultad de Medicina.

Universidad de Zaragoza e Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. 50009. España.

2. Dpto. de Anatomía Patológica. Hospital Clínico "Lozano Blesa" e Instituto de Ciencias de la Salud. 50009. Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN.

Recientes estudios defienden la existencia de células progenitoras neurales en el intestino de mamíferos, capaces de diferenciarse a neuronas como hacia células gliales (1). Estas células progenitoras son capaces de generar neuroesferas "in vitro" (2) y expresan marcadores específicos como la nestina. Algunos autores han descrito la presencia de un cilio como característica de los precursores en el Sistema Nervioso Central (3). Nuestro objetivo es el estudio de estas células progenitoras, mediante microscopía electrónica, en su nicho biológico natural.

### MATERIAL Y MÉTODOS.

Las muestras objeto de nuestro estudio fueron intestinos de 4 ratas de raza Long Evans de 3 meses de edad, procesadas para microscopía electrónica de forma convencional.

### RESULTADOS.

Se describen dos tipos de células no neurales en el compartimento tisular correspondiente a la localización de las células nestina positivas. Las células Tipo I presentan una morfología estrellada, con un núcleo muy voluminoso rodeado de un escaso citoplasma que se expande en largas prolongaciones que rodean los contornos de los ganglios. Este tipo se corresponde con las Células Intersticiales de Cajal. Las células Tipo II

son similares a las Tipo I pero éstas exhiben un núcleo más grande y redondeado, citoplasma con escaso contenido en organelas, mostrando poco retículo endoplásmico rugoso y abundantes polirribosomas libres. Estas células presentan un cilio único con un patrón 9-0 que emerge de un cuerpo basal típico proyectándose hacia el espacio extracelular.

### CONCLUSIONES.

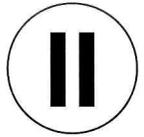
La apariencia en conjunto del Tipo II sugiere una célula Tipo I menos diferenciada, lo que indicaría la existencia de diferentes estadios funcionales de un único tipo celular. La aparición del cilio podría ser una característica que marque el inicio de diferenciación de las células precursoras.

### BIBLIOGRAFÍA.

1-Bondurand N, Natarajan D, Thapar N, et al. Neuron and glia generating progenitors of the mammalian enteric nervous system isolated from foetal and postnatal gut cultures. *Development* 2003; 130:6387-6400.

2-Silva At, Wardhaugh T, Dolatshad NF, Jones S, Saffrey MJ. 2008: Neural progenitors from isolates postnatal rat myenteric ganglia: expansion as neurospheres and differentiation in vitro. *Brain Res.* 1218: 47-53.

3-Han Y, Spassky N, Romaguera-Ros, García-Verdugo JM et al. Hedgehog signalling and primary cilia are required for the formation of adult neural stem cells. *Nature Neurosci.* 11:277-284.



## Papel de la ciclooxigenasa (COX) en las alteraciones motoras gastrointestinales y la fiebre inducidas por el lipopolisacárido (LPS) en la oveja

Castro M<sup>1</sup>, Gimeno A<sup>1</sup>, Guerrero-Lindner E<sup>1</sup>, Gonzalo S<sup>1</sup>,  
Arruebo MP<sup>1</sup>, Murillo MD<sup>1</sup>, Arnal C<sup>2</sup>, Bonafonte JI<sup>2</sup>, Plaza MA<sup>1</sup>

1. Dpto. de Farmacología y Fisiología.
2. Dpto. de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

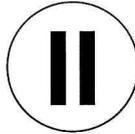
La COX, enzima clave en la síntesis de prostaglandinas (PGs), presenta dos isoformas: la constitutiva (COX-1), que se expresa en condiciones normales y la inducible (COX-2), cuya expresión aumenta en procesos infecciosos e inflamatorios. El objetivo de este estudio fue investigar la participación de las COX en los trastornos motores digestivos inducidos por el LPS en la oveja.

La actividad motora gastrointestinal (GI) se registró en ovejas conscientes mediante electrodos implantados de forma crónica en la pared digestiva. La localización y la cuantificación de las isoformas COX-1 y COX-2 en el tracto GI e hipotálamo se realizó mediante estudios de inmunohistoquímica y Western blotting.

La administración intravenosa (iv) de LPS (0.1 µg/kg) disminuyó la motilidad GI, aumentó la frecuencia del complejo motor migratorio (MMC) e incrementó la temperatura corporal 1-2 °C durante 5-6 horas. Todos estos efectos eran bloqueados por la administración intracerebroventricular (icv) de los inhibidores de la COX indometacina (inespecífico) y nimesulida (específico para la COX-2), así como por la inyección iv de nimesulida. La administración icv de PGE2 reproducía todos los efectos del LPS, mientras que la inyección iv sólo disminuía la motilidad GI y además necesitaba dosis más altas.

En animales control hemos observado la presencia de COX-1 en células epiteliales de rumen, antro e intestino. En los enterocitos se localizó en la zona de las cisternas del cis-Golgi. Ambas COX también se encontraban en células endoteliales, células de morfología endocrina y en células dispersas tanto en la lámina propia como en la capa muscular circular. Además, las células de la capa muscular circular del intestino eran positivas a COX-2. En el hipotálamo, ambas COX se expresaron en el endotelio y en algunas neuronas. La COX-1 también se observó en células dispersas en el parénquima hipotalámico. El Western blotting de tejidos control de rumen, antro, duodeno y yeyuno reveló la presencia de una banda de 70 kDa (COX-1) y otra de 72 kDa (COX-2), pero no se observaron en el hipotálamo. En animales tratados durante 1 h con LPS sólo se observaron cambios en el hipotálamo mediante inmunohistoquímica, con la aparición de células redondeadas positivas a COX-2 muy próximas a los vasos sanguíneos, que tras 4 h del LPS se encontraban más alejadas de los vasos y próximas a neuronas.

Nuestros resultados sugieren que los trastornos motores digestivos y la fiebre inducidos por el LPS en la oveja son debidos a las PGs sintetizadas por la COX-2 en el sistema nervioso central. Sin embargo existe la posibilidad de que las PGs también participen a nivel periférico.



## Degeneración de células ganglionares fotosensibles en retinas humanas con la edad y en modelos de retinosis pigmentaria

Gema Esquiva<sup>1</sup>, Irene González-Menendez<sup>2</sup>, Laura Fernández-Sánchez<sup>1</sup>, Elena García Martín<sup>3</sup>, Isabel Pinilla<sup>3</sup>, José Manuel García-Fernández<sup>2</sup>, Nicolás Cuenca<sup>1</sup>

1. Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante, Alicante.
2. Biología celular, Universidad de Oviedo. Asturias.
3. Servicio de Oftalmología, Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

### INTRODUCCION

En la retina de mamíferos, además de los conos y bastones, se han descubierto otro tipo de fotorreceptores que se corresponden con una población de células ganglionares. Estas células ganglionares expresan un fotorpigmento de melanopsina que llevará a cabo la regulación de los ciclos circadianos y el reflejo pupilar.

El objetivo de este estudio fue investigar la evolución temporal de las células ganglionares melanopsínicas en humano. Además, determinamos si las células ganglionares melanopsínicas se alteran durante la degeneración retiniana en la rata P23H y el ratón CH3, dos modelos de retinosis pigmentaria.

### MATERIALES Y METODOS

Para este estudio se utilizaron ratas homocigotas P23H de edades comprendidas entre 4 y 18 meses. Ratas Sprague-Dawley (SD) fueron utilizadas como controles. También se utilizaron ratones CH3 rd/rd de edades comprendidas entre 1 y 7 meses, así como sus controles +/+. Las retinas humanas utilizadas fueron de donantes de 10 y 53 años y embriones de 115 días. Las retinas enteras fueron teñidas mediante la técnica inmunohistoquímica del complejo Avidina-Biotina (ABC) e inmunofluorescencia. Las células melanopsínicas de cada retina fueron dibujadas usando una cámara lucida. La cuantifica-

ción y los análisis morfométricos fueron llevados a cabo usando el software NIH Image J.

### RESULTADOS

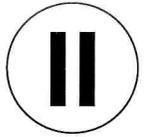
En la rata P23H se produce una disminución de células ganglionares melanopsínicas con la edad de casi el 80% a los 18 meses, mientras que en las ratas SD no se producen cambios significativos. En los ratones CH3 también se observó una disminución de células melanopsínicas de un 50% aproximadamente a los siete meses de edad.

En retina humana, la expresión de melanopsina fue encontrada en embriones de 4 meses de gestación, localizándose en los cuerpos celulares de células ganglionares. En retina adulta humana, se observó que la densidad de células melanopsínicas disminuye con la edad.

### CONCLUSIONES

El número de células melanopsínicas disminuye con la edad en retinas humanas. También se produce una drástica pérdida de estas células en los dos modelos de retinosis pigmentaria estudiados.

Financiado por: MEC (BFU2006-00957/BFI), (BFU2006-15576), FUNDALUCE, ONCE, Generalitat Valenciana ACOMP/2009/139, Fundación Mutua Madrileña, y MSyC RETICS RD07/0062/0012.



## El TUDCA (ácido Tauroursodesoxicólico) previene la pérdida de astrocitos en la rata transgénica modelo de retinosis pigmentaria (P23H)

Laura Fernández-Sánchez<sup>1</sup>, Gema Esquiva<sup>1</sup>, Isabel Pinilla<sup>2</sup>, Nicolás Cuenca<sup>1</sup>

1. Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante, Alicante.

2. Servicio de Oftalmología, Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

### INTRODUCCION

Se ha descrito que el TUDCA previene la degeneración de los fotorreceptores en la retina de la rata P23H. El objetivo de este estudio fue estudiar los cambios de las células gliales (astrocitos, células de Müller y microglia) en la retina de la rata P23H tras la administración del antiapoptótico TUDCA.

### METODOS

Para la realización de este estudio se utilizaron ratas homocigotas P23H de la línea 3. Los animales (desde 20 días hasta 4 meses) fueron inyectados semanalmente con TUDCA (500mg i.p.). Sobre secciones verticales de criostato se realizaron inmunotinciones simples con un marcador específico de células microgliales e inmunotinciones dobles para marcadores específicos de células de Müller y astrocitos. Sobre retinas enteras se realizó una tinción con lectinas para poner de manifiesto el plexo vascular retiniano y se utilizaron anticuerpos frente la GFAP para observar su relación con los astrocitos.

### RESULTADOS

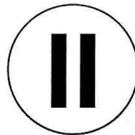
En la rata P23H, las células de Müller expresaron el marcador GFAP como respuesta a la degeneración de la retina. En la retina de la rata P23H se observó una activación de la micro-

glia, no existiendo diferencias en cuanto al número de estas células en las retinas de los animales tratados con TUDCA. El número de astrocitos fue mayor en las retinas de los animales tratados con TUDCA que en los no tratados, acompañado de una menor degeneración de los vasos retinianos. La morfología de los astrocitos en los animales tratados con TUDCA, fue similar a los animales control (Sprague-Dawley), mientras que en los animales no tratados, presentaban una morfología deteriorada en la que se observaban alteraciones en los pies chupadores de Cajal.

### CONCLUSIONES

El TUDCA es capaz de evitar la degeneración de los astrocitos que tiene lugar en la rata P23H, evitando, de este modo, el deterioro del plexo capilar retiniano que tiene lugar en este modelo animal. Nuestro trabajo sugiere que el TUDCA podría ser utilizado para evitar la degeneración vascular y de los astrocitos asociados, observada en este modelo de retinosis pigmentaria.

Financiado por: MEC (BFU2006-00957/BFI), FUNDALUCE, ONCE, Generalitat Valenciana ACOMP/2009/139, Fundación Mutua Madrileña, y MSyC RETICS RD07/0062/0012.



## Organización funcional *versus* Organización dinámica en el cerebro del gato

Jesús Gómez Gardeñes<sup>1</sup>, Gorka Zamora López<sup>2</sup>, Yamir Moreno<sup>3</sup>, Alex Arenas<sup>4</sup>.

1. BIFI, Universidad de Zaragoza - Universidad Rey Juan Carlos.
2. Nonlinear Dynamics Group, University of Potsdam, Potsdam.
3. BIFI, Universidad de Zaragoza.
4. BIFI, Universidad de Zaragoza - Universidad Rovira i Virgili.

El estudio de la organización global de grandes sistemas neuronales constituye el punto de partida para entender la relación estructura-función del cerebro. Una descripción aproximada de estos sistemas la obtenemos a través del mapa de conexiones entre áreas de la corteza cerebral. En el caso del cerebro de mamíferos, este mapa o red de conexiones revela una estructura compacta (efecto de mundo pequeño) y altamente modular [1]. Cada uno de los módulos está compuesto por áreas que comparten un alto número de conexiones entre ellas mientras que su número de conexiones con áreas correspondientes a otros módulos es significativamente menor. La combinación de modularidad y cohesión en la estructura de estas redes de conexiones cortico-corticales dota de gran versatilidad para procesar e integrar información, haciendo del cerebro un sistema peculiar desde el punto de vista dinámico. En este trabajo estudiaremos procesos dinámicos de sincronización entre áreas corticales usando la red cerebral del gato [2]. A diferencia de estudios previos sobre la sincronización [3]

en redes sintéticas modulares el comportamiento dinámico presenta grandes dificultades para ser descrito usando los módulos definidos desde el punto de vista anatómico-funcional. Por el contrario, es posible definir una nueva compartimentalización de la red desde el punto de vista dinámico. Esta nueva descripción se apoya en la existencia de un nuevo módulo integrador que pone en conexión al resto de módulos funcionales. Desde este punto de vista se demuestra que modularidad y jerarquía juegan un papel determinante para explicar la dinámica cerebral tanto en el régimen de baja como de alta sincronización.

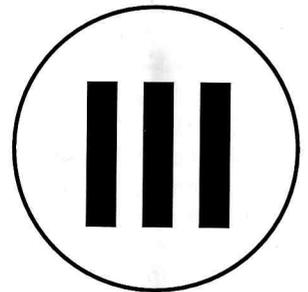
### Bibliografía

- [1] D. Smith-Basset, E. Bullmore, *The Neuroscientist* 12, 512 (2006).
- [2] J.W. Scannell, C. Blakemore, M.P. Young, *The Journal of Neuroscience* 15, 1463 (1995).
- [3] J. Gomez-Gardeñes, Y. Moreno, A. Arenas, *Phys. Rev. E* 75, 066106 (2007).

# SESIÓN

• *PATOLOGÍAS ASOCIADAS AL SISTEMA NERVIOSO* •

MODERADOR: Dr. N. Fayed



## CONFERENCIA INVITADA

**Santiago Ramón y Cajal, 75 años más tarde.**

*Prof. Dr. Santiago Ramón y Cajal Junquera. Universidad de Zaragoza.*

## PONENCIAS

**Peroxidación lipídica en pacientes afectos de tumores del sistema nervioso central.**

*M.J. Zubero, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón, E.M. Gómez-Trullén, M. Aranda, M. Sebastián, E. Piedrafita, J.J. García.*

**Correlación clinicomorfológica de distintas formas de demencia asociada a enfermedad de neurona motora.** *P. Larrodé, S. Ramón y Cajal, L.F. Pascual, C. Íñiguez, T. Castiella, A.C. Calvo, R. Osta.*

**Estudio de la degeneración axonal a nivel de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes con esclerosis múltiple.** *E. García-Martín, V. Pueyo, I. Pinilla, M. Idoipe, C. Almárcegui, I Dolz, J.R. Ara, J. Fernández.*

**Comparación de mediciones de espesores maculares y de capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL) en pacientes diabéticos tipo 2 con oct de dominio tiempo (Stratus OCT) y espectral (Cirrus OCT).** *L. Gil-Arribas, M. Idoipe, I. Fuertes, E. García-Martín, I. Pinilla.*

**Complejidad estadística y comportamiento colectivo no-trivial en señales electroencefalográficas.** *M. Escalona-Morán, M.G. Cosenza, P. García, R. López-Ruiz.*



## Peroxidación lipídica en pacientes afectos de tumores del sistema nervioso central

M.J. Zubero, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón, E.M. Gómez-Trullén, M. Aranda, M. Sebastián, E. Piedrafita, J.J. García

Fisiología del Envejecimiento y del Estrés Oxidativo (B40). Universidad de Zaragoza.

### OBJETIVOS.

- Determinar las concentraciones de malondialdehído (MDA) y 4-hidroxi-alquenas (4-HDA), indicadores de lesión oxidativa en lípidos, en muestras tumorales y peritumorales de pacientes con tumores localizados en el sistema nervioso central.
- Relacionar los niveles de MDA+4-HDA con la estirpe anatómopatológica de la tumoración extraída.

### MATERIAL Y MÉTODOS.

Se estudió una población de 57 pacientes (27 hombres y 30 mujeres) diagnosticados y tratados quirúrgicamente de tumoración cerebral en el Servicio de Neurocirugía del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. La edad media fue  $56,6 \pm 2,0$  años. Se distribuyeron en cuatro grupos según la anatomía patológica del tumor: I, gliomas ( $n=20$ ); II, meningiomas ( $n=22$ ); III, metástasis ( $n=4$ ); IV, otros ( $n=11$ ). El daño a lípidos por radicales libres se valoró cuantificando el MDA+4-HDA por

un método basado en su reacción con el 1-metil-2 fenilindol que forma un cromóforo estable con un pico de absorbancia a los 586 nm. Se utilizó como estándar una curva patrón de 1,1,3,3-tetrametoxipropano. La concentración de MDA+4-HDA se corrigió por la de proteínas totales. Se utilizó la *t* de Student para datos pareados y no pareados, utilizando el programa informático del paquete estadístico SPSS.

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

Las concentraciones de MDA+4-HDA (nmoles/mg proteína) en tejido tumoral fueron I:  $4,49 \pm 0,4$ ; II:  $3,33 \pm 0,3$ ; III:  $5,76 \pm 1,7$ ; IV:  $4,36 \pm 0,7$ . En el tejido peritumoral, I:  $8,15 \pm 0,6$ ; II:  $7,24 \pm 0,8$ ; III:  $6,65 \pm 0,0$ ; IV:  $9,13 \pm 1,4$ . La oxidación lipídica en tejido tumoral fue mayor en los tumores más invasivos, gliomas y metástasis, con diferencias significativas respecto a meningiomas. En el estudio peritumoral no se hallaron diferencias significativas, aunque sus concentraciones fueron significativamente mayores que las del tumoral.



## Correlación clinicomorfológica de distintas formas de demencia asociada a enfermedad de neurona motora.

P. Larrodé<sup>1</sup>, S. Ramón y Cajal<sup>2</sup>, L. F. Pascual<sup>1</sup>, C. Iñiguez<sup>1</sup>, T. Castiella<sup>2</sup>, AC. Calvo<sup>3</sup>, R. Osta<sup>3</sup>

1. Servicio de Neurología y
2. Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario Lozano-Blesa. Zaragoza.
3. LAGENBIO-I3A. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

### INTRODUCCIÓN

La asociación demencia-ELA se ha ido reconociendo y caracterizando progresivamente en los últimos años hasta la actualidad, en que se propone para esta asociación una nueva entidad clinicopatológica.

### OBJETIVOS

Estudiar tres casos de enfermedad de neurona motora (ENM) asociada a deterioro cognitivo buscando correlaciones clinicomorfológicas.

### MÉTODOS

Son tres pacientes con ENM que asocian deterioro cognitivo en los que se estudia la topografía y evolución de la ENM, así como las características del síndrome demencial mediante tests psicométricos, neuroimagen (TC, RM craneal y SPECT craneal), incluyendo estudio post mortem en un caso.

### RESULTADOS

Son tres pacientes varones que presentan ENM. Dos de ellos con signos de afectación de primera y segunda neurona

motora, cumpliendo criterios de ELA definida, y otro con enfermedad de segunda neurona, compatible con la variante atrofia muscular progresiva. Los tres asocian deterioro cognitivo compatible con demencia frontotemporal: uno presenta la variante conductual, otro una demencia semántica y el tercero demencia de tipo subcortical asociando parkinsonismo. Tanto la neuroimagen como los tests psicométricos confirman la presencia de una disfunción frontotemporal. Dos de ellos han fallecido por insuficiencia respiratoria y en uno de ellos se realizó estudio post mortem. El estudio post mortem incluye la caracterización de la demencia y de la enfermedad de motoneurona, incluyendo específicamente la inmunotinción con ubiquitina.

### CONCLUSIONES

Distintas enfermedades neurodegenerativas pueden presentar vínculos comunes en la proteinopatía subyacente, con un espectro desde la demencia frontotemporal hasta la ENM. Se discuten nuestros hallazgos en relación a lo descrito en la bibliografía.



## Estudio de la degeneración axonal a nivel de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes con esclerosis múltiple

Elena García-Martin<sup>1</sup>, Victoria Pueyo<sup>1</sup>, Isabel Pinilla<sup>1</sup>, Miriam Idoipe<sup>1</sup>, Carmen Almárcegui<sup>2</sup>, Isabel Dolz<sup>3</sup>, Jose Ramón Ara<sup>3</sup>, Javier Fernández<sup>1</sup>

1. Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS).
2. Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Neurofisiología.
3. Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Neurología.

### OBJETIVOS

Evaluar los cambios que se producen en la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) de pacientes con esclerosis múltiple (EM) durante dos años y la correlación observada entre el cambio en los parámetros estructurales de la misma y la modificación de las variables funcionales. Comparar la utilidad de la tomografía de coherencia óptica (OCT), polarimetría láser (GDx), potenciales evocados visuales (PEV) y campo visual en la detección del daño axonal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 90 ojos de pacientes con EM que no hubiesen presentado brotes ni neuritis ópticas durante el seguimiento. Se realizó una exploración oftalmológica completa, que constó de agudeza visual (AV), visión de colores, campimetría, OCT, GDx y PEV. Todos los pacientes fueron reevaluados transcurridos 12 y 24 meses. Se estudió la correlación entre los parámetros funcionales y estructurales de la CFNR mediante el test de Pearson, así como la correlación entre los dos aparatos de estudio estructural de esta estructura.

### RESULTADOS

Al comparar las exploraciones basal y a los dos años se detectaron diferencias estadísticamente significativas (t de Student,  $p \leq 0,05$ ) en el espesor medio, superior e inferior de la CFNR y en el volumen macular medidos con la OCT, mientras que no se encontraron diferencias significativas en las pruebas funcionales (AV, test de Ishihara, campimetría, PEV) ni en el GDx. Se encontró correlación entre los parámetros estructurales obtenidos mediante GDx y OCT, y una escasa correlación entre el cambio observado con estos aparatos y las modificaciones de los parámetros funcionales obtenidos con GDx y OCT.

### CONCLUSIONES

En la evolución de la EM aparece daño axonal progresivo. Las mediciones de la OCT son eficaces para detectar variaciones del espesor de la CFNR y del volumen macular, sin embargo estos cambios no fueron detectados mediante las pruebas funcionales ni con el GDx.



## Comparación de mediciones de espesores maculares y de capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL) en pacientes diabéticos tipo 2 con oct de dominio tiempo (Stratus OCT) y espectral (Cirrus OCT).

Gil-Arribas, L; Idoipe, M; Fuertes, I; García-Martín, E; Pinilla, I.

Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza.

### OBJETIVO

Comparar Cirrus OCT (Fourier-domain) con Stratus OCT (Time-domain) en la medida de la capa de fibras nerviosas de la retina y del espesor macular en pacientes diabéticos tipo 2.

### MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo de 49 pacientes diabéticos tipo 2. Se incluyó un solo ojo de cada paciente elegido de forma ramdomizada. En todos ellos se realizaron 3 mediciones de nervio óptico (optic disc 200x200 scans) y tres mediciones del espesor macular (512x128 volume cube scans) con OCT Cirrus y OCT Stratus. La media de todos los escaneos fue calculada, y se compararon las medidas resultantes de cada sistema.

### RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 21 hombres (42,9%) y 28 mujeres (57,1%). La edad media fue de 60 (42-72 años). El prome-

dio del espesor macular con Cirrus OCT fue 66,37  $\mu\text{m}$  superior que el promedio obtenido con Stratus OCT (263,52  $\mu\text{m}$  vs 197,15  $\mu\text{m}$ ;  $p=0,001$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos sistemas en la medición de los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina.

### CONCLUSIÓN

En nuestro estudio, las mediciones de espesor macular utilizando Cirrus OCT fueron mayores que con Stratus OCT en pacientes diabéticos tipo 2. Pero no encontramos claras diferencias entre los dos sistemas en la medición de RNFL. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en estudios previos realizados en sujetos sanos en condiciones similares.



## Complejidad estadística y comportamiento colectivo no-trivial en señales electroencefalográficas.

M. Escalona-Morán<sup>1</sup>, M.G. Cosenza<sup>2</sup>, P. García<sup>3</sup>, R. López-Ruiz<sup>4</sup>

1. Grupo de Ingeniería Biomédica, Facultad de Ingeniería, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
2. Centro de Física Fundamental, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
3. Laboratorio de Sistemas Complejos, Dpto. de Física Aplicada, Facultad de Ingeniería, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
4. Dpto. de Informática e Ingeniería de Sistemas y BIFI, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, E-50009 Zaragoza, España.

El estudio de indicadores estadísticos aplicado a señales de origen biológico presenta un gran interés y es objeto de intenso estudio en los últimos años. En este trabajo se ha calculado uno de estos indicadores, la complejidad estadística [1], sobre señales electroencefalográficas (EEG) para una comunidad de sujetos sanos y de pacientes con epilepsia. Se encuentra un comportamiento muy distinto en ambos grupos, de forma que la dinámica colectiva de las señales EEG presenta valores más altos de complejidad estadística para los sujetos sanos en comparación a la complejidad mostrada por la señal en los pacientes epilépticos [2]. Este hecho sugiere que la epilepsia

es una enfermedad degenerativa asociada a la pérdida de complejidad del cerebro.

### Bibliografía

- [1] R. López-Ruiz, H.L. Mancini & X. Calbet, "A statistical measure of complexity", *Phys. Lett. A* 209, 321-326 (1995).
- [2] M. Escalona-Morán, M.G. Cosenza, R. López-Ruiz & P. García, "Statistical Complexity and Nontrivial Collective Behavior in Electroencephalographic Signals", *International Journal of Bifurcation and Chaos*, special issue on "Chaos and Dynamics in Biological Networks", Eds. M. Chávez & B. Cazelles, en prensa (2009).

# SESIÓN

• *APLICACIONES CLÍNICAS. NEUROCIENCIA  
APLICADA AL COMPORTAMIENTO Y LA CONDUCTA* •

MODERADOR: Dr. P.C. Marijuán



## PONENCIAS

**Análisis de correlación y validez predictiva de los constructos relacionados con el dolor en fibromialgia.**

*M.J. García-Campayo, B. Rodero, R. Magallón, Y. López del Hoyo,  
B. Olivan, S. Moreno, J. Magdalena, A. Escudero.*

**Mecanismos de la señal dolorosa y algunos desórdenes en fibromialgia.**

*C. Maestu.*

**Cordancia electroencefálica: aplicación al diagnóstico en fibromialgia.**

*J. Navarro, R. del Moral, P.C. Marijuán.*

**Diseño metodológico del proyecto ZARADEMP.**

*J.F. Roy, R. López-Antón, J. Santabábara, G. Marcos, P. Saz, A. Lobo.*

**Riesgo de depresión incidente y ACV en el estudio ZARADEMP.**

*J. Santabábara, R. López-Antón, J.F. Roy, P. Gracia-García, G. Marcos, A. Lobo*

**Incidencia de demencia en el estudio ZARADEMP.**

*R. López-Antón, J. Santabábara, J.F. Roy, G. Marcos, A. Lobo*

**Memantina versus donepezilo en la enfermedad de Alzheimer leve o moderada.**

**Estudio randomizado con espectroscopía por resonancia magnética.**

*N. Fayed, P. Modrego, J. Errea, C. Ríos, M.A. Pina, M. Sarasa.*

**Fundamentos y Utilidad de la Tomografía de Coherencia Óptica en la práctica clínica.**

*I. Pinilla, E. García-Martín, I. Fuertes, M. Idoipe, L. Gil.*

**Protesis sub-retinianas de foto-receptores cerámicos montados sobre polímeros de plga.**

**Paradigma de investigación interdisciplinar.**

*J.M. Lou-Bonafonte, S. Bonafonte-Royo, C. García.*

**¿Se puede mover el nervio de forma específica?**

*E. Bueno García, E. Estébanez de Miguel, M.O. Lucha López, P. Fanlo Mazas,  
C. Hidalgo García, S. Caudevilla Polo, J.M. Tricás Moreno.*

## Análisis de correlación y validez predictiva de los constructos relacionados con el dolor en fibromialgia

Javier García-Campayo, Baltasar Rodero, Rosa Magallón, Yolanda López del Hoyo, Barbara Olivan, Sergio Moreno, Jesús Magdalena, Almudena Escudero.

Red de Investigación en Atención Primaria (REDIAPP). Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Universidad de Zaragoza.

### ANTECEDENTES

La fibromialgia es una enfermedad prevalente que constituye un problema relevante de salud en los países desarrollados. El dolor constituye el síntoma principal. Los constructos psicológicos relacionados con el dolor, que pueden constituir importantes dianas terapéuticas en el manejo de este trastorno, no han sido suficientemente estudiados.

### OBJETIVOS

1.- Estudiar la correlación y posibles solapamientos entre los diferentes constructos psicológicos relacionados con el dolor en la fibromialgia. 2.- Conocer el valor predictivo de dichos constructos tanto en la intensidad del dolor como en la función global de estos pacientes.

(Un objetivo previo de este estudio, la validación en español de cuestionarios que permitan medir dichos constructos, ya ha sido realizado).

### MÉTODO

Diseño: Se realizara un estudio naturalístico, longitudinal, de seguimiento a un año. Muestra: Se estudiará una muestra representativa (error <2,5%) de 250 pacientes diagnosticados de fibromialgia y reclutados en centros de atención primaria de

Zaragoza. Instrumentos: Se estudiarán los principales constructos relacionados con el dolor (catastrofismo, aceptación, hundimiento mental, flexibilidad mental, mindfulness e injusticia percibida) en relación con variables mediadoras (ansiedad y depresión) y variables de resultado (dolor y función global). Análisis estadístico: Se analizará la correlación solapamiento de dichos constructos (mediante una matriz de correlaciones usando el Rho de Spearman) y la validez predictiva de los constructos psicológicos en el momento basal en las medidas de resultado a un año de seguimiento (mediante regresión lineal, controlando las variables sociodemográficas y mediadoras).

### RESULTADOS

La validación previa de los cuestionarios y el análisis de correlaciones demuestra que dichos constructos son evaluables en estos pacientes y muestran características factoriales similares a las encontradas en estudios previos realizados en otros países.

### DISCUSIÓN

Se analizan los resultados a la luz de los conocimientos actuales sobre el tema, principalmente en base a estudios realizados en otras enfermedades que cursan con dolor crónico.

## Mecanismos de la señal dolorosa y algunos desordenes en fibromialgia

C. Maestu

Centro de Tecnología Biomédica (CTB). Universidad Politécnica de Madrid.

La Fibromialgia es una enfermedad de causa desconocida, cuya sintomatología más relevante es el dolor crónico generalizado que se localiza, esencialmente, en zonas musculares, tendinosas, articulares y viscerales, es de alta prevalencia se estima hasta un 4 % de la población general adulta, en España en un 2-3%, lo que hace de este síndrome un problema de salud pública importante y de difícil abordaje. Es la causa más frecuente de dolor generalizado y configura un grupo importante y heterogéneo de pacientes, que requiere un enfoque individualizado. En la actualidad, forma parte de un espectro amplio de síndromes y situaciones clínicas que cursan con procesos de sensibilización e hipersensibilidad central, los llamados "Central Sensitivity Syndromes", que se encuentran implicados en respuestas anómalas del Sistema Nervioso. Caracterizándose por la capacidad específica para incrementar los procesos de sensibilización al dolor al menos en aquellos casos que cursan con una extraordinaria sensibilidad dolorosa ante el tacto, el roce o los estímulos térmicos mínimos.

No existe ninguna prueba objetiva que nos permita medir la intensidad del dolor, ningún dispositivo de imagen que nos pueda mostrar el dolor, y ningún instrumento que pueda ubicar precisamente el dolor. Sin embargo las técnicas de imagen funcional están haciendo posible identificar los principales componentes del sistema de procesamiento del dolor en el interior del cerebro humano, en particular de los mecanismos inherentes al dolor crónico, en ausencia de estímulo conocido. Las técnicas de neuroimagen funcional nos pueden proveer de los datos necesarios para poder aproximarnos a entender su

proceso a nivel central, mediante las imágenes de TdP, incrementando la resolución espacial hasta unos pocos milímetros, y permitiendo dibujar las vías de progresión de la señal en el cerebro, la gran ventaja de la fMRI es la posibilidad de repetir estas pruebas sin las limitaciones de otras técnicas, y además complementarlas con los resultados funcionales del procesamiento de la señal eléctrica dolorosa con magnetoencefalografía, permitiendo no solo su ubicación espacial, también su estructura temporal de respuesta.

El desarrollo de sistemas de estimulación sensorial más precisos, donde se puede graduar no solo la amplitud del estímulo aplicado sino la frecuencia y la sucesión de trenes, nos ha permitido aproximarnos al conocimiento de las vías básicas de progresión de la señal dolorosa en el cerebro, mediante fMRI y MEG. Los resultados obtenidos nos indican diferencias de procesamiento de estas señales, entre pacientes y controles, indicativas de una disfunción en el procesamiento de la señal, lo que viene a corroborar las hipótesis de una alteración central en estas patologías crónicas de los procesos de procesamiento de la señal dolorosa y los lugares específicos donde se procesa.

Se ha definido un parámetro llamado índice de activación en fMRI. El "paciente-medio" posee un índice de activación entre tres y cuatro veces mayor que el del "control-medio". Y existe un retardo temporal en el inicio de la señal en pacientes tanto en la respuesta subumbral como en la supraumbral y la anchura temporal en los pacientes es superior tanto en supraumbral como en subumbral en MEG.

## Cordancia electroencefálica: aplicación al diagnóstico en fibromialgia

Jorge Navarro, Raquel del Moral, Pedro C. Marijuán

Grupo de Bioinformación y Biología de Sistemas. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS).

### INTRODUCCIÓN

La Cordancia es un refinamiento reciente del EEG cuantitativo que se está aplicando con éxito a diversas patologías y situaciones clínicas, especialmente en pronóstico y respuesta a tratamiento. En el presente estudio piloto se aplica a pacientes de fibromialgia que ya han sido tipificados bioquímica y mitocondrialmente.

### LA CORDANCIA ELECTROENCEFÁLICA.

La Cordancia (Cordance) es una medida del EEG que integra información de las potencias absolutas y relativas obtenidas para cada banda (delta, theta, alfa y beta) en cada región topográfica a partir de la aplicación de la Transformada Rápida de Fourier (Fast Fourier Transform, FFT). Su ventaja respecto a las medidas utilizadas habitualmente en el EEG cuantificado es que se relaciona mucho más estrechamente con el grado de perfusión sanguínea cerebral, incluso en individuos normales, de forma que los territorios en situación de cordancia tienen un nivel de perfusión superior a los que muestran ausencia de ésta (Leuchter et al., 1994).

### CÁLCULO DE LOS VALORES DE CORDANCIA.

Los pasos para obtener los parámetros de cordancia (Leuchter et al., 1994) son: 1. Aplicación de la FFT a segmentos de actividad EEG libres de artefactos. 2. Reasignación de las

potencias correspondientes a partir de los electrodos vecinos (media aritmética) y transformación mediante la raíz cuadrada. 3. Normalización de los valores absolutos y relativos (z-scores).

### ESTUDIO PILOTO.

Se realiza sobre una muestra de 12 sujetos (pacientes y controles), estudiados en genética nuclear y mitocondrial (haplogrupos, junto a otras características bioquímicas y fisiológicas). El cruce de las discriminaciones en genética, cordancia (más ERPs) y variables psiquiátricas, permitirá identificar subgrupos clínicos en fibromialgia, comprendiendo pronóstico y respuesta al tratamiento.

### COLABORACIONES.

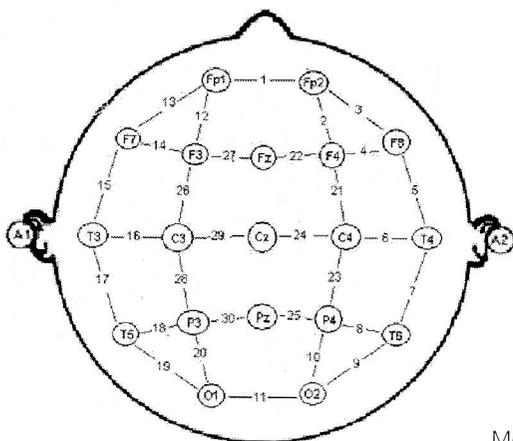
Grupo de Bioinformación y Biología de Sistemas (Pedro C. Marijuán).

Grupo de Neurofisiología Clínica del H.U. Miguel Servet (José María Vergara).

Grupo de Biogénesis y Patología Mitocondrial (Manuel López Pérez & Carmen Díez).

Grupo de Investigación en Salud mental Atención Primaria (Javier García Campayo).

Grupo Aragonés de Investigación en Atención Primaria (Rosa Magallón Botaya).



Montaje de registro del EEG Cuantitativo Tomográfico

## Diseño metodológico del proyecto ZARADEMP

Roy JF.<sup>1,2</sup>, López-Anton R.<sup>1</sup>, Santabarbara J.<sup>3</sup>, Marcos G.<sup>1,2</sup>, Saz P.<sup>1,2</sup>, Lobo A.<sup>1,2</sup>

1. Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.

2. Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.

3. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, España.

### OBJETIVO

El objetivo principal del Proyecto ZARADEMP es la morbilidad psiquiátrica (demencia y depresión) en los ancianos, así como sus principales factores de riesgo

Método: El Proyecto ZARADEMP es un estudio prospectivo longitudinal, que también incluye componentes transversales.

#### Población de estudio

Seguimos a personas libres de demencia, para ello definimos criterios de inclusión: 1 <sup>o</sup> Haber sido entrevistados en el baseline (o Z-I) y 2 <sup>o</sup> Haber sido definidos como caso o subcaso de demencia. Finalmente, se excluyen para el primer seguimiento 745 en Z-I; 4.058 personas se siguieron en Z-II; en Z-III 3.160 se siguieron y 2.339 en Z-IV.

### INSTRUMENTOS

La Entrevista ZARADEMP, que incorpora varios instrumentos internacionales estandarizados en España por nuestro grupo de investigación. Entre ellos: Geriatric Mental State (GMS), *History and Aetiology Schedule (HAS)*, *Examen Cognoscitivo Mini-Mental (ECMM)*, y *Lawton & Brody scale and Katz' Index*.

### PROCEDIMIENTO

Cribaje epidemiológico en dos fases tanto en el estudio *baseline* (Z-I) como en las tres olas de seguimiento Z-II (2,5

años), Z-III (5 años) y finalizando en Z-IV (12 años). En la Fase 1, *lay-interviewers* estandarizados administraron la Entrevista ZARADEMP a los participantes en sus hogares, supervisados individualmente por psiquiatras investigadores. Los participantes fueron cribados como "casos probables" según criterios GMS y ECMM. En la Fase 2 los psiquiatras reevaluaron los casos probables de demencia emitiendo un diagnóstico psiquiátrico (DSM-IV). El diagnóstico final de "caso de demencia" fue confirmado por un panel de expertos compuesto por 3 psiquiatras

### RESULTADOS

De la muestra inicial (n=9.739), 3,6% emigraron, 18,9% fallecieron, 7,6% ilocalizables y 20,5% rechazaron participar. 4.803 individuos fueron entrevistados en el baseline, de los cuales 3.237, 2.403 y 1.197 fueron re-entrevistados en las tres fases de seguimiento. La prevalencia global ajustada de demencia en Z-I fue del 3,9% (IC 95%= 3,3 – 4,5)

### CONCLUSIONES

El presente estudio cumple estándares éticos y metodológicos de investigación epidemiológica actual. Estudios previos del grupo apoyan la validez del proceso diagnóstico realizado por psiquiatras investigadores en estudios comunitarios de esta índole.

## Riesgo de depresión incidente y ACV en el estudio ZARADEMP

Santabarbara J.<sup>1</sup>, López-Anton R.<sup>2</sup>, Roy JF.<sup>2,3</sup>, Gracia-García P.<sup>4</sup>, Marcos G.<sup>2,3</sup>, Lobo A.<sup>2,3</sup>

1. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, España.
2. Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.
3. Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.
4. HCU Lozano Blesa, Zaragoza, España.

### OBJETIVOS

Contrastar la hipótesis de que un episodio de ACV de relevancia clínica es un factor de riesgo independiente de la depresión incidente en pacientes sin afección cardíaca

### MÉTODOS

Muestra representativa de la comunidad ( $n = 4.803$ ) 55+ años entrevistada en el Baseline o ZARADEMP I (Z-I). Los ancianos sin deterioro cognitivo ni demencia en el Baseline fueron reevaluados durante el seguimiento realizado en Z-II a los 2,5 años y Z-III a los 4,5 años en un estudio prospectivo de cohortes para documentar la incidencia y factores de riesgo somáticos de depresión. Principal instrumento de evaluación: Entrevista ZARADEMP, que incluye versiones en español de instrumentos validados (ECMM y (GMS)-AGECAT). Los sujetos con antecedentes de depresión o enfermedad cardíaca fueron excluidos del estudio. Análisis estadístico: Se utilizó el modelo de Andersen-Gill, ajustando por indicadores sociodemográficos, de riesgo cerebrovasculares, afectivos y por deterio-

riero físico y cognitivo. Score test, test de Grønnesby & Borgan (Test G-B) y  $R^2$  de Royston ( $R^{2R}$ ). Software R v2.9.

### RESULTADOS

El primer modelo (ACV, ajustado por indicadores sociodemográficos) muestra que los sujetos con antecedentes de ACV en el Baseline tienen un mayor riesgo de padecer depresión a largo plazo, HR = 1,69 (IC 95% 1,10-2,59). Score test:  $p < 0,001$ . Test G-B:  $p = 0,461$ .  $R^{2R} = 0,156$ . En un segundo modelo (ajustado además por factores de riesgo cerebrovasculares), HR = 1,70 (IC 95% 1,11-2,60). Score test:  $p < 0,001$ . Test G-B:  $p = 0,430$ .  $R^{2R} = 0,163$ . Tercer modelo: Añadiendo el deterioro físico y cognitivo, HR = 1,59 (IC 95% 1,04-2,44). Score test:  $p < 0,001$ . Test G-B:  $p = 0,295$ .  $R^{2R} = 0,167$ .

### CONCLUSIONES

El ACV es un factor de riesgo de depresión a largo plazo en población geriátrica, este riesgo incrementado no es modificado por otros factores de riesgo cerebrovasculares, afectivos y por el deterioro físico y cognitivo

## P O N E N C I A S

**Incidencia de demencia en el estudio ZARADEMP****López-Anton R.<sup>1</sup>, Santabarbara J.<sup>2</sup>, Roy JF.<sup>1,3</sup>, Marcos G.<sup>1,3</sup>, Lobo A.<sup>1,3</sup>**

1. Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.

2. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, España.

3. Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.

**OBJETIVOS**

Estimar las tasas de incidencia específica de demencia y sus dos principales subtipos, Demencia Tipo Alzheimer y Demencia Vasculosa (DTA y DV), y aportar datos sobre la probabilidad de desarrollar demencia

**MÉTODOS**

Una muestra representativa de la comunidad (n=4.803) de más de 55 años fue entrevistada en dos fases de selección, en el baseline o ZARADEMP I (Z-I). El principal instrumento para la evaluación de los participantes fue la Entrevista ZARADEMP, que incluye versiones de instrumentos normalizados (ECMM y (GMS)-AGECAT). Los Casos de demencia (y DTA y DV) fueron diagnosticados, utilizando criterios DSM-IV. Durante el seguimiento realizados en Z-II a los 2,5 años (n=3.237) y Z-III a los 4,5 años (n=2.403), los ancianos sin demencia y/o deterioro cognitivo en el *baseline* fueron reevaluados con el mismo procedimiento para detectar casos incidentes.

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se calcularon las tasas de incidencia específicas por sexo y edad para demencia, DTA y DV con intervalos de confianza al

95% (EE de Poisson). Para calcular la probabilidad de desarrollar demencia se utilizó la incidencia acumulada (IA). Para calcular la probabilidad de desarrollar demencia usamos un conjunto de modelos de regresión de Poisson.

**RESULTADOS**

Tras una media de seguimiento de 54 meses, 138 nuevos casos de demencia fueron identificados. La incidencia global fue de 8,6 por cada 1.000 años-persona. Las tasas de incidencia de DTA y DV en los hombres fueron 3,7 y 2,0 y, en mujeres, 6,8 y 1,6, por cada 1.000 años-persona, respectivamente.

Las mujeres tienen una probabilidad de 0,073 de padecer demencia en un plazo de 25 años y a lo largo de la vida una probabilidad de 0,798. En los hombres, son 0,063 y 0,621. La incidencia acumulada esperada muestra que las mujeres tienen tasas de incidencia de demencia significativamente mayores que los varones, en especial para DTA.

**CONCLUSIONES**

Documentamos unas tasas de incidencia específicas relativamente menores que las recogidas en la bibliografía, así como una mayor tasa de incidencia específica de demencia en mujeres.

## Memantina versus donepezilo en la enfermedad de Alzheimer leve o moderada. Estudio randomizado con espectroscopía por resonancia magnética

Fayed, N.<sup>1</sup>, Modrego, P.<sup>2</sup>, Errea, J.<sup>3</sup>, Rios, C.<sup>4</sup>, Pina, MA.<sup>5</sup>, Sarasa, M.<sup>6</sup>

1. Servicio de Neurorradiología. Hospital Quirón. Zaragoza; 2. Hospital Miguel Servet. Zaragoza, 3. Hospital Barbastro; 4. Hospital Calatayud; 5. Hospital Miguel Servet. Zaragoza; 6. Araclón. Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

La Memantina es una droga antagonista del glutamato que se prescribe en estados avanzados de la enfermedad de Alzheimer con beneficio modesto. El Donepezilo es la más empleada en pacientes con Alzheimer leve o moderado.

### OBJETIVOS

Comparar la Memantina versus el inhibidor de la colinesterasa más prescrito (Donepezilo) desde un punto de vista clínico cuando los administramos en fases precoces de la enfermedad, y tratar de ver si la Memantina puede tener efecto neuroprotector en comparación con Donepezilo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes con enfermedad de Alzheimer leve o moderada fueron evaluados con test neuropsicológicos (Mini-mental, CDR, Escala de Blessed, ADAS cognitivo, neuropsiquiátricos (NPI) y Disability Assessment for Dementia (DAD) así como mediante Espectroscopía por Resonancia Magnética en región prefrontal y temporal bilateral, occipital izquierda y cíngulo posterior. Los pacientes fueron randomizados para recibir Donepezilo o Memantina durante 6 meses.

### RESULTADOS

No encontramos diferencias significativas en las escalas clínicas y niveles de metabolitos entre los tratados con Donepe-

zilo (n=32) y con Memantina (n=32). Donepezilo produce pequeños cambios en escalas clínicas. Memantina mejora el comportamiento en promedio de 1,25 pero empeora la cognición en grado similar en el ADAS-cognitivo. En los 64 pacientes analizados los cambios en el ratio NAA/Cr en cíngulo posterior correlacionan negativamente con los cambios en el ADAS-cognitivo (P=0.004).

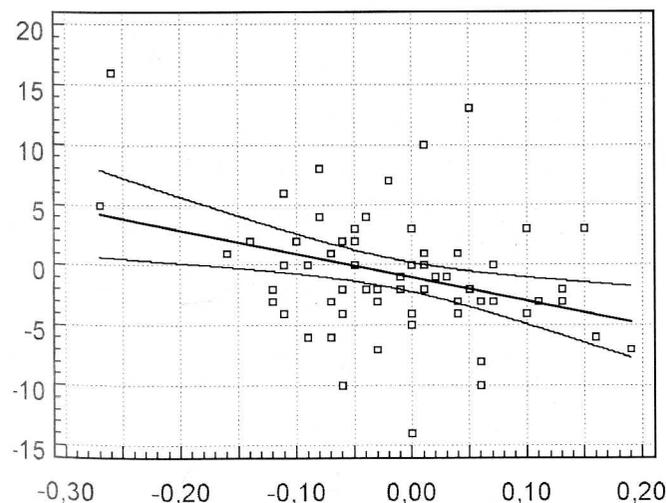
### CONCLUSIONES

Donepezilo y Memantina tienen similar y pequeño efecto clínico y neuroprotector en la enfermedad de Alzheimer leve o moderada. La Espectroscopía por Resonancia Magnética puede ser necesaria para monitorizar la progresión de la enfermedad.

### BIBLIOGRAFÍA

1- Modrego PJ, Pina MA, Fayed N, Diaz M. Changes in metabolite ratios after treatment with rivastigmine in Alzheimer's disease. A non-randomised controlled trial with Magnetic Resonance Spectroscopy, CNS Drugs 2006; 20: 867-877

2- Pedro J Modrego; Nicolas Fayed; Jose M Errea; Consuelo Rios; Miguel A Pina; Manuel Sarasa. Memantine versus donepezil in mild to moderate Alzheimer's disease. A randomized trial with Magnetic Resonance Spectroscopy. Eur J Neurol. Oct 28, 2009



Cambios en ADAS-cognitivo en relación al ratio N-acetilaspártato/Creatina en cíngulo posterior después del tratamiento con Donepezilo y Memantina. Media de valores negativos empeorando (ADAS-cog antes del tratamiento menos ADAS-cog después de 24 semanas de tratamiento).

**P O N E N C I A S****Fundamentos y Utilidad de la Tomografía de Coherencia Óptica en la práctica clínica****Isabel Pinilla, Elena García-Martín, Isabel Fuertes, Miriam Idoipe, Laura Gil**

Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

**OBJETIVOS**

Valorar las ventajas que supone la incorporación de la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) en la práctica clínica

Métodos: Se explica el funcionamiento de los OCT y sus indicaciones para valorar los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) peripapilar y el espesor retiniano a nivel macular. Se presentan las novedades y ventajas de los equipos de alta resolución.

**RESULTADOS**

Los OCT se basan en una técnica de medición óptica denominada interferometría de baja coherencia. Proporcionan una

imagen similar a la biopsia tisular pudiéndose valorar las distintas capas retinianas así como los espesores. Los nuevos tomógrafos de dominio espectral o Fourier consiguen imágenes de alta calidad con un número altamente superior de barridos por segundo. Conseguimos una imagen tridimensional y minimizan los artefactos de la imagen.

**CONCLUSIONES**

La Tomografía de Coherencia Óptica es una herramienta fundamental para valorar patologías maculares, neurooftalmológicas y el glaucoma. Los OCT de nueva generación aportan ventajas añadidas a los previos.

## Prótesis sub-retinianas de foto-receptores cerámicos montados sobre polímeros de plga. Paradigma de investigación interdisciplinar

J. M. Lou-Bonafonte.<sup>1</sup>, S. Bonafonte-Royo.<sup>2</sup>, C. García<sup>3</sup>

1. Departamento de Farmacología y Fisiología. Universidad de Zaragoza. España.
2. Centro de Oftalmología Bonafonte. Barcelona. España.
3. Health Science Center at Houston. The University of Texas. U.S.A.

### INTRODUCCIÓN

Existen enfermedades como la Retinitis Pigmentosa y la Degeneración Macular Asociada a la Edad, responsables de un elevado número de casos de ceguera en nuestra sociedad. En ambas enfermedades existe una degeneración de la capa de fotorreceptores de la retina, con una relativamente buena preservación de las capas neuronales más profundas de ésta estructura.

### OBJETIVO

Presentar la investigación llevada a cabo en el desarrollo de los microdetectores cerámicos de implantación sub-retiniana, mostrar sus ventajas respecto a otras estrategias planteadas en el ámbito de las prótesis retinianas, y plantear este campo de investigación como paradigma de investigación interdisciplinar entre científicos del área de nanoingeniería, física electrónica, nuevos materiales, químicos, biólogos, fisiólogos, neurocientíficos, oftalmólogos, ingenieros de robótica, etc...

### RESULTADOS

Presentamos avances realizados en el desarrollo de implantes sub-retinianos (microdetectores) formados por materiales cerámicos fotosensibles "La-doped PbZrTiO<sub>3</sub>(PLZT)" (Ignatiev et al.), montados sobre una película polimerizada de PLGA (Lu et al). Planteamos posibles ventajas respecto a otros dispositivos desarrollados a partir del silicio (i.e: flexibilidad, mejor biocompatibilidad, etc...).

### CONCLUSIONES

En la actualidad, y gracias a la investigación interdisciplinar, se están desarrollando implantes biónicos sub-retinianos que quizá, en un futuro no muy lejano, permitan recuperar una visión de cierta calidad a determinados pacientes ciegos. La tecnología presentada posee la versatilidad necesaria para permitir este objetivo.

## ¿Se puede mover el nervio de forma específica?

**Elena Bueno Gracia, Elena Estébanez de Miguel, M<sup>a</sup> Orosia Lucha López, Pablo Fanlo Mazas, César Hidalgo García, Santos Caudevilla Polo, José Miguel Tricás Moreno**

Unidad de Investigación en Fisioterapia. Escuela Universitaria Ciencias de la Salud de Zaragoza. OMT-España.

La fisioterapia es una ciencia que desde sus orígenes se ha centrado en estudiar el movimiento corporal, la biomecánica, y de analizar las disfunciones que se producen en el mismo, en los diferentes estados patológicos.

El sistema nervioso, como estructura corporal que es, tiene gran capacidad de movimiento, característica fundamental que le permite adaptarse a los movimientos de la vida diaria a la vez que seguir realizando su función principal. Uno de los principales aspectos que se analizan desde la fisioterapia es el movimiento del nervio periférico y las alteraciones que se producen en él ante la presencia de patologías tan bien conocidas, como las ciáticas o el síndrome del túnel carpiano.

Hasta hace relativamente poco tiempo, y en algunos sectores aún hoy en día, existía cierta controversia acerca de la

capacidad de movimiento del sistema nervioso, en especial del sistema nervioso periférico. Sin embargo, gracias al creciente acceso, relativamente reciente, a sistemas de diagnóstico por imagen totalmente inocuos para el paciente, como es la ecografía, es posible estudiar este movimiento y hoy en día somos capaces de dar respuesta a varias preguntas:

¿Es posible mover el nervio periférico? ¿Es posible hacerlo de forma específica? ¿Cómo se relacionan diferentes patologías neurales con este patrón de movimiento?

Este conocimiento nos proporciona la mejor evidencia posible para poder evaluar, diagnosticar y tratar las alteraciones del movimiento neural de forma específica.

# **SESIONES DE POSTERS**

---

## Células madre neurales positivas a la nestina en el Sistema Nervioso Entérico

Cantarero, I.<sup>1,2</sup>; Luesma, MJ.<sup>1,2</sup>; Martínez-Ciriano, C.<sup>1,2</sup>; Castiella, T.<sup>1,3</sup>; Junquera, C.<sup>1,2</sup>

1. Dpto. de Anatomía e Histología Humanas. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza. 50009. Zaragoza.

2. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

3. Dpto. de Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. 50009. Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

La nestina es una proteína perteneciente a la familia de filamentos intermedios, clase VI. Desarrolla un importante papel en la organización del citoesqueleto durante la división celular, y ha sido propuesta como marcador de células madre neurales en el Sistema Nervioso Central. En el Sistema Nervioso Entérico, el papel de esta proteína es aun desconocido, y por consiguiente, motivo de investigaciones actualmente. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la presencia de nestina en los plexos entéricos de diferentes especies de mamíferos, por inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, y correlacionar estos resultados con microscopía electrónica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio hemos utilizado muestras de duodeno de ratón, rata y humano. Las técnicas inmunohistoquímicas se han realizado utilizando dos anticuerpos primarios: mouse anti-nestin (dilución 1:200, clone Rat 401; Chemicon International, Temecula, CA) y mouse anti-nestin (1:200, clone 10C2; Chemicon International, Temecula, CA). El resultado de la reacción de inmunofluorescencia se ha visualizado en un Microscopio Laser Confocal espectral Leica TCS SP2. Las muestras para microscopía electrónica han sido fijadas con una mezcla de 2,5% glutaraldehído y 2% paraformaldehído, según el protocolo convencional.

### RESULTADOS

La frecuencia de localización de células inmunopositivas para la nestina es diferente en ratón, rata y humano. Mientras que en ratón, la mayoría de ellas se encuentran alrededor de los ganglios; en rata y humano, el marcaje es obtenido principalmente en el interior de los mismos. Las neuronas, en las tres especies, no presentan inmunopositividad a este anticuerpo.

### CONCLUSIONES

1. En el Sistema Nervioso Entérico aparecen células positivas a la nestina. 2. El patrón de marcaje es diferente para ratón, rata y humano. 3. Dada su localización y características morfológicas podría tratarse de células gliales o células Intersticiales de Cajal. 4. Estas células positivas a la nestina podrían representar una población de células madre neurales en el Sistema Nervioso Entérico.

### BIBLIOGRAFIA

Junquera C, Martínez-Ciriano C, Castiella T, Serrano P, Azanza MJ, Junquera SR. Immunohistochemical and ultrastructural characteristics of interstitial cells of Cajal in the rabbit duodenum. Presence of a single cilium. *J Cell Mol Med.* 2007. 11(4):776-87.

Vanderwinden JM, Gillard K, De Laet MH, Messam CA, Schiffmann SN. Distribution of the intermediate filament nestin in the muscularis propria of the human gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res.* 2002. 309(2):261-8.

## Modificación de la acción fisiológica de la FSH por las variantes genéticas de su receptor (FSHr)

Monge-Ochoa B.P.<sup>1</sup>, Cordero C.<sup>2</sup>, Montoro L.<sup>2</sup>, De Castro F.<sup>2</sup>, Montiel-Sosa F.<sup>3</sup>, Martínez-Redondo D., López-Pérez M.J.<sup>1</sup>, Díez-Sánchez C.<sup>1</sup>

1. Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza.
2. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Universidad Complutense, Alcalá de Henares.
3. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlan, Universidad Autónoma de México, Cuautitlan Izcalli, Estado de México, México.

### INTRODUCCIÓN

El número de folículos producidos por algunas pacientes sometidas a tratamiento de fertilidad parece no depender de los niveles sanguíneos de la FSH, apareciendo casos de una clara "resistencia" a la acción hormonal (hiperestimulación ovárica, HO). En este trabajo se ha estudiado la posible influencia que las variantes genéticas del receptor de la FSH (FSHr) pueden tener en la acción hormonal y en la aparición, por tanto, de la HO.

### OBJETIVO

Estudiar dos polimorfismos del FSHr como potenciales modificadores de la respuesta ovárica al tratamiento con FSH: uno en la región intracitoplasmática del FSHr (Ser-680-Asn) y otro en la región extracitoplasmática (Ala-307-Thr).

### MATERIAL Y MÉTODOS

La Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Príncipe de Asturias de Alcalá de Henares facilitó las muestras de sangre periférica de 250 pacientes sometidas a HO controlada, de las que se conocían diferentes parámetros fisiológicos (FSH basal, Estrógeno, folículos etc.). Todas las participantes

en el estudio firmaron su consentimiento informado. La determinación de los polimorfismos del gen FSHr se realizó por RFLPs.

### RESULTADOS

Las pacientes con el genotipo GG (Ser/Ser)<sub>680</sub> y AA (Ala/Ala)<sub>307</sub> del FSHr mostraron mayores niveles fisiológicos de FSH en el tercer día del ciclo (FSH3) (Student's t-test;  $p=0,002$  y  $p=0,0004$ , respectivamente). Así mismo se encontró una correlación negativa entre la producción de folículos y el nivel de FSH3 ( $p < 0,0001$ ;  $r: 0,28$ ).

### CONCLUSIONES

Los genotipos GG (Ser/Ser)<sub>680</sub> y AA (Ala/Ala)<sub>307</sub> del FSHr parecen determinar una mala respuesta ovárica a la hormona FSH, probablemente, como consecuencia de una menor interacción hormona-receptor. Esto podría deberse a un menor número de proteínas-receptor insertas en la membrana de las células de la granulosa o a una mala unión de la hormona al receptor. En ambos casos, una regulación feed-back alterada en el eje hipotálamo-hipofisario podría justificar el aumento de la secreción hipofisaria de la FSH.

## Degeneración axonal de la capa de fibras nerviosas de la retina en función del tratamiento recibido para la esclerosis múltiple

Elena García-Martin<sup>1</sup>, Victoria Pueyo<sup>1</sup>, José Ramón Ara<sup>2</sup>,  
Jesús Martín<sup>2</sup>, Miriam Idoipe<sup>1</sup>, Javier Fernández<sup>1</sup>, Isabel Pinilla<sup>1</sup>

1. Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS).

2. Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Neurología.

### OBJETIVOS

Evaluar el efecto del tratamiento patogénico de la esclerosis múltiple (EM) sobre la pérdida de fibras nerviosas de la retina (CFNR) mediante técnicas de análisis digital de imagen.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 155 ojos de 79 pacientes con EM, a los que se exploró la agudeza visual medida con optotipos de Snellen, el defecto de refracción y la visión de colores, y se realizó perimetría automatizada, tomografía de coherencia óptica (OCT), polarimetría láser (GDx) y potenciales evocados visuales (PEV). Este protocolo se repitió al año y los cambios observados fueron comparados según el tratamiento asignado mediante el test de Anova. Para ello se dividió la población en 4 grupos en función del tratamiento recibido: 1) Sin tratamiento 2) Interferón beta 1a, 3) Interferón beta 1b, 4) Acetato de glatirámero.

### RESULTADOS

No se detectaron diferencias significativas (test t,  $p > 0,05$ ) entre los pacientes con o sin tratamiento ni entre los 4 grupos, pero la mayoría de los parámetros funcionales y estructurales mostraron una tendencia a presentar mayores reducciones de la CFNR en el grupo sin tratamiento. La mayor variación apareció en el cuadrante temporal de la CFNR en la OCT (reducción de  $4.97 \mu\text{m}$  en pacientes sin tratamiento vs  $1.08 \mu\text{m}$  en los tratados).

### CONCLUSIONES

El tratamiento patogénico de la EM puede ser un factor protector para la reducción del espesor de la CFNR que se produce con la progresión de la enfermedad. Se necesitan más estudios para confirmar estos resultados.

## Haplogrupos mitocondriales con resistencia al Alzheimer: Estudio molecular y celular

**Aurora Gómez-Durán<sup>1,2</sup>, David Pacheu-Grau<sup>1,2</sup>, Julio Montoya<sup>1,2</sup>, Manuel José López-Pérez<sup>1,2</sup>, Eduardo Ruiz-Pesini<sup>1,2,3</sup>.**

1. Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza.
2. CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER). ISCIII. Miguel Servet 177. 50013, Zaragoza. Spain.
3. Fundación Aragón I+D.

Financiación: Proyecto, DGA PM-083/2008, FIS-PI08/0264.

La variación del DNA mitocondrial (mtDNA) ha sido relacionado en los últimos años con enfermedades ligadas a la edad tales como parkinson y alzheimer. En particular el haplogrupo Uk que se ha observado que está sobrerrepresentado en centenarios, y subrepresentado en la enfermedad de Parkinson y Alzheimer. Sin embargo, las evidencias celulares, bioquímicas o genético-moleculares son todavía muy limitadas. Para confirmar estos efectos, nosotros hemos construido 5 líneas celulares transmitocondriales (cíbridos), que comparten tanto el genoma nuclear como las condiciones de crecimiento,

y las hemos comparado con 5 del haplogrupo H, que se ha encontrado sobrerrepresentado en la enfermedades asociadas a la edad. Tras una cuidadosa atención a nuestro modelo de cíbridos, nuestros resultados revelan la existencia de diferencias entre ambos haplogrupos. Estos hallazgos, que ayudan a explicar las diferencias epidemiológicas de los haplogrupos mitocondriales, permiten entrever la posibilidad de una nueva disciplina, la farmacogenómica mitocondrial, que permitiría un tratamiento personalizado de acuerdo al genotipo mitocondrial.

## Diferencias en el espesor macular retiniano en sujetos sanos medido con Tomografía de Coherencia Óptica de dominio tiempo y con de dominio espectral

Miriam Idoipe, Elena García-Martín, Isabel Fuertes Lázaro, Laura Gil, Isabel Pinilla.

Servicio de Oftalmología. Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

### PROPÓSITO

Comparar las medidas de espesor macular en sujetos sanos de la tomografía de coherencia óptica (OCT) de dominio tiempo (Stratus OCT) con la de dominio espectral (Spectralis OCT).

### MÉTODOS

Se analizaron de modo prospectivo 55 sujetos sanos. A todos ellos se les realizó 3 mediciones con el tomógrafo de dominio tiempo (Stratus OCT, Carl Zeiss Meditec Inc., Dublin, Ca, USA), con la estrategia "fast macular thickness scan strategy". A continuación se les realizó tres mediciones con el OCT de dominio espectral (Spectralis OCT; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) con la estrategia "macular scan 512 x 128 volume cube". Se calcularon y se compararon los valores medios de las nueve áreas maculares correspondientes al las descritas en el "Early Treatment Diabetic Retinopathy Study" (ETDRS).

### RESULTADOS

Examinamos 55 sujetos sanos, 43 mujeres y 12 hombres, de edad media  $35,64 \pm 13,73$  años. El espesor central medio obtenido por el Status OCT fue de  $200,51 \pm 17,98$  micras; y de  $276,34 \pm 20,71$  micras el obtenido con el Spectralis OCT. Se calculó la t de Student para las medias de los espesores maculares de las nueve áreas correspondientes con el ETDRS de los dos tomógrafos, que demostró una diferencia estadísticamente significativa, siendo mayores en el Spectralis. El espesor central fue 75,83 micras mayor con el Spectralis que con el Stratus.

### CONCLUSIONES

Ambos tomógrafos presentan importantes diferencias en la medida del espesor macular. Estas diferencias puede explicarse por la banda de referencia usada como referencia externa: el Stratus emplea la unión de segmentos internos y externos de los fotorreceptores de la retina, mientras que el Spectralis usa el epitelio pigmentario de la retina como referencia externa.

## Los dilemas morales en el daño cerebral

Jiménez-Cortés, Marta Pilar<sup>1</sup>; Pelegrín Valero<sup>2</sup>, Carmelo; Olivera Pueyo, Javier<sup>2</sup>

1. Hospital de Barbastro (Huesca).
2. Hospital San Jorge (Huesca).

### INTRODUCCIÓN:

Un *dilema moral* es una narración breve en la que se plantea una situación posible en el ámbito de la realidad pero conflictiva a nivel moral, y se solicita o bien una solución razonada del conflicto o un análisis de la solución elegida por el sujeto protagonista de la historia.

Distintos trabajos sugieren una activación del córtex orbitofrontal en el procesamiento de información que implica juicios sociales y carga emocional.

### METODOLOGÍA

Muestra: 49 pacientes con criterios de TCE grave y que acudieron a centros de daño cerebral a lo largo de un año.

Elegimos 15 dilemas (5 no morales, 5 morales impersonales, 5 dilemas personales) del total de 60 dilemas utilizados en estudios de empatía y juicio moral.

Datos analizados con programa estadístico SPSS.

### HIPÓTESIS

El juicio moral disminuye tras sufrir un Traumatismo Craneoencefálico grave.

La localización anatómica de las contusiones parenquimatosas cerebrales postraumáticas objetivadas por técnicas de

neuroimagen se correlacionan con cambios en la cognición social (empatía y juicio moral).

### OBJETIVOS

Estudiar los cambios en la cognición social (empatía y juicio moral) en el daño cerebral adquirido postraumático. Estudiar las secuelas posteriores al TCE que alteran el juicio moral.

### RESULTADOS

Los pacientes con Cluster B de personalidad responden peor los dilemas morales ( $p=0,02$ ; 95%IC Beta=-0,3 a-0,028, a diferencia del Cluster C, con respuestas más apropiadas. Los pacientes con Trastorno de Personalidad Postraumático responden peor los dilemas morales (media tipo Apático: 9,6; media tipo desinhibido: 10,16; media sin Tr. Personalidad: 10,79). No encontramos relación con la gravedad de la lesión ni con características sociodemográficas. Los pacientes con lesiones frontotemporales derechas responden menos apropiadamente los dilemas morales (corroborado tras el análisis multivariante:  $p=0,029$ ).

### CONCLUSIONES

El juicio moral se ve alterado tras un TCE grave, ante todo en lesiones anteriores derechas.

La personalidad premórbida influye en las respuestas a los dilemas morales.

## Disminución de la capacidad empática tras un traumatismo craneoencefálico grave

Jiménez-Cortés, Marta Pilar<sup>1</sup>; Pelegrín Valero, Carmelo<sup>2</sup>, Olivera Pueyo, Javier<sup>2</sup>

1. Hospital de Barbastro (Huesca);

2. Hospital San Jorge (Huesca).

### INTRODUCCIÓN

La disminución de la capacidad empática emocional post-TCE aparece reflejada con rasgos de egocentrismo, lo que impide captar las necesidades de los otros, incluso en familiares o personas muy cercanas previas al traumatismo. La localización cerebral de la contusión es importante en la empatía postraumática ya que personas con lesiones anteriores tienen mayores dificultades empáticas que aquellas con lesiones posteriores.

### METODOLOGÍA.

Muestra: 49 pacientes con criterios de TCE grave y que acudieron a centros de daño cerebral a lo largo de un año.

Utilizamos dos pruebas que miden empatía, el Interpersonal Reactivity Index (IRI) y el Empathy Quotient (Cambridge). El IRI se administró a informadores (distinguiendo antes y después) y a pacientes. El Cambridge sólo a los pacientes.

Datos analizados con programa estadístico SPSS.

### HIPÓTESIS.

La capacidad empática disminuye tras sufrir un Traumatismo Craneoencefálico grave.

La localización anatómica de las contusiones parenquimatosas cerebrales postraumáticas objetivadas por técnicas de neuroimagen se correlacionan con los cambios en la cognición social (empatía y juicio moral).

### OBJETIVOS.

Estudiar los cambios en la cognición social (empatía y juicio moral) en el daño cerebral adquirido postraumático.

Comparar los cambios de la capacidad empática con la situación premórbida.

### RESULTADOS.

Existe disminución en las puntuaciones totales de empatía tras el TCE (IRI): media antes=78,27; después=74,35; disminuyen puntuaciones de las distintas dimensiones del IRI. Puntuación media de participantes: 79,59. Puntuación media Cambridge: 35,67 (sobre total de 80). Comparación medias IRI antes y después:  $p=0,038$ . Nivel de significación estadística en la comparación de medias de las cuatro dimensiones IRI excepto *Fantasía*. Comparación de medias IRI paciente y Cambridge:  $p=0,038$ . Diferencia puntuación en *Preocupación Empática* lesión frontotemporal derecha o izquierda ( $p=0,009$ ).

### CONCLUSIONES.

La capacidad empática disminuye tras un TCE grave.

Los pacientes con lesiones frontales derechas obtienen puntuaciones en empatía más bajas con respecto al resto de localizaciones cerebrales.

## Efecto protector de la melatonina frente a la toxicidad de la mitomicina C

**M. López-Vicente, S. Ortega-Gutiérrez, E. Martínez-Ballarín,  
L. López-Pingarrón, M.A. Sáenz, I. Cebrián, C. Berzosa, J.J. García.**

Fisiología del Envejecimiento y del Estrés Oxidativo (B40). Universidad de Zaragoza.

La mitomicina C (MMC) es un quimioterápico que reduce el crecimiento de las células tumorales por lesión de su ADN y generación de radicales libres. La melatonina es una indolamina con propiedades antioxidantes. Nuestro objetivo fue estudiar su actividad frente a las acciones prooxidante y genotóxica de MMC. Para ello se valoraron la concentración de eritrocitos policromáticos (PCE) micronucleados (MN) como un índice del daño oxidativo al ADN en sangre periférica y la cuantificación de malonildialdehido (MDA) y 4-hidroxi-alquenas (4-HDA) en homogeneizados de cerebro e hígado. 36 ratas Sprague-Dawley de  $100 \pm 10$ g se distribuyeron en 4 grupos (n=9): Control (tratado con vehículo), melatonina, MMC y MMC+melatonina. MMC (2 mg/Kg, dosis única, tiempo 0) y melatonina (10 mg/kg, cada 8 horas desde el día previo a MMC hasta la conclusión del estudio) se administraron intraperitonealmente. Se realizaron extensiones de sangre periféri-

ca a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas de administrar MMC que se tiñeron con naranja de acridina y se contó el número de MN-PCE por cada 1000 PCE. MDA+4-HDA se valoró por un método colorimétrico a las 96 horas de administrar MMC.

No hubo diferencias significativas en MN-PCE entre control y melatonina. MMC incrementó MN-PCE a las 24, 48, 72 y 96 horas, con un máximo a las 48 horas. Melatonina redujo significativamente los aumentos de MN-PCE en sangre periférica causados por MMC. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de MDA+4-HDA cerebrales y hepáticas entre los cuatro grupos. Estos resultados demuestran que bajo nuestras condiciones experimentales, MMC fue incapaz de inducir peroxidación lipídica a nivel cerebral y hepático, mientras que provocó la aparición de micronúcleos en sangre periférica, efecto que se contrarrestó por la administración de melatonina.

## Inmuno Preembedding Gold anti c-Kit en duodeno de rata

Luesma MJ.<sup>1</sup>, Cantarero I.<sup>1</sup>, Martínez C.<sup>1</sup>, Castiella T.<sup>2</sup>, Ramón y Cajal S.<sup>2</sup>, Álvarez-Dotu JM.<sup>2</sup>, Junquera C.<sup>1</sup>

1. Dpto. de Anatomía Histología Humanas. Facultad de Medicina.

Universidad de Zaragoza e Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. 50009. España.

2. Dpto. de Anatomía Patológica. Hospital Clínico "Lozano Blesa" e Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. 50009. Zaragoza

### INTRODUCCIÓN

Las Células Intersticiales de Cajal se localizan en los plexos nerviosos del intestino, alrededor de los ganglios e intercaladas entre las fibras nerviosas y el músculo liso. Establecen contactos con celulares musculares, vasos sanguíneos y entre sí, formando una red celular interconectada en el espesor del tracto gastrointestinal

A través de la técnica de *inmuno Pre-embedding gold anti C-Kit*, conseguimos la correlación entre un marcaje positivo de las Células Intersticiales de Cajal (positivas al c-kit marcado con oro coloidal) y su observación simultánea al microscopio electrónico.

### MATERIAL Y MÉTODO

Las muestras objeto de nuestro estudio son 4 duodenos de rata Long Evans de 3 meses de edad perfundidas con paraformaldehído al 4% en bomba de perfusión eléctrica. Las muestras intestinales se sumergen en una mezcla de fijadores compuesta de paraformaldehído al 4% y glutaraldehído al 0,5% durante 1 hora, luego se mantiene de nuevo durante toda la noche en postfijación con PFA al 4%. Al día siguiente se lavan con PB y se crioconservan en una mezcla de Sacarosa-PB azida.

La inmuno oro se desarrolla sobre cortes flotantes en placa multipocillo obtenidos por criostato. Una vez obtenidos los cortes a 60 micras se comienza con el protocolo de la inmuno Pre-embedding gold anti C-kit. Un paso preliminar importante es el pase por borohidruro sódico a 1% que contrarresta los efectos negativos del glutaraldehído, necesario para la observación nítida al microscopio electrónico. Sobre las técnicas de inmunohistoquímicas, cabe destacar la necesaria congelación de las muestras para facilitar la reacción ag-ac y, tras la incubación con lo anticuerpos, una intensificación con plata para aumentar el tamaño del grano. Se aplica protocolo de inclusión en araldita para su posterior observación al microscopio electrónico. Ésta se realiza entre 2 acetatos ya que la muestra es inferior a 100 micras. Se seleccionan al m. óptico la zona para cortes semifinos y posteriores ultrafinos.

### RESULTADOS

La positividad de las células Intersticiales de Cajal con la técnica de inmuno oro anti c-Kit se revela a través de un precipitado observado al microscopio electrónico, que se dispone en la superficie de la célula.

## Caracterización de una posible nueva mutación patológica en el gen mitocondrial ND1 asociada a neuropatía óptica hereditaria de Leber

Martínez-Romero, Iñigo<sup>1,2</sup>; Herrero-Martín M<sup>a</sup> Dolores<sup>1,2</sup>; López-Gallardo Ester<sup>1,2</sup>; Narberhaus Bernardo<sup>3</sup>; Ruiz-Pesini Eduardo<sup>1,2,4</sup>, Montoya Julio<sup>1,2</sup>

1. Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza.
2. CIBER de enfermedades raras (CIBERER). ISCIII.
3. Servicio de Neurología, Hospital Sant Joan de Déu, Fundación Althaia, Manresa, Barcelona..
4. Fundación ARAGÓN I+D.

La neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON) es un tipo de ceguera de herencia materna que afecta mayoritariamente a varones jóvenes provocando una pérdida aguda o subaguda de la visión central. Actualmente es la patología mitocondrial más importante en cuanto a su prevalencia y afecta casi exclusivamente a las células ganglionares de la retina (RGC), un tipo de neuronas implicadas en la transmisión de la señal visual.

Esta enfermedad está provocada por mutaciones puntuales en genes del DNA mitocondrial que codifican para subunidades del complejo I, y el mecanismo patológico se desconoce en la actualidad.

El 95% de los pacientes afectados, presentan una de las tres mutaciones: m.3460G>A/ ND1, m.11778G>A/ ND4, ó m.14484T>C/ ND6. Sin embargo, el resto de mutaciones, consideradas muy infrecuentes, no se analizan de rutina.

El objetivo de este trabajo consiste en detectar nuevas mutaciones que pudieran explicar el fenotipo LHON en estos pacien-

tes que no presentan alguna de las tres mutaciones patológicas. Para ello, se seleccionaron 33 pacientes. En uno de ellos se ha detectado la presencia de una posible mutación patológica, m.3472T>C en el gen mitocondrial ND1. Esta variante genética no está presente en la población control y afecta a un dominio aparentemente funcional del complejo I. Su presencia, en cíbridos transmitocondriales, provoca un defecto del 58% en la actividad del complejo I, un aumento del 28% en la actividad del complejo IV, un menor número de copias de mtDNA y una menor tasa de respiración en presencia de oligomicina y de un desacoplante, frente a su control de haplogrupo.

Aunque todavía se necesitan llevar a cabo más ensayos para caracterizar totalmente esta mutación, los resultados obtenidos hasta el momento hacen pensar que la variante genética 3472T>C, podría ser nueva mutación patológica asociada a neuropatía óptica hereditaria de Leber.

Financiado por: ISCIII-FIS PI080045.

## Redes Neuronales en Nanotubos de Carbono: Funcionalizaciones Específicas para Procesos Neurotróficos, Neurodegenerativos y de Plasticidad Sináptica

R. N. Pérez-Bruzón<sup>1</sup>, M. J. Azanza<sup>1</sup>, A. Ansón<sup>2</sup>, M. González<sup>2</sup>, R. del Moral<sup>3</sup>, P. Marijuán<sup>3</sup>, M. T. Martínez<sup>2</sup>

1. Laboratorio de Magnetobiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza.
2. Grupo de Nanoestructuras de Carbono y Nanotecnología. Instituto de Carboquímica, CSIC, Zaragoza.
3. Grupo de Bioinformación y Sistemas Biológicos. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza.

El objetivo de este estudio es utilizar los nanotubos de carbono como sustrato para el crecimiento neuronal. Se analizarán, a escala nanométrica, los efectos de la presencia de determinados factores neurotróficos, en el desarrollo y el crecimiento de la red neuronal, así como las posibles consecuencias en la formación de conexiones, en la aparición y degradación de sinapsis, en las propiedades de interconexión eléctrica, y en el procesamiento de la información global que podrían emerger en las redes neuronales establecidas.

Las prometedoras cualidades de los nanotubos como sustrato, proporcionando un andamiaje extracelular con capacidad de dirigir el crecimiento de las neuritas mediante el aporte de señales adecuadas de orientación y regulando su ramificación, se pueden ver realzadas a través de la funcionalización micro-aplicada. Todo ello permitirá el estudio de la formación y regeneración de las sinapsis que subyace al procesamiento de información entre neuronas, y al fenómeno del aprendizaje y memoria, atendiendo principalmente a los cambios inducidos por dicha micro-funcionalización en el

establecimiento de las espinas dendríticas, incluyendo la exploración de las patologías neurodegenerativas a nivel de la sinapsis. Con el fin de abordar la funcionalidad eléctrica de las sinapsis, se completará el estudio desde un enfoque electrofisiológico, registrando tanto la conectividad y excitabilidad, como la corriente espontánea postsináptica (PSC) excitatoria e inhibitoria de las redes neuronales formadas mediante registros electrofisiológicos con la técnica de patch-clamp.

Atendiendo al enfoque reticular intrínseco al tejido neuronal, se explorará la obtención de topologías especiales de redes neuronales. Con dichas topologías se abren múltiples posibilidades que van desde la elaboración de *neuroprótesis* a la construcción de redes neuronales biológicas y que implementarían, en la medida de lo posible, las propiedades topológicas de las redes neuronales artificiales. La perspectiva de "*neurochips de memoria*" basados por fin en el crecimiento de la neurona viva podría estar abriéndose a través de los cultivos neuronales en nanotubos de carbono.

## Características de las células precursoras de epitelio pigmentario retiniano humano

Isabel Pinilla<sup>1</sup>, Nicolás Cuenca<sup>2</sup>, Elena García-Martín<sup>1</sup>,  
Laura Fernández-Sánchez<sup>2</sup>, Miriam Idoipe<sup>1</sup>, Lynda Wright<sup>3</sup>, David Gamm<sup>3</sup>

1. Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.
2. Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante.
3. Waisman Center. Universidad de Wisconsin, Madison.

### OBJETIVOS

Determinar si las células de epitelio pigmentario retiniano (EPR) prenatal humano en cultivo de esferoides, expresan marcadores de EPR maduro, proteínas de tight-junction y si secretan componentes de la membrana de Bruch.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El EPR de donantes humanos prenatales se seccionó y permitió su cultivo en suspensión en medio libre de suero con B27. Las células crecieron en agregados esféricos. En distintos tiempos del cultivo, se retiraron los esferoides más pigmentados y se fijaron con PFA 4%, se crioprotegieron con dosis crecientes de sacarosa, embebidos en OCT, cortados en secciones de 16  $\mu\text{m}$  y estudiados mediante inmunocitoquímica. Se observaron cortes mediante ME.

### RESULTADOS

En el interior de los esferoides, las células de EPR se localizaban rodeando un espacio central donde encontramos lami-

nina. Las células expresaban marcadores de tight-junctions como el Zo-1, ezrin y occludina. En el citoplasma de alguna de las células había expresión de CRALBP, RPE65 y PEDF. Cuando los esferoides se mantenían en cultivo de modo prolongado, se observaba en el esferoide una disminución del número de células de EPR con un aumento de su pigmentación y de detritus. En ME las células de EPR se localizaban sobre una capa de fibroblastos, con microvellosidades hacia el exterior del esferoide y pigmento intracelular.

### CONCLUSIONES

Las células prenatales de EPR mantenidas en suspensión de esferoides expresan marcadores de EPR maduro y de tight junctions y son capaces de secretar laminina, un componente fundamental en la membrana de Bruch.

## Comparación de los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar con Tomografía de Coherencia Óptica de dominio Fourier y de dominio tiempo

Isabel Pinilla, Elena Garcia-Martin, Miriam Idoipe, Isabel Fuertes, Laura Gil

Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

### OBJETIVOS

Comparar las mediciones de los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) peripapilar en ojos de sujetos sanos empleando dos técnicas diferentes de tomografía de coherencia óptica (OCT): OCT de dominio Fourier (Cirrus OCT; Carl Zeiss Meditec, Dublin, California) y OCT de dominio Tiempo (Stratus; Carl Zeiss Meditec, Dublin, California).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 132 ojos de sujetos sanos (40 hombres, 92 mujeres) con edades comprendidas entre 19 y 65 años. Todos ellos fueron sometidos a una exploración oftalmológica completa, con medición de la agudeza visual (AV), PIO, examen de fondo de ojo y realización de tres protocolos de consecutivos de la CFNR empleando Cirrus HD OCT y otros tres similares

empleando Stratus OCT. Se compararon los resultados obtenidos con cada uno de ellos empleando el test de la t de Student para variables pareadas.

### RESULTADOS

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos aparatos para el espesor medio de la CFNR ( $p=0,042$ ) y para 6 de los 12 sectores horarios papilares (sectores superiores y nasales). El espesor medio de la CFNR fue 2,94  $\mu\text{m}$  mayor usando Stratus OCT (95,62 vs 97,69  $\mu\text{m}$ ).

### CONCLUSIONES

Ambos dispositivos de OCT proporcionaron buenas mediciones de la CFNR pero existen diferencias entre ambos. La CFNR medida con Cirrus OCT muestra menores valores que los proporcionados por el Stratus OCT.



## Valor de la tomografía de coherencia óptica en el estudio del nervio óptico de pacientes con esclerosis múltiple

Erika Ruiz de Gopegui Bayo, Fco. Javier Ascaso Puyuelo, Cristina Iñiguez Martínez

Servicio de Oftalmología. HCU Lozano Blesa. Zaragoza.

### INTRODUCCION.

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta a la sustancia blanca del SNC. Constituye el segundo motivo más frecuente de discapacidad en el adulto joven, siendo la disfunción visual una de sus principales causas. La medida del daño axonal tiene una importancia crucial en el pronóstico. La Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) es una técnica no invasiva, totalmente incruenta, que realiza mediciones de espesor de capa de fibras nerviosas retinianas (CFNR), de modo fidedigno, objetivo y reproducible, así como de la morfología de la cabeza del nervio óptico (NO).

Se ha propuesto la OCT como instrumento de detección precoz de daño neurológico, no sólo como monitorización y seguimiento de NO, también en pacientes asintomáticos visualmente. El propósito del estudio es evaluar la presencia de alteraciones retinianas a nivel de la CFNR peripapilares y determinar la capacidad de la OCT en la detección del daño axonal.

### MATERIAL Y MÉTODOS.

Estudio comparativo de 96 ojos (77 pacientes) divididos en 4 subgrupos según: hayan sufrido un episodio agudo de NO en contexto de EM, ojos contralaterales, ojos de pacientes con EM sin historia de NO y controles de pacientes sanos.

Se utilizó el STRATUS OCT de Zeiss para obtener mediciones de espesor de CFNR (Fast RNFL Thickness).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Según nuestros resultados, existe una disminución en el espesor de la CFNR tras un proceso inflamatorio agudo, en este caso una NO retrobulbar, así como en ojos contralaterales. En cambio, no se produce reducción en pacientes con EM sin historia de NO.

El OCT es capaz de demostrar una disminución del grosor de la CFNR, más evidente en ojos con historia previa de NO, pero también sugiere la existencia de un daño significativo en ojos aparentemente sanos, sin afectación clínica previa, de pacientes con EM.

## Complejidad de pacientes médico-quirúrgicos hospitalizados: Depresión, parámetros biológicos y Enfermedad Física

Barcones MF., Santabárbara J., Campayo A., Lobo A., Grupo GZEMPP

Hospital Clínico Universitario, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud y Universidad de Zaragoza.

### OBJETIVO

Estudiar la hipótesis de la posible asociación entre trastornos depresivos, parámetros biológicos y enfermedad física en pacientes médico-quirúrgicos hospitalizados.

### MATERIAL Y MÉTODO

Muestra: Pacientes consecutivos de 18 ó más años ingresados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico Universitario, que cumplan criterios de inclusión y exclusión de depresión o controles para probar las hipótesis con suficiente potencia estadística.

Instrumentos: Versiones españolas, validadas, del Hospital Anxiety and Depresión Scale (HAD Scale), Examen Cognoscitivo Mini-Mental (ECMM), CAGE, Índice Acumulativo de Enfermedad (IAE), Entrevista Psiquiátrica Estandarizada Polivalente (EPEP) y parámetros biológicos (hematológicos y bioquímicos). Criterios diagnósticos psiquiátricos CIE-10, DSM-IV-TR y médicos CIE-9 MC.

Diseño: Estudio descriptivo, con cribado por lay interviewers (HAD Scale, MEC, CAGE, IAE) y examen por clínicos estandarizados (EPEP), de los "casos probables" de depresión y "probables no casos".

Análisis Estadísticos: Comparación de medias mediante el test de T-Student o U-Mann Whitney y de categorías mediante Tablas de Contingencia (Chi-cuadrado).

### RESULTADOS

Se incluyen en el estudio setecientos nueve pacientes hospitalizados en plantas de Medicina Interna Neumología, y 497 (70.1 %) cumplen criterios de inclusión y exclusión.

Los pacientes deprimidos presentan mayor número de parámetros biológicos alterados ( $p < 0,05$ ) (tales como leucocitos, calcio y fósforo) y mayor gravedad de la enfermedad médica y número de diagnósticos médicos al alta hospitalaria ( $p < 0,05$ ).

### CONCLUSIONES

Hay una asociación entre la depresión, número de alteraciones biológicas y gravedad de la enfermedad somática. Estos datos apoyan la complejidad de los pacientes médicos-quirúrgicos hospitalizados y sugieren que sería conveniente un organizado plan de detección e intervención.

## Hipocondriasis y Síntomas depresivos en Medicina Interna: Estudio FA-MIDEP

Buil-Labat M.<sup>1</sup>, Torrubia CB.<sup>2</sup>, Gracia-García P.<sup>3</sup>, Alvarez-Silva I.<sup>3</sup>, Irigoyen I.<sup>3</sup>, Santabárbara J.<sup>1</sup>, García-Barrecheguren A.<sup>2</sup>, Fanlo-Meroño C.<sup>2</sup>, Campayo A.<sup>3</sup>

1. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS), Zaragoza, Aragón, España.
2. HCU Zaragoza. Servicio de Medicina Interna.
3. HCU Zaragoza. Unidad de Psiquiatría Psicosomática y de Enlace.

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Este trabajo se sitúa en el contexto de un extenso estudio sobre mortalidad en pacientes deprimidos, hospitalizados en Medicina Interna, y seguidos en Atención Primaria. El Índice Whiteley es una puntuación del instrumento IBQ de Pilowsky. Los sujetos con puntuación alta presentan excesiva preocupación somática, convicción de enfermedad y fobia, con alta probabilidad de hipocondriasis.

Los objetivos específicos de este trabajo: 1) Presencia de síntomas depresivos, y distribución muestral de covariables; 2) Relación con Índice Whiteley; 3) Presentación de 3 modelos de regresión de síntomas depresivos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes consecutivos ingresados en Medicina Interna, del HCU Lozano Blesa, Zaragoza (n=299). Análisis de regresión n=167 (variables incompletas).

Instrumentos, versiones españolas estandarizadas: Entrevista Psiquiátrica Polivalente Estructurada (EPEP), Índice acumulativo de Enfermedad (IAE), SF-36, EuroQol, Escala hospitalaria de Ansiedad y Depresión (HADS), y Cuestionario de Conducta de Enfermedad (IBQ de Pilowsky Y Spence).

Análisis estadísticos: descriptivos, U de Mann Whitney, correlaciones Rho de Spearman, y regresión logística binaria.

### RESULTADOS

Media de edad 76'35 años, el 52'5% mujeres. La prevalencia de síntomas depresivos en la muestra es del 30,4% (n = 91).

Los pacientes con síntomas depresivos presentan una edad media superior, mayor número de mujeres, gravedad somática, IW y nº de días de ingreso, e igual nº de diagnósticos, que los pacientes sin síntomas. Diferencias significativas Edad, Sexo, e IW.

El IW correlaciona positiva y significativamente con duración del ingreso, síntomas depresivos, no así con Gravedad somática y número de diagnósticos.

El modelo de regresión final presenta como única variable predictora el IW (OR = 1,32), ajustado por variables sociodemográficas y hospitalarias.

### CONCLUSIONES

El riesgo de los pacientes con hipocondriasis de padecer síntomas depresivos (OR=1.32), junto a un uso mayor de los recursos hospitalarios sin estar relacionado con la gravedad somática, justifica seguir trabajando en la Conducta de enfermedad.

## Estudio FA-MIDEP: Illness Behavior Questionnaire, estudio de la Fiabilidad interexaminadores en nuestro medio

**Buil-Labat M.<sup>1</sup>, Torrubia CB.<sup>2</sup>, Marcos G.<sup>4</sup>, Gracia-García P.<sup>3</sup>, Alvarez-Silva I.<sup>3</sup>, Corbera M.<sup>3</sup>, Sánchez M.<sup>2</sup>, Santabábara J.<sup>1</sup>, Campayo A.<sup>3</sup>**

1. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS), Zaragoza, Aragón, España.
2. HCU ZARAGOZA. Servicio de Medicina Interna.
3. HCU ZARAGOZA. Unidad de Psiquiatría Psicosomática y de Enlace.
4. Universidad de Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Este trabajo se sitúa en el contexto de un extenso estudio sobre mortalidad en pacientes deprimidos, hospitalizados en Medicina Interna, y seguidos en Atención Primaria. Un objetivo de este estudio es evaluar la fiabilidad y validez del Cuestionario de conducta de enfermedad IBQ de Pilowsky. La conducta anormal de enfermedad se define como la persistencia de un modo inapropiado o desadaptativo de percibir, evaluar y actuar en relación al estado de salud de una persona, a pesar de la explicación razonable del médico, de la naturaleza de la enfermedad y tratamiento, y de la oportunidad de diálogo que da el médico al paciente. El instrumento más notable en la medición de la conducta anómala de enfermedad es el IBQ de Pilowsky.

Los objetivos específicos de este trabajo son: 1) Presentar un organigrama del estudio. 2) Analizar y presentar los datos de fiabilidad interexaminadores IBQ, los índices Kappa para las diferentes subescalas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes consecutivos ingresados en Medicina Interna, HCU Zaragoza. De una muestra de 299 pacientes, se han tomado mediciones en paralelo del IBQ, 2 examinadores diferentes, en 21 pacientes.

Utilización de versiones españolas estandarizadas: Entrevista Psiquiátrica Polivalente Estructurada (EPEP), Índice acumulativo de Enfermedad (IAE), SF-36, EuroQol, Escala hospitalaria de Ansiedad y Depresión (HADS), y Cuestionario de Conducta de Enfermedad (IBQ de Pilowsky Y Spence).

Análisis estadísticos: índices de acuerdo Kappa.

### RESULTADOS

Las tablas muestran los coeficientes de acuerdo interexaminadores, destacan:

Convicción de Enfermedad  $k=0.942$ , Percepción Psicológica  $k=1.00$ , Trastorno Afectivo  $k=0.94$ , Inhibición Afectiva  $k=0.82$  y Negación  $k=1.00$ .

### CONCLUSIONES

La factibilidad del instrumento es adecuada.

Los índices de acuerdo confirman la hipótesis de que es adecuada la fiabilidad inter-examinadores, que puede ser incluso mejorada.

Nuevos estudios adecuaran los ítems de baja fiabilidad.

Hacen falta estudios en muestras más amplias para documentar mejor su validez y su utilidad.

## Amnesia semántica en TCE

Jaime Fregenal, Patricia<sup>1</sup>; Guallart Balet, Marí<sup>1</sup>; Gracia García, Patricia<sup>2</sup>

1. Asociación de Traumatismo encéfalo-craneal y daño cerebral de Aragón (ATECEA).

2. Hospital Clínico Universitario de Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

Los traumatismos craneoencefálicos suponen una de las causas más importantes de muerte en los países desarrollados, especialmente en jóvenes. La mayoría por accidentes de tráfico, seguidos de traumatismos casuales y accidentes laborales.

Los avances en el conocimiento de los mecanismos de los traumatismos, han permitido el abordaje terapéutico de muchos de los TCE graves.

Sin embargo, secundariamente ha aumentado el número de personas con graves secuelas neurológicas, situándolos como uno de los más graves problemas de salud de las sociedades desarrolladas. En pacientes con daño cerebral traumático pueden darse defectos cognitivos estrictamente focales, más probables tras lesiones penetrantes. Estos pacientes requieren una evaluación detallada de funciones mnésicas, lenguaje y competencia visoespacial. El daño en el hemisferio dominante se asocia con diversas dificultades en distintos aspectos del lenguaje.

La incidencia de pacientes con déficit de amnesia semántica tan marcada no es frecuente y su evolución no suele presentarse de forma favorable tanto en tiempo como en resultados y así se describe en la literatura científica.

La amnesia semántica consiste en una pérdida de la información respecto al significado de las palabras y sus correlatos pictóricos.

Las regiones anterior (polo) e inferolateral del lóbulo temporal izquierdo anterior juegan un papel clave en la recuperación de información semántica.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudia un caso de TCE grave, con secuelas de amnesia semántica severa

El paciente acude durante un año a la asociación de daño encéfalo-craneal de Aragón (ATECEA) con una asiduidad semanal de terapia logopédica y neuropsicológica.

Se recogen los datos de las valoraciones (inicial y post) y se realiza un estudio descriptivo. Asimismo se describe el programa de rehabilitación realizado, con los objetivos en función de la fase de tratamiento.

### RESUMEN DE LOS RESULTADOS

Se muestra una clara evolución tanto a nivel de categorías semánticas, comprensión de órdenes orales y escritas, fluidez verbal y de pensamiento, memoria verbal tanto en fase de codificación como recuperación, razonamiento verbal y conciencia de déficit adecuada a su situación.

## **Detección de la atrofia de las capas de la retina en pacientes con retinosis pigmentaria mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral**

**Elena García-Martín, Isabel Pinilla, Miriam Idoipe, Isabel Fuertes, Laura Gil, Emilio Abecia**

Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS).

### **OBJETIVOS**

Estudiar si las imágenes obtenidas con los OCT de dominio espectral permiten detectar la atrofia de las capas de la retina que se produce en los pacientes con retinosis pigmentaria (RP).

### **MATERIAL Y METODOS**

Se realizó una exploración oftalmológica completa de 10 ojos de pacientes con RP y 20 ojos de sujetos sanos. En todos los individuos se midió la agudeza visual (AV) con optotipos de Snellen, la visión cromática con las 20 láminas pseudocromáticas de Ishihara, se realizó un campo visual y se tomaron tres registros consecutivos del espesor retiniano a nivel de la mácula empleando el protocolo del cubo 512x128 del Cirrus HD OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, California) y otros tres registros similares con el Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Alemania). Se calculó la media y la desviación estándar de

las mediciones obtenidas para cada paciente en las 9 áreas del polo posterior definidas en el Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS).

Se compararon los resultados obtenidos en ambos grupos (sanos y sujetos con RP) mediante el test no paramétrico de U de Mann Whitney.

### **RESULTADOS**

La retina de los pacientes con RP presenta una disminución de espesor respecto a los sujetos normales en las áreas en todas las áreas del ETDRS, siendo esta diferencia significativa en la mayoría de ellas ( $p < 0,05$ ).

### **CONCLUSIONES**

Los nuevos dispositivos de OCT de dominio Fourier permiten detectar la atrofia macular secundaria a la RP.

## Reproducibilidad intra e interoperador para la medición del espesor de la capa de fibras nerviosas de la retina con tomografía de coherencia óptica de dominio fourier

Elena Garcia-Martin, Isabel Pinilla, Miriam Idoipe, Laura Gil, Isabel Fuertes, Victoria Pueyo

Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS).

### OBJETIVOS

Estudiar la reproducibilidad de las mediciones de los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) en ojos de pacientes sanos empleando un dispositivo de última generación de tomografía de coherencia óptica (OCT) de dominio Fourier (Cirrus HD OCT; Carl Zeiss Meditec, Dublin, California)

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 72 ojos de pacientes sanos (45 mujeres y 27 hombres) con edades comprendidas entre 20 y 60 años. Todos ellos fueron sometidos a una exploración oftalmológica completa, con medición de la agudeza visual (AV), campimetría y realización de tres protocolos de consecutivos de la CFNR empleando Cirrus HD OCT. Esta prueba se repitió con similar protocolo en un período de tiempo inferior a 15 días por otro operador diferente. Se realizó un estudio de la reproducibilidad del aparato empleando los coeficientes de variación

(COV) y los índices intraclase (ICC) para las mediciones del espesor medio, los 4 cuadrantes y los 12 sectores horarios de la CFNR que proporciona el aparato. Se compararon los resultados obtenidos en cada visita empleando el test t de Student para variables pareadas.

### RESULTADOS

El COV medio para las mediciones de los espesores de la CFNR con el Cirrus OCT fue de 1,2% y los ICC fueron superiores a 0,886 en todos los parámetros estudiados. La diferencia media entre los resultados obtenidos por los dos observadores fue inferior a 3 micras y no se demostraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

### CONCLUSIONES

La reproducibilidad del Cirrus HD OCT para medir los espesores de la CFNR en sujetos sanos es excelente.

## Ensayo clínico aleatorizado de un programa de reforzamiento para musculatura intrínseca cervical en sujetos asintomáticos

Octavio García Santesteban, Silvia Pérez Guillén, M<sup>a</sup> Orosia Lucha López, Miguel Malo Urriés, Héctor Aguilar Cabrera, Alazne Ruiz de Escudero Zapico, Alberto Rubio Peiroten, José Miguel Tricás Moreno.

Unidad de Investigación en Fisioterapia. Escuela Universitaria Ciencias de la Salud de Zaragoza. OMT-España.

La ecografía permite medir de forma fiable, efectiva y precisa el tamaño de los músculos multifidos cervicales en el nivel vertebral C4 en sujetos asintomáticos. El tamaño del multifido es un indicador importante para determinar si el músculo es capaz de llevar a cabo su función de estabilización. Un entrenamiento muscular específico en sujetos con dolor lumbar dio como resultado un incremento de la sección transversal de los multifidos en esta región. Numerosas investigaciones sugieren que los músculos cervicales posteriores profundos proporcionan estabilidad segmentaria durante el movimiento del cuello, sin embargo no hay estudios que relacionen el aumento de la sección transversal con un programa de reforzamiento.

La muestra estaba constituida por 27 sujetos asintomáticos, asignados en grupo control y grupo de intervención. Criterios exclusión: dolor cervical al comienzo del estudio, historia de traumatismo cervical previo y test de seguridad de la columna cervical superior positivos. La sección transversal de los multifidos y rotadores cortos cervicales de C4-C5 se midió con el ecógrafo a 10 Hz. Se realizaron 32 sesiones de programa con

cinco ejercicios de estabilización. Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS 15.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en: área ( $p=0,67$ ), perímetro ( $p=0,43$ ), anchura ( $p=0,19$ ) y largura ( $p=0,053$ ), en primera medición.

Ni en el grupo de reforzamiento ni en el control no se encontraron diferencias estadísticamente significativas tras el programa de ejercicios en las variables a estudio. En el estudio comparativo entre grupos no estableciéndose diferencia estadísticamente significativas en: área ( $p=0,70$ ), perímetro ( $p=0,59$ ), anchura ( $p=0,84$ ) ni largura ( $p=0,82$ ).

### CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que el programa de reforzamiento de la musculatura intrínseca cervical no produce un aumento de su sección transversal.

### PALABRAS CLAVE

Sección transversal, reforzamiento muscular, multifidos, ecografía.

## Comparación de medición de espesor macular en pacientes diabéticos tipo 2 con Spectralis OCT y Stratus OCT

Gil-Arribas, L; García-Martín, E; Idoipe, M; Fuertes, I; Pinilla, I.

Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza.

### OBJETIVO

Comparar el espesor macular medido con OCT dominio tiempo (Stratus OCT) y OCT dominio espectral (Spectralis OCT) en pacientes diabéticos tipo 2.

### MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio prospectivo de 49 pacientes diabéticos tipo 2. Se incluyeron 21 mujeres (42,9%) y 28 hombres (57,1%). Un ojo de cada paciente fue elegido de forma randomizada y sometido a tres mediciones del espesor macular con Spectralis OCT y Stratus OCT, respectivamente. Se calculó el promedio de todas las mediciones obtenidas. Se compararon los valores de las 9 áreas correspondientes al Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) con los dos sistemas.

### RESULTADOS:

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en todas las medidas maculares entre los dos sistemas ( $p < 0,001$ ). El promedio del espesor macular obtenido con Stratus OCT fue de  $194,56 \mu\text{m}$  ( $\pm 12,04$ ). El promedio del espesor macular obtenido con Spectralis OCT fue de  $266,84 \mu\text{m}$  ( $\pm 12,22$ ). La diferencia de los valores foveales entre los dos sistemas fue aproximadamente de  $72,28 \mu\text{m}$  ( $\pm 9,67$ ). Los valores de espesores de retina fueron mayores con Spectralis OCT.

### CONCLUSIÓN:

Las medidas maculares obtenidas con Spectralis OCT son mayores que con Stratus OCT en pacientes diabéticos tipo 2. Los resultados son consistentes con los obtenidos en sujetos sanos en las mismas condiciones.

## Estudio de fiabilidad intra e interexaminador mediante dinamometría y ecografía para la detección de los grados de tracción caudal de la articulación coxofemoral en sujetos sanos y en sujetos con coxartrosis

**Cesar Hidalgo García, Elena Estebanez de Miguel, M<sup>a</sup> Orosia Lucha López, Santos Caudevilla Polo, Elena Bueno Gracia, Silvia Pérez Guillén, Octavio García Santesteban, Jose Miguel Tricás Moreno**

Unidad de Investigación en Fisioterapia. Escuela Universitaria Ciencias de la Salud de Zaragoza. OMT-España.

Los movimientos del juego articular translatorio mediante tracción, compresión y deslizamiento se usan para diferenciar las disfunciones intraarticulares de las extraarticulares. La capacidad de detectar el juego articular translatorio depende de la habilidad del fisioterapeuta de sentir la resistencia de los tejidos en la articulación. La hipótesis clínica en terapia manual sugiere que la articulación hipomóvil presenta una disminución de esta cantidad de tracción y un aumento de la resistencia tisular a la separación respecto a la articulación normal. No se ha hallado ningún estudio de fiabilidad previo sobre la tracción caudal de la articulación coxofemoral.

El objetivo es valorar la fiabilidad intra-Inter examinador en la detección del inicio de la ZT y la primera parada durante la tracción coxofemoral en sujetos sanos y en sujetos diagnosticados de coxartrosis (grado IV Kellgren-Lawrence), a partir de la medición de la fuerza ejercida con un dinamómetro y la distancia de separación articular con un ecógrafo así como estudiar la posible relación entre la Fuerza de tracción realizada y la distancia de separación de las carillas articulares de la articulación coxofemoral en sujetos sanos y sujetos con coxartrosis.

Dos examinadores realizaron alternativamente una tracción caudal midiendo la fuerza con dinamometría y visualizando la tracción con ecografía deteniéndose en la primera resistencia y primera parada dos veces sobre 18 caderas sanas y 18 caderas artrosicas. Se realizó un análisis estadístico con el programa SPSS 15.0 con un estudio descriptivo y comparativo de los valores de ambos evaluadores. Se aplicó el coeficiente de correlación intraclass para el estudio de la fiabilidad.

La fiabilidad intraexaminador tanto para la variable fuerza como distancia en ambos grupos fue excelente y sólo fue moderada a buena en un valor. La fiabilidad interexaminador tanto para la variable fuerza como distancia fue de moderada a buena siendo la medición de la primera parada más fiable que el inicio de la zona de transición.

Al alcanzar el inicio de la ZT y la primera parada, la fuerza necesaria es significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) y la separación articular es significativamente menor ( $p < 0,001$ ) en el grupo de coxartrosis respecto al grupo sano con lo que se verifica la hipótesis clínica sobre la hipomovilidad articular.

## Diferencias en la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina peripapilar medida mediante tomografía de Coherencia óptica (OCT) de dominio tiempo y de dominio espectral en pacientes con diabetes Mellitus tipo I sin retinopatía

Miriam Idoipe<sup>1</sup>, Elena García-Martín<sup>1</sup>, Isabel Pinilla<sup>1</sup>, Javier Acha<sup>2</sup>, Isabel Fuertes Lázaro<sup>1</sup>, Laura Gil<sup>1</sup>.

1. Servicio de Oftalmología. Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

2. Servicio de Endocrinología. Hospital Universitario Miguel Servet.

### PROPÓSITO

Comparar las medidas de la Capa de Fibras Nerviosas de la Retina (CFNR) entre la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) de dominio tiempo y la de dominio espectral en pacientes con Diabetes Mellitus (DM) tipo I sin retinopatía, y obtener una fórmula para extrapolar los resultados del OCT de dominio tiempo al espectral.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 30 pacientes con DM sin retinopatía estudiados de forma prospectiva y consecutiva. A todos los pacientes se les realizó análisis de nervio óptico mediante OCT Stratus (Stratus OCT, Carl Zeiss Meditec, Inc.) con estrategia de escaneo "fast RNFL thickness scan strategy" mediante OCT Cirrus (Cirrus HD OCT, Carl Zeiss Meditec, Inc.) con estrategia de escaneo "optic disc scan strategy". Los datos obtenidos de los dos tomógrafos fueron comparados, tanto el espesor medio, como las medias obtenidas por cuadrantes.

### RESULTADOS

El espesor medio de la CFNR fue de  $100,02 \pm 11,28$  micras con el Stratus OCT y de  $95,35 \pm 8,38$   $\mu\text{m}$  con el Cirrus OCT. Todas las medias, tanto el espesor medio, como las medias por cuadrantes, mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de ambos tomógrafos excepto en el cuadrante nasal. Encontramos que el espesor medio del Stratus fue 4,67 micras mayor que la del Cirrus.

### CONCLUSIONES

Las diferencias encontradas pueden deberse a la mayor precisión en la adquisición de imágenes de los nuevos tomógrafos de dominio espectral (Cirrus) y a las pequeñas diferencias en la banda de referencia del límite interno en sus mediciones de la CFNR.

## La enfermedad de Meniere. ¿Existe una implicación mitocondrial?

**Pacheu-Grau D<sup>1,2</sup>, Gómez-Durán A<sup>1,2</sup>, Pérez-Delgado L<sup>3</sup>, Gómez-Díez C<sup>3</sup>, Pérez Pérez ML<sup>3</sup>, Anguás Gracia A<sup>3</sup>, Montoya J<sup>1,2</sup>, Ruiz-Pesini E<sup>1,2,4</sup>.**

1. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza.
2. Centro de Investigación biomédico en red de enfermedades raras (CIBERER).
3. Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.
4. Fundación Aragón I+D.

La enfermedad de Meniere es una afectación del oído interno que cursa con vértigo, náuseas y vómitos. A pesar de que existe un elemento patogénico común (la alteración de la presión linfática en los canales semicirculares de la coclea) no existe una etiología clara para esta enfermedad. Hoy en día existen varios tratamientos, dependiendo de la gravedad de la enfermedad. Uno de ellos consiste en la inyección intratimpánica de gentamicina (un aminoglicósido). El problema de este tratamiento es que puede conllevar una pérdida de audición. Los aminoglicósidos han sido relacionados con sordera mitocondrial no sindrómica, habiéndose descrito mutaciones en los RNAs ribosómicos mitocondriales (mt-rRNAs) asociados a esta pérdida de audición, siendo estas principalmente los cambios m.1555A>G y m.1494C>T. Una posible explicación para esta pérdida de audición sería la presencia de mutaciones en los mt-rRNAs unidos al tratamiento con aminoglicósidos. En este estudio se pretende analizar la posible implicación mitocondrial en el fenotipo de pérdida de audición asociado al tratamiento con aminoglicósidos en enfermos de Meniere. Para ello se han estudiado: los genes de los mt-rRNAs (12S y 16S)

en busca o bien de mutaciones ya descritas o de otras nuevas; otros polimorfismos mitocondriales situados en otros genes y que pudiera tener también un efecto fenotípico (SNPs que definen haplogrupos), y un gen nuclear relacionado con la metilación de residuos en los mt-rRNAs y que ya ha sido relacionado con cambios en la susceptibilidad mitocondrial a los aminoglicósidos (mt-TFB1).

No hemos encontrado mutaciones patológicas en los genes estudiados, que pudieran denotar una clara implicación mitocondrial con la enfermedad de Meniere. Sin embargo si que se han encontrado polimorfismos poblaciones presentes o bien solo en pacientes o solo en controles, que podrían ser factores de susceptibilidad de la enfermedad, reforzando así la hipótesis de que la enfermedad de Meniere es una enfermedad compleja en la podrían interaccionar varios genomas ( mitocondrial y nuclear) con el ambiente.

Financiación: CIBERER-Proyecto Intramural. INTRA07/727.1  
Proyecto FIS PI070045. Proyecto FIS PI080264. Proyecto DGA PM-083-2008.

## Reproducibilidad de las mediciones del espesor de capa de fibras nerviosas de la retina con Tomografía de Coherencia Óptica de dominio Fourier y de dominio tiempo

Isabel Pinilla<sup>1</sup>, Elena García-Martín<sup>1</sup>, Miriam Idoipe<sup>1</sup>, Laura Gil<sup>1</sup>, Isabel Fuertes<sup>1</sup>

Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. Servicio de Oftalmología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

### OBJETIVOS

Estudiar la reproducibilidad de las mediciones de los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) en ojos de sujetos sanos empleando dos técnicas diferentes de tomografía de coherencia óptica (OCT): OCT de dominio Fourier (Cirrus OCT; Carl Zeiss Meditec, Dublin, California) y OCT de dominio Tiempo (Stratus; Carl Zeiss Meditec, Dublin, California).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 132 ojos de sujetos sanos (39 hombres, 93 mujeres) con edades comprendidas entre 20 y 60 años. Todos ellos fueron sometidos a una exploración oftalmológica completa, con medición de la agudeza visual (AV), PIO, examen de fondo de ojo y realización de tres protocolos de consecutivos de la CFNR empleando Cirrus HD OCT y otros tres similares

empleando Stratus OCT. Se calculó la reproducibilidad de cada aparato por separado empleando los coeficientes de variabilidad (COV) y los índices intraclase (ICC).

### RESULTADOS

El Stratus OCT mostró una aceptable reproducibilidad, con un COV medio de  $7,3 \pm 5,22\%$  (rango: 3,95-10,47%), e ICC superiores a 0,400. El Cirrus OCT demostró mejor reproducibilidad, con un COV medio de  $4,4 \pm 3,01\%$  (rango: 1,4-6,7%), e ICC mayores a 0,886 en todos los parámetros.

### CONCLUSIONES

Los nuevos dispositivos de OCT de última generación proporcionaron mediciones de la CFNR con menor variabilidad que la generación previa de OCT de dominio tiempo.

Abecia, E. ....	65	Chacón, G. ....	15
Acha, J. ....	70	Corbera, M. ....	63
Aguilar, H. ....	67	Cordero, C. ....	48
Alcalde, A.I. ....	13	Cosenza, M.G. ....	31
Almárcegui, C. ....	29	Cuenca, N. ....	22, 23, 58
Álvarez, I. ....	62, 63	De Castro, F. ....	48
Álvarez, J.M. ....	20, 55	Del Moral, A. ....	9
Anguas, A. ....	71	Del Moral, R. ....	37, 57
Ansón, A. ....	57	Díez, C. ....	48, 71
Ara, J.R. ....	29	Dolz, I. ....	29
Aranda, M. ....	27	Errea, J. ....	41
Arenas, A. ....	24	Escalona, E. ....	31
Arnal, C. ....	21	Escudero, A. ....	35
Arruebo, M.P. ....	21	Esquivá, G. ....	22, 23
Ascaso, F.J. ....	60	Estebanez, E. ....	44, 69
Azanza, M.J. ....	47	Fanlo, C. ....	62
Barcones, M.F. ....	61	Fanlo, P. ....	44
Berzosa, C. ....	54	Fayed, N. ....	41
Bonafonte, J.I. ....	21, 43	Fernandes, F. ....	19
Bonafonte, S. ....	43	Fernández, J. ....	22, 29
Buckingham, M. ....	19	Fernández, L. ....	22, 23, 58
Bueno, E. ....	44, 69	Fuentes, L. ....	12, 14
Buil, M. ....	62, 63	Fuertes, I. ....	30, 42, 51, 59, 65, 66, 68, 70, 72
Calvo, A.C. ....	19, 28	Gallego, D. ....	11, 58
Campayo, A. ....	61, 62, 63	Gamm, D. ....	58
Cantarero, I. ....	20, 47, 55	García, A. ....	62
Castiella, T. ....	20, 28, 47, 55	García, C. ....	43
Castro, M. ....	21		22, 29, 30, 42, 49, 52,
Caudevilla, S. ....	44, 69	García, E. ....	58, 59, 65, 66, 68, 70, 72
Cebrián, I. ....	54	García, J. ....	35

García, J.J. ....	12, 14, 27, 54	León, M. ....	15
García, J.M. ....	22	Lobo, A. ....	38, 39, 40, 61
García, O. ....	67, 69	López, E. ....	56
García, P. ....	31	López, L. ....	12, 27, 54
García, S. ....	15	López, M. ....	54
Gil, L. ....	30, 42, 51, 59, 65, 66, 68, 70, 72	López, M.J. ....	48, 50
Gimeno, A. ....	21	López, Y. ....	35
Gómez, A. ....	50, 71	López-Anton, R. ....	38, 39, 40
Gómez, C. ....	71	López-Ruiz, R. ....	31
Gómez, E.M. ....	27	Lou, J.M. ....	43
Gómez, J. ....	24	Lucha, M.O. ....	44, 67, 69
González, C. ....	14	Luesma, M.J. ....	20, 47, 55
González, I. ....	22	Maestu, C. ....	36
Gonzalez, M. ....	57	Magallón, R. ....	35
Gonzalo, S. ....	21	Magdalena, J. ....	35
Gracia, P. ....	39, 62, 63, 64	Malo, M. ....	65
Grasa, L. ....	11	Manzano, R. ....	19
Guallart, M. ....	64	Marcos, G. ....	38, 39, 40
Guerrero, E. ....	21	Marijuán, C. ....	37, 57
Herrero, M.D. ....	56	Martín, J. ....	49
Hidalgo, C. ....	44, 69	Martínez, C. ....	20, 47, 55
Iceta, R. ....	13	Martínez, D. ....	48
Idoipe, M. ....	29, 30, 42, 49, 51, 58, 59, 65, 66, 68, 70, 72	Martínez, E. ....	12, 14, 27, 54
Iñiguez, C. ....	28, 60	Martínez, I. ....	56
Irigoyen, I. ....	62	Martínez, MT. ....	57
Jiménez, M. ....	11	Matheus, N. ....	13
Jiménez, M.P. ....	52, 53	Mendoza, C. ....	13
Junquera, C. ....	20, 47, 55	Mesonero, J.E. ....	13
Larrodé, P. ....	14, 28	Miana, F.J. ....	12, 14
Latorre E. ....	13	Millán, S. ....	12

Modrego, P. ....	41	Piedrafita, E. ....	12, 14, 27
Monge, B.P. ....	48	Pina, M.A. ....	41
Montarras, D. ....	17, 19		22, 23, 29, 30, 42, 49,
Montiel, F. ....	48	Pinilla, I. ....	51, 58, 59, 65, 66, 68, 70, 72
Montoro, L. ....	48	Plaza, M.A. ....	21
Montoya, J. ....	50, 56, 71	Pueyo, V. ....	29, 49, 66
Moreno, S. ....	35	Ramón y Cajal, S. ....	20, 28, 55
Moreno, Y. ....	16	Ríos, C. ....	41
Muñoz, M.J. ....	14, 19	Rodellar, C. ....	19
Murillo, M.D. ....	11, 21	Rosado, B. ....	15
Narberhaus, B. ....	56	Roy, JF. ....	38, 39, 40
Navarro, J. ....	37	Rubio, A. ....	67
Navarro, R. ....	16	Ruíz de Escudero, A. ....	67
Oliván, B. ....	35	Ruíz de Gopegui, E. ....	60
Oliván, S. ....	14, 19	Ruíz, E. ....	50, 56, 71
Olivera, J. ....	52, 53	Sáenz, M.A. ....	54
Ordovás, L. ....	19	Sánchez, M. ....	63
Ortega, S. ....	54	Santabárbara, J. ....	38, 39, 40, 61, 62, 63
Osta, R. ....	14, 19, 28	Sarasa, M. ....	41
Pacheu, D. ....	50, 71	Saz, P. ....	38
Palacio, J. ....	15	Sebastián, M. ....	27
Pascual, L.F. ....	28	Torrubia, C.B. ....	62, 63
Pelegrín, C. ....	52, 53	Tricás, J.M. ....	44, 67, 69
Pérez, L. ....	71	Villegas, A. ....	15
Pérez, M.L. ....	71	Wright, L. ....	58
Pérez, R.N. ....	57	Zamora, G. ....	24
Pérez, S. ....	67, 69	Zaragoza, P. ....	19
		Zubero, M.J. ....	27





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