

Diseño de microsondas mediante hibridación virtual para el estudio de variantes en los sitios REP-CMT1A

Edgar Hernández-Zamora,^{a*} María de la Luz Arenas-Sordo^a y Rogelio Maldonado-Rodríguez^b

^aServicio de Genética, Instituto Nacional de Rehabilitación y ^bLaboratorio de Tecnología del DNA, Escuela Nacional de ciencias Biológicas, IPN, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 30 de octubre de 2007

Aceptado: 9 de noviembre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: El gen PMP22 se encuentra duplicado en pacientes con Charcot-Marie-Tooth 1A (CMT1A); se ha descrito que el origen de la duplicación es el intercambio desigual de las cromátidas durante la meiosis entre dos regiones de 24 kb denominadas sitios REP-CMT1A, encontrándose un REP proximal y un REP distal, los cuales tienen una homología de 98%. Dentro de cada uno de estos sitios existen zonas denominadas puntos calientes de mutación (hot spot), donde se presenta el mayor número de variantes y mutaciones que pudieran dar origen al intercambio desigual. El objetivo de este trabajo fue diseñar un conjunto de microsondas para elaborar un microarreglo con el cual pueda detectarse la presencia de variantes y puntos de mutación en los sitios REP-proximal y REP-distal CMT1A. **Material y métodos** A partir de las secuencias informadas de los REP distal y proximal, se delimitaron los sitios hot spot dentro de las regiones proximal y distal. Estas secuencias se alinearon, se empalmaron y se detectaron 12 zonas de diferencia secuencial. **Resultados y conclusiones.** Se diseñaron y analizaron 24 microsondas mediante el programa Genosensor Probe Designer. Las sondas podrán ser sintetizadas y utilizadas en un microarreglo que permita encontrar variaciones, puntos de mutación, y facilitar el diagnóstico de pacientes con CMT1A.

Palabras clave:

CMT1A, genosensor, microarreglo, microsondas, REP

SUMMARY

Background: Gene PMP22 is duplicated in patients with CMT1A. Duplication is due to an unequal chromatid interchange during meiosis that takes place between two 24 Kb regions named REP-CMT1A proximal and distal sites. Homology is approximately 98%. Within each one of the sites we find zones termed hot spots where a greater number of variants and mutations could give origin to an unequal interchange. The aim of this study was to design a set of probes to create a microarray that could detect the presence of variants and mutation points in distal and proximal REP sites among patients with CMT1A.

Material and methods. With reported sequences of distal and proximal REPs, we determined hot spot sites within proximal and distal regions. These sequences were aligned and matched, hence 12 zones were detected.

Results and conclusions. Twenty four probes were designed and analyzed using the Genosensor Probe Designer program. Probes could be synthesized and used in a microarray that is able to find variations and mutation points and facilitates diagnosis of patients with CMT1A.

Key words:

CMT1A, DNA arrays, DNA microarrays, hot spot, molecular diagnosis, REP

Introducción

El empleo de sondas de hibridación de ácidos nucleicos fue desarrollado por Edward M. Southern en 1975 para la detección de ADN (*Southern blot*) y posteriormente se aplicó a la detección de ARN (*Northern blot*); ambas técnicas emplean secuencias específicas (sondas) complementarias a la molécula de ácido nucleico a identificar. Es decir, utilizan la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de las moléculas buscadas.¹⁻⁴

La tecnología para la detección de mutaciones que se ha descrito como Genosensor, sensor, micromatrices, microarreglos, *microarray* o biochips, consiste en utilizar un conjunto de sondas marcadas inmovilizadas en un soporte sólido (microson-

das) que hibridan con la totalidad de un gen o fragmento de DNA de cadena sencilla como blanco. La aparición de señales de hibridación en una microsonda permite determinar con precisión la posición donde se localiza la mutación (Figura 1).^{5,6} Las nuevas tecnologías permiten comprender la función de los sistemas biológicos y observar el comportamiento de genomas completos bajo condiciones específicas, así como investigar una o varias mutaciones desconocidas de manera simultánea en una reacción de hibridación. Este tipo de estudios tendrán un gran impacto en la salud pública al ofrecer nuevos marcadores de padecimientos que permitan identificar problemas de salud con mayor exactitud y de manera más temprana.⁷

La neuropatía periférica de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es la enfermedad hereditaria más común del sistema nervio-

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Edgar Hernández-Zamora. Instituto Nacional de Rehabilitación. Av. México-Xochimilco 289, Arenal de Guadalupe, Tlalpan 14389 México D.F., México. Tel.: (55) 5999 1000, extensiones 19405 y 19402. Fax: (55) 5645 5603. Correo electrónico: edghernandez@inr.gob.mx; edgarhz1969@yahoo.com.mx

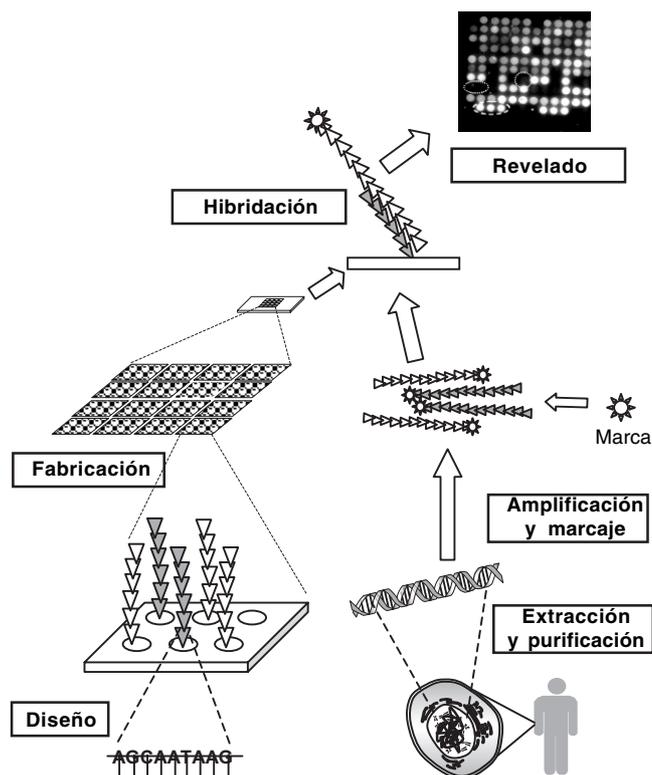


Figura 1. Procedimiento general para la elaboración y prueba de un microarreglo.

so periférico humano (un afectado por cada 2500 individuos). Sus principales características fenotípicas son atrofia muscular peronea, y secundaria a ésta la presencia de pie cavo, así como debilidad de varios grupos musculares.⁸⁻¹⁰ El subtipo más frecuente es el 1A (CMT1A, OMIM 118220) con una transmisión autosómica dominante, la cual en aproximadamente 70% de los casos presenta una duplicación en tándem de un fragmento de alrededor de 1.5 Mb de DNA en el locus 17p11.2-p12, donde se encuentra el gen codificante de la proteína PMP22.¹¹⁻¹⁴ El origen de la duplicación se atribuye a un intercambio desigual de las cromátidas durante la meiosis, entrecruzamiento desigual que ocurre entre dos regiones de 24 kb que limitan al gen PMP22 denominadas sitios REP, encontrándose un REP proximal y un REP distal, los cuales tienen una homología de 98%. Dentro de cada uno de estos REP existen zonas denominadas puntos calientes de mutación (*hot spot*) (de casi 1.4 kb) (Figura 2), donde se presenta el mayor número de variantes y mutaciones que pudieran dar origen al intercambio desigual precisamente por presentar pequeñas variaciones secuenciales, las cuales podrían favorecer el intercambio con la otra secuencia homóloga y no con la correspondiente.¹⁵

El objetivo de este trabajo fue diseñar 12 microsondas complementarias mediante hibridación virtual, para elaborar un microarreglo con el cual pueda detectarse la presencia de variantes y puntos de mutación en los sitios REP proximal y REP distal de PMP22. Por otro lado, podría detectarse la

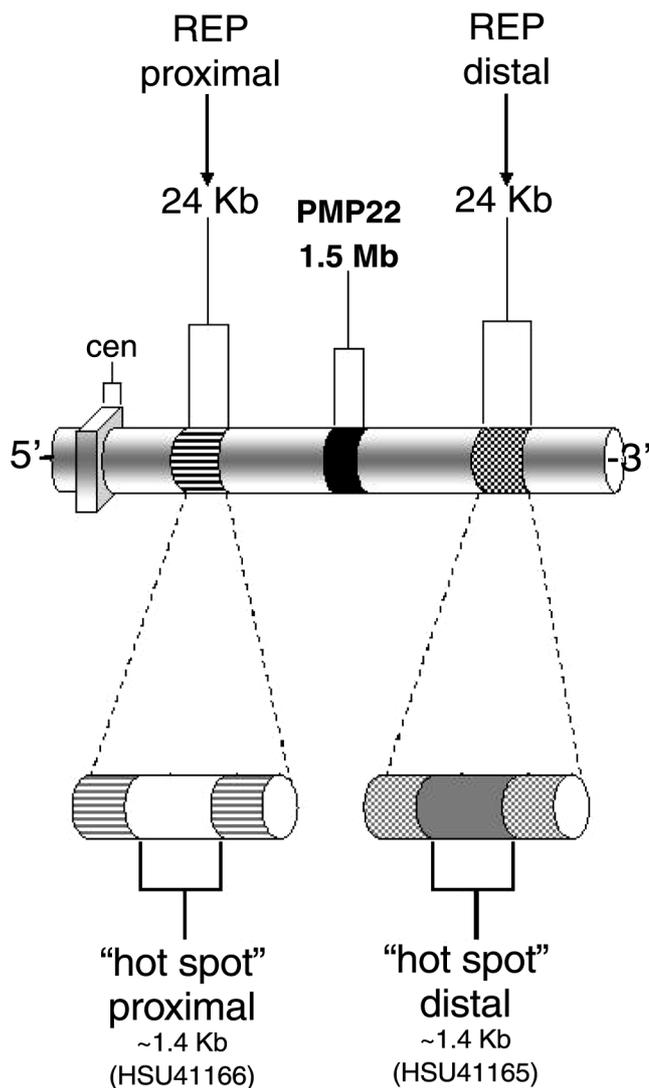


Figura 2. Organización del gen PMP22 y los sitios REP-CMT1A proximal y distal del genoma humano.

neuropatía hereditaria con riesgo a parálisis por presión (HNPP, OMIM 162501) en pacientes heterocigotos por delección para el gen PMP22, debido a que el origen de la misma es similar al de la duplicación de PMP22.

Material y métodos

Obtención de las secuencias *hot spot* REP-CMT1A con Clustal-X

A partir de las secuencias reportadas en el GenBank de los *hot spot* distal (HSU41165) y proximal (HSU41166), se obtuvieron de manera teórica los productos de amplificación mediante las secuencias de los iniciadores señalados por Han y colaboradores,¹⁵ quienes realizaron una reacción de

PCR anidada para amplificar las zonas donde se encuentran los puntos de recombinación desigual para los sitios REP-CMT1A. Todas las secuencias utilizadas fueron grabadas en formato FASTA para su análisis en los diferentes programas

empleados. Utilizando el programa Clustal-X versión 1.80,¹⁶ se alinearon los iniciadores y se obtuvieron las secuencias de los productos teóricos de las dos reacciones de amplificación.

Cuadro I. Lista de secuencias de prueba y secuencias blanco, con ΔG° calculado en kcal/mol

	Núm.	Sonda	ΔG°	Posición	Blanco	ΔG°
Sondas distales vs. secuencia distal (5' → 3')	1:	ACAAGTTTA:	-9.19:	1393:	TGTTCAAAT:	-9.19
	2:	CAATAGGAT:	-9.21:	1286:	GTTATCCTA:	-9.21
	3:	AAAAACCTT:	-9.56:	1244:	TTTTTGGAA:	-9.56
	4:	AGCAATAAG:	-9.71:	1195:	TCGTTATTC:	-9.71
	5:	GGCTAGAGT:	-11.24:	1019:	CCGATCTCA:	-11.24
	6:	ATGTTTAAA:	-8.35:	717:	TACAAATTT:	-8.35
	7:	AGCGTGTGA:	-12.77:	640:	TCGCACACT:	-12.77
	8:	GCTTTTTTA:	-9.10:	452:	CGAAAAAAT:	-9.10
	9:	ATTTCAAAG:	-8.91:	355:	TAAAGTTTC:	-8.91
	10:	TGCACTGGT:	-12.59:	237:	ACGTGACCA:	-12.59
	11:	AACGACTCT:	-11.21:	186:	TTGCTGAGA:	-11.21
	12:	AGTTAAAGG:	-9.42:	14:	TCAATTTCC:	-9.42
Sondas distales vs. secuencia proximal (5' → 3')	1:	ACAAGTTTA:	-9.19:	1230:	TGTTCAAAT:	-9.19
	2:	CAATAGGAT:	-9.21:	1282:	GTTATCTAA:	-5.19
	3:	AAAAACCTT:	-9.56:	1247:	TTTTGGGAA:	-7.52
	4:	AGCAATAAG:	-9.71:	1198:	TCGTCATTC:	-6.13
	5:	GGCTAGAGT:	-11.24:	1022:	CCGACCTCA:	-7.68
	6:	ATGTTTAAA:	-8.35:	397:	AACAAATTA:	-6.47
	7:	AGCGTGTGA:	-12.77:	815:	TCGTACACA:	-8.26
	8:	GCTTTTTTA:	-9.10:	455:	CGAAAAATC:	-7.52
	9:	ATTTCAAAG:	-8.91:	1182:	CTGAGTTTC:	-6.03
	10:	TGCACTGGT:	-12.59:	1084:	GTGTGACCA:	-8.90
	11:	AACGACTCT:	-11.21:	190:	TTGCCGAGA:	-7.17
	12:	AGTTAAAGG:	-9.42:	358:	AAAATTTCC:	-6.70
Sondas proximales vs. secuencia distal (5' → 3')	1:	ACAAATTTA:	-8.35:	1314:	TGTTTCGTT:	-4.89
	2:	CAATAGATT:	-8.37:	1281:	CCTATCTAA:	-5.92
	3:	AAAACCTT:	-10.40:	1112:	AATTGGGTC:	-6.12
	4:	AGCAGTAAG:	-10.55:	1195:	TCGTTATTC:	-7.03
	5:	GGCTGGAGT:	-12.67:	1019:	CCGATCTCA:	-9.28
	6:	ATGTGTAAG:	-9.24:	809:	TACACACCG:	-6.66
	7:	AGTGTGTGA:	-11.25:	640:	TCGCACACT:	-9.46
	8:	GCTTTTTAG:	-9.38:	452:	CGAAAAAAT:	-7.52
	9:	ATTTTAAAG:	-7.74:	484:	TAAAATTTT:	-6.46
	10:	TGCATTGGT:	-11.75:	237:	ACGTGACCA:	-9.07
	11:	AACGGCTCT:	-12.55:	186:	TTGCTGAGA:	-8.97
	12:	AGTTAAATA:	-7.76:	13:	TCAATTTCCC:	-6.30
Sondas proximales vs. secuencia proximal (5' → 3')	1:	ACAAATTTA:	-8.35:	1389:	TGTTTAAAT:	-8.35
	2:	CAATAGATT:	-8.37:	1282:	GTTATCTAA:	-8.37
	3:	AAAACCTT:	-10.40:	1247:	TTTTGGGAA:	-10.40
	4:	AGCAGTAAG:	-10.55:	1198:	TCGTCATTC:	-10.55
	5:	GGCTGGAGT:	-12.67:	1022:	CCGACCTCA:	-12.67
	6:	ATGTGTAAG:	-9.24:	720:	TACACATTT:	-9.24
	7:	AGTGAGTGA:	-10.94:	643:	TCACTCACT:	-10.94
	8:	GCTTTTTAG:	-9.38:	455:	CGAAAAATC:	-9.38
	9:	ATTTTAAAG:	-7.74:	359:	TAAAATTTT:	-7.74
	10:	TGCATTGGT:	-11.75:	241:	ACGTAACCA:	-11.75
	11:	AACGGCTCT:	-12.55:	190:	TTGCCGAGA:	-12.55
	12:	AGTTAAATA:	-7.76:	17:	TCAATTTATT:	-7.76

Hibridación virtual

Una vez obtenidas las secuencias de los *hot spot* proximal y distal (posición 2401 a 3808), se alinearon, se empalmaron y se detectaron zonas de diferencia secuencial, utilizando el programa Genosensor Probe Designer (GPD).¹⁷ A partir de las zonas de diferencia entre ambas secuencias, se realizó el diseño y análisis, mediante la determinación de la energía libre de Gibbs (ΔG°), de 24 microsondas complementarias de nueve bases cada una, 12 correspondientes a las regiones distales y 12 a las zonas proximales, utilizando el programa GDP.

Resultados

En el cuadro I se presentan las secuencias de las sondas propuestas correspondientes al *hot spot* distal y al *hot spot* proximal. Además de los valores de ΔG° para los sitios blanco de cada sonda, tanto en región distal como en la región proximal. Se retan sondas distales y proximales, con *hot spot* proximal y distal.

Las gráficas A y B de la figura 3 muestran los valores absolutos de ΔG° , en las que se pueden observar diferencias significativas ($p=0.00001$) entre estos valores cuando se alinearon con las secuencias distal y proximal, excepto en la primera sonda distal en el que podemos observar que no hay diferencia entre la unión con la secuencia distal y la proximal, debido a que es la misma secuencia blanco la cual se integró como control del análisis.

La figura 4 muestra la representación de los sitios donde se alinean las sondas, la lista de las 12 secuencias proximales y las 12 distales, diseñadas y sugeridas para su síntesis, así como un esquema que representa la posición de cada sonda en un microarreglo.

Discusión

El genoma humano presenta una gran variación estructural, con una amplia gama de deleciones, duplicaciones e inversiones, que modifican la arquitectura genómica, la cual es muy importante en el origen de diversas enfermedades, particularmente en las que están involucradas con procesos de recombinación desigual, que condicionan duplicación o deleción génica tales como CMT1A, HNPP, síndrome de Smith-Magenis (SMS, OMIM 182290),¹⁸ síndrome velocardiofacial (VCFS, OMIM 192430), síndrome de DiGeorge (DGS, OMIM 188400),¹⁹ síndrome de Sotos (SS, OMIM 177550),^{20,21} entre muchos otros, clasificados como desórdenes genómicos. Los microarreglos y las microsondas permiten comprender los eventos de recombinación desigual que generan rearrreglos erróneos o nuevos, los cuales aún no son totalmente comprendidos y están asociados al origen de estas duplicaciones.^{15,22}

En la literatura se ha descrito que en los sitios *hot spot* REP-CMT1A existen regiones hipervariables, elementos repetidos como secuencias *Alu* y elementos LINE, elementos tipo retrotransposones, STR y mutaciones *de novo*, los cua-

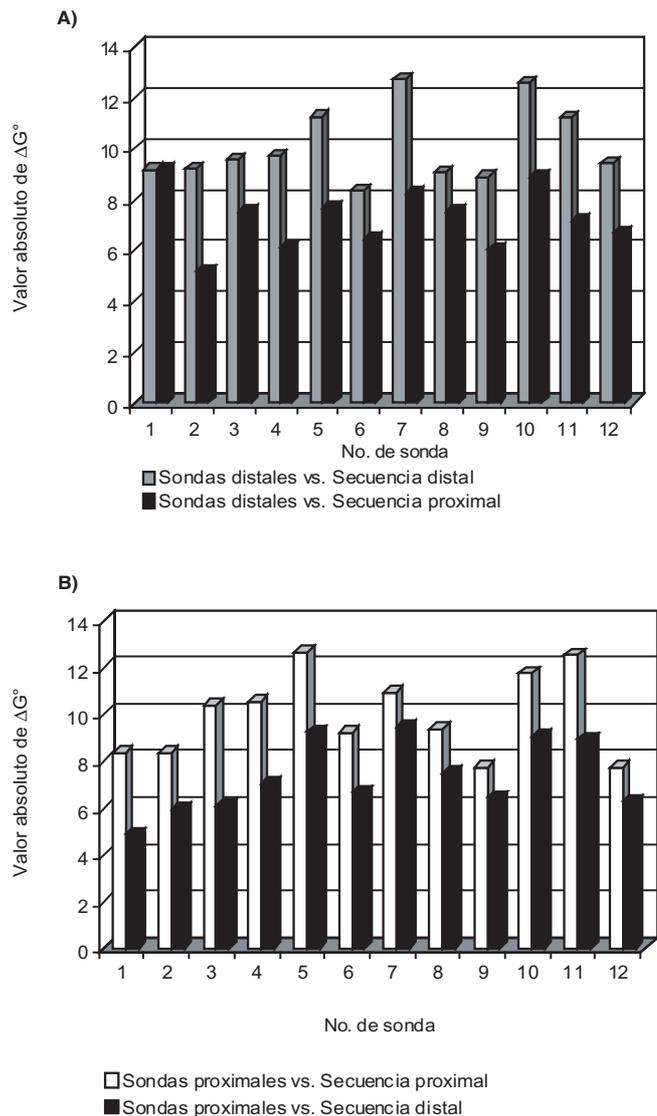


Figura 3. Valor absoluto de ΔG° . A) Estabilidad de sondas distales ($p=0.00001$). B) Estabilidad de sondas proximales ($p=0.00001$).

les tienen un origen evolutivo y podrían condicionar el intercambio desigual que está relacionado con la duplicación o deleción del gen PMP22.^{15,21-26}

Existen diferentes estrategias para la producción de microarreglos, desde las más simples donde se emplean soportes con portaobjetos y marcaje radiactivo o fluorescente, hasta las que ofrecen comercialmente diferentes empresas (Figura 1). Sin embargo, uno de los puntos más importantes dentro de la tecnología de microarreglos es precisamente el diseño de las sondas, debido a que éste es particular de cada grupo de estudio. Por ello, en este trabajo se diseñaron 24 microsondas complementarias de nueve bases cada una, 12

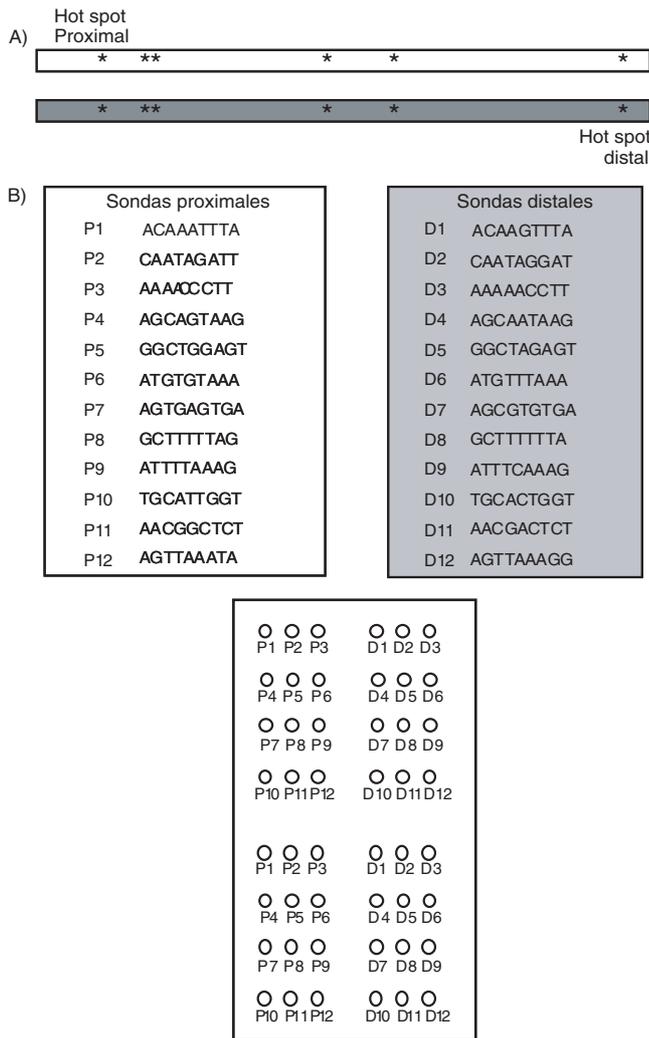


Figura 4. A) Los * representan los sitios de alineación en los sitios *hot spot* de las secuencias sugeridas para las microsondas. B) Diseño de distribución de las sondas en un soporte de vidrio.

correspondientes a las regiones distales (D1 a D12) y 12 a las zonas proximales (P1 a P12) de los *hot spot* de los REP-CMT1A. En la figura 4 se propone el orden en que deberán ser colocadas las microsondas en el microsensor. Esperaríamos encontrar que en los controles negativos todas las sondas hibriden en los sitios esperados, y que en los pacientes con CMT1A y controles positivos exista un mayor número de uniones inespecíficas o sitios donde no se unan las sondas; estos hechos nos indicarían si se trata de una secuencia normal o una mutante. Adicionalmente, la sonda D1 funcionará como un control interno, ya que en los controles negativos deberá unirse tanto con las secuencias distales como con las proximales (Figura 4). Todos los resultados encontrados deberán ser comprobados mediante secuenciación de estos sitios, y así detectar las diferencias secuenciales exactas donde las sondas se unan.

La aplicación de diversos marcadores que permiten detectar diferencias entre estas zonas ya ha sido descrita en la literatura.^{21,23,24} Por otro lado, recientemente se han publicado dos artículos en los se aplican microarreglos en el estudio de CMT1A. Gibson y colaboradores⁵ emplean sondas dirigidas al gen PMP22, únicamente para determinar si existe o no la duplicación del gen; Vigo y colaboradores²⁷ describen un conjunto de sondas que indican el funcionamiento de diferentes genes involucrados en la expresión de PMP22 en ratón, hecho que ofrece mucha información acerca de la enfermedad. Las microsondas diseñadas en ese trabajo nos darían información importante relacionada con el origen de la duplicación y los posibles mecanismos involucrados en la transmisión de ésta, aunadas a las propuestas por Lindsay y colaboradores²¹ y Vigo y colaboradores²⁷ al integrarlas en un microarreglo, como el que se propone, para el estudio de CMT1A. Más aún, es necesario continuar con el diseño de microsondas para confeccionar un microsensor o biochip que permita el diagnóstico de todas las variedades y subtipos de la neuropatía periférica Charcot-Marie-Tooth.

Por lo anterior, es fundamental realizar un estudio integral que incluya diferentes estrategias clínicas, electrofisiológicas y moleculares en este tipo de pacientes,²⁸⁻³¹ para establecer un diagnóstico correcto, ofrecer un consejo genético adecuado y buscar nuevas alternativas de tratamiento.³²

Las herramientas moleculares son muy diversas y es necesario buscar las alternativas rápidas, eficientes y sencillas que proporcionen más información y certeza en los resultados, así como una menor inversión económica. El uso de los microsensores es una propuesta con la que se ha demostrado que pueden estudiarse varios genes a la vez, ahorrando tiempo al paciente, al médico y al investigador.

Referencias

1. Southern EM. DNA microarrays history and overview. *Methods Mol Biol* 2001;170:1-15.
2. Kafatos FC, Jones CW, Efstratiadis A. Determination of nucleic acid sequences homologous and relative concentrations by a dot hybridization procedure. *Nucleic Acids Res* 1979;7:1541-1552.
3. Viikki J, Savontaus ML, Nikoskelainen EK. Genetic heterogeneity in Leber hereditary optic neuroretinopathy revealed by mitochondrial DNA polymorphism. *Am J Hum Genet* 1989;45:206-211.
4. Yoshikawa H, Nishimura T, Yanagihara T. Molecular pathology of Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: abnormal expression of PMP-22. *Rinsho Shinkeigaku* 1995;35:1441-1443.
5. Gibbons B, Datta P, Wu Y, Chan A, Al Armour J. Microarray MAPH: accurate array-based detection of relative copy number in genomic DNA. *BMC Genomics* 2006;7:163-171.
6. Ducray F, Honnorat J, Lachuer J. DNA microarray technology: principles and applications to the study of neurological disorders. *Rev Neurol (Paris)* 2007;163:409-420.
7. Hernández-Romano J. Microarreglos y su impacto en la salud pública. *Enf Inf Microbiol* 2006;26:27-33.
8. Rodríguez-García PL, Rodríguez-Pupo L, Rodríguez-García D. Técnicas clínicas para el examen físico neurológico. I. Organización general, nervios craneales y nervios raquídeos periféricos. *Rev Neurol* 2004;39:757-766.
9. Rodríguez-García PL, Rodríguez-Pupo L, Rodríguez-García D. Técnicas clínicas para el examen físico neurológico. II. Funciones motora y refleja. *Rev Neurol* 2004;39:848-859.
10. Rodríguez-García PL, Rodríguez-Pupo L, Rodríguez-García D. Técnicas clínicas para el examen físico neurológico. III. Funciones sensoriales. *Rev Neurol* 2004;39:966-971.
11. Suter U, Moskow JJ, Welcher AA, Snipes GJ, Kosaras B, Sidman RL, et al. Leucine-to-proline mutation in the putative first transmembrane domain of the

- 22-kDa peripheral myelin protein in the trembler-J mouse. *Proc Natl Acad Sci* 1992;89:4382-4386.
12. **Suter U, Snipes GJ, Schoener-Scott R, Welcher AA, Pareek S, Lupski JR, et al.** Regulation of tissue-specific expression of alternative peripheral myelin protein-22 (PMP22) gene transcripts by two promoters. *J Biol Chem* 1994;269:25795-25808.
 13. **Harding AE.** From the syndrome of Charcot, Marie and Tooth to disorders of peripheral myelin proteins. *Brain* 1995;118:809-818.
 14. **D'Urso D, Schmalenbach C, Zoidl G, Prior R, Muller HW.** Studies on the effects of altered PMP22 expression during myelination *in vitro*. *J Neurosci Res* 1997;48:31-42.
 15. **Han LL, Keller MP, Navidi W, Chance PF, Arnheim N.** Unequal exchange at the Charcot-Marie-Tooth disease type 1A recombination hot-spot is not elevated above the genome average rate. *Hum Mol Gen* 2000;9:1881-1889.
 16. **Jeanmougin F, Thompson JD, Gouy M, Higgins DG, Gibson TJ.** Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends Biochem Sci* 1998;23:403-405.
 17. **Reyes-López MA, Méndez-Tenorio A, Maldonado-Rodríguez R, Doktycz MJ, Fleming JT, Beattie KL.** Fingerprinting of prokaryotic 16S rRNA genes using oligodeoxyribonucleotide microarrays and virtual hybridization. *Nucleic Acids Res* 2003;31:779-789.
 18. **Bi W, Yan J, Stankiewicz P, Park SS, Walz K, Boerkoel CF, et al.** Genes in refined Smith-Magenis Syndrome critical deletion interval on chromosome 17p11.2 and the syntenic region of the mouse. *Genome* 2007;12:713-728.
 19. **Paylor R, McIlwain KL, McAninch R, Nellis A, Yuva-Paylor LA, Baldini A, et al.** Mice deleted for the DiGeorge/velocardiofacial syndrome region show abnormal sensorimotor gating and learning and memory impairments. *Hum Mol Genet* 2001;10:2645-2650.
 20. **Baujat G, Cormier-Daire V.** Sotos syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:1750-1761.
 21. **Lindsay SJ, Khajavi M, Lupski JR, Hurler ME.** A chromosomal rearrangement hotspot can be identified from population genetic variation and is coincident with a hotspot for allelic recombination. *Am J Hum Genet* 2006;79:890-902.
 22. **Ji Y, Eichler EE, Schwartz S, Nicholls RD.** Structure of chromosomal duplicons and their role in mediating human genomic disorders. *Genome Res* 2000;10:597-610.
 23. **Pentao L, Wise CA, Chinault AC, Patel PI, Lupski JR.** Charcot-Marie-Tooth type 1A duplication appears to arise from recombination at repeat sequences flanking the 1.5 Mb monomer unit. *Nat Genet* 1992;2:292-300.
 24. **Choi BO, Kim J, Lee KL, Yu JS, Hwang JH, Chung KW.** Rapid diagnosis of CMT1A duplications and HNPP deletions by multiplex microsatellite PCR. *Mol Cells* 2007;23:39-48.
 25. **Lopes J, Ravisé N, Vandenberghe A, Palau F, Ionasescu V, Mayer M, et al.** Fine mapping of de novo CMT1A and HNPP rearrangements within CMT1A-REPs evidences two distinct sex-dependent mechanisms and candidate sequences involved in recombination. *Hum Mol Genet* 1998;7:141-148.
 26. **Inoue K, Dewar K, Katsanis N, Reiter LT, Lander ES, Devon KL, et al.** The 1.4-Mb CMT1A duplication/HNPP deletion genomic region reveals unique genome architectural features and provides insights into the recent evolution of new genes. *Genome Res* 2001;11:1018-1033.
 27. **Vigo T, Nobbio L, Hummelen PV, Abbruzzese M, Mancardi G, Verpoorten N, et al.** Experimental Charcot-Marie-Tooth type 1A: a cDNA microarrays analysis. *Mol Cell Neurosci* 2005;28:703-714.
 28. **Grandis M, Shy ME.** Current therapy for Charcot-Marie-Tooth disease. *Curr Treat Options Neurol* 2005;7:23-31.
 29. **Salamanca-Gómez F.** Avances en el estudio de las enfermedades neurodegenerativas. *Gac Med Mex* 2001;137:487-488.
 30. **Luciano CA.** Aspectos importantes en el diagnóstico y manejo de las neuropatías periféricas. *Rev Neurol* 1999;29:184-188.
 31. **Palau F, Cuesta A, Pedrola L.** Avances en la genética molecular de las neuropatías hereditarias. *Rev Neurol* 2002;35:246-253.
 32. **Kochanski A.** Charcot-Marie-Tooth disorders: past, today and tomorrow. *Neurol Neurochir Pol* 2006;40:327-335.

Onicomicosis en niños. Estudio retrospectivo de 233 casos mexicanos

Elsa Vásquez-del Mercado* y Roberto Arenas

Sección de Micología, Departamento de Dermatología, Hospital General "Manuel Gea González", SSA, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 6 de noviembre de 2007

Aceptado: 9 de noviembre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: Estudios recientes alrededor del mundo indican que la prevalencia de la onicomicosis está aumentando en la población pediátrica, sobre todo en adolescentes. Los dermatófitos son los agentes etiológicos más frecuentes.

Material y métodos: Revisión retrospectiva de 12 años de los expedientes de 332 niños con sospecha clínica de onicomicosis. Se analizaron variables como sexo, edad, factores predisponentes, uñas afectadas, otras micosis superficiales y los resultados del estudio micológico.

Resultados: Se identificaron 233 casos de onicomicosis, que representan 33% de las micosis superficiales en nuestro departamento. Dos terceras partes correspondieron a adolescentes, sin encontrar diferencia significativa en sexo. Las uñas de los pies se afectaron con mayor frecuencia (94%) que las de las manos (4.2%) y la variedad clínica predominante fue la onicomicosis subungueal distal y lateral. Los dermatófitos (sobre todo *Trichophyton rubrum*) fueron los responsables de la infección en 70%.

Conclusiones: Las onicomicosis constituyen 33% de las micosis superficiales en niños. Corroboramos el aumento en su frecuencia, el predominio en uñas de pies (94%) y la etiología dermatofítica (70%). Recomendamos a médicos que atienden niños y adolescentes, la implementación de medidas de diagnóstico y tratamiento.

Palabras clave:

Onicomicosis, dermatófitos, *Candida*, mohos no dermatófitos

SUMMARY

Background: Worldwide recent reports point towards a rising prevalence of onychomycosis in the pediatric population, especially among adolescents. Dermatophytes are the most common etiologic agents.

Material and methods: We carried out a retrospective review of the last 12 years, comprising 332 medical records from children with clinical suspicion of onychomycosis. We analyzed the following variables: gender, age, predisposing factors, affected nails, other concurrent superficial mycoses and potassium hydroxide direct examination and culture.

Results: A total of 233 onychomycosis cases were identified, cases constituted 33% of superficial mycoses of children seen at our unit. Two thirds were adolescents with no significant difference among the sexes. Toenails were more affected (94%) than fingernails (4.2%) with distal and lateral subungueal onychomycosis being the most common clinical presentation. In 70% of cases infection was caused by dermatophytes (mainly *Trichophyton rubrum*).

Conclusions: Onychomycosis constitute 33% of superficial mycoses among children seen at our medical facility. We confirm a rise in prevalence, toenails were the most common (94%) and had a dermatophytic etiology (70%). We suggest to all physicians caring for children and adolescents, to become familiar with diagnostic and therapeutic tools for this type of mycosis.

Key words:

Onychomycosis, dermatophytes, *Candida*, non-dermatophytic molds

Introducción

Durante muchos años se consideró que la onicomicosis en niños era rara, por lo que los trabajos publicados acerca de su epidemiología, aspectos clínicos, micológicos o terapéuticos también eran escasos. Sin embargo, en los últimos 10 a 15 años se ha documentado un mayor interés en la onicomicosis pediátrica.

Aunque la prevalencia de la onicomicosis en adultos continúa siendo mayor, numerosos autores concuerdan en que la incidencia en los niños está aumentando, y se ha especulado si esto es resultado de un mayor índice de

sospecha clínica, un mayor acceso a los servicios de salud o un incremento real en la infección.^{1,2}

Las diferentes series en el mundo informan una incidencia entre 0.2 y 0.4.³⁻⁵ En México, en una de las series más grandes publicada, Arenas encontró una incidencia de 1.3.¹ Un estudio chino revela que después del eccema y de las verrugas virales, las micosis son las enfermedades más frecuentes en los pies durante la infancia, y se indica una prevalencia de onicomicosis de 0.7.⁶ En Italia, sólo 16% de las onicopatías se deben a infección fúngica,² lo que contrasta con 23% de lo reportado en México⁷ o 30% en Bélgica,⁸ 20% de las micosis superficiales en niños polacos corresponden a onicomicosis.⁹

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Elsa Vásquez-del Mercado. Sección de Micología, Hospital General "Manuel Gea González", Calzada de Tlalpan 4800, Col. Toriello Guerra, 14000 México D.F., México. Correo electrónico: rarenas98@hotmail.com.

Dentro de la población pediátrica, los adolescentes son los más afectados. Entre los factores de riesgo identificados para adquirir la onicomicosis se encuentran: el uso de calzado oclusivo y sintético que favorece la hiperhidrosis, mayor índice de traumatismos por la práctica de deportes, tener un familiar afectado, o padecimientos como diabetes mellitus, estados de inmunosupresión o síndrome Down.^{2,10-14}

Prácticamente en todos, menos en un estudio,⁹ las uñas de los pies son las más afectadas y la variedad clínica más frecuente es la onicomicosis subungueal distal y lateral.^{2,8,15,16} En cuanto a los agentes causales, los dermatófitos son los responsables de la infección en la mayoría de los casos de las uñas de los pies y en algunas series también de las manos.^{2,8,15-19} En otras series se menciona a las levaduras como las principales causantes de onicomicosis de las uñas de las manos, especialmente en niños pequeños con el hábito de chuparse el dedo.⁹

El objetivo del presente estudio es comparar los resultados de las variables analizadas en nuestra población pediátrica con lo previamente reportado, con el fin de incrementar el conocimiento epidemiológico, clínico y micológico de la onicomicosis en los niños mexicanos.

Material y métodos

Se revisaron los expedientes de todos los pacientes enviados a la Sección de Micología del Hospital General "Manuel Gea González" con sospecha clínica de micosis superficial, correspondientes a los últimos 12 años. Se incluyeron todos los menores de 18 años con sospecha clínica de onicomicosis, excluyendo a aquellos con examen micológico negativo o con datos incompletos.

Las variables analizadas fueron sexo, edad, ocupación, factores predisponentes, tiempo de evolución de la onicomicosis, otras micosis superficiales concomitantes y resultados del estudio micológico, el cual consistió en examen directo con hidróxido de potasio a 20% y cultivo en agar Sabouraud con cloranfenicol y cicloheximida. Algunas muestras fueron también sembradas en Sabouraud simple, pero este procedimiento no fue una constante a lo largo de los 12 años del periodo de estudio.

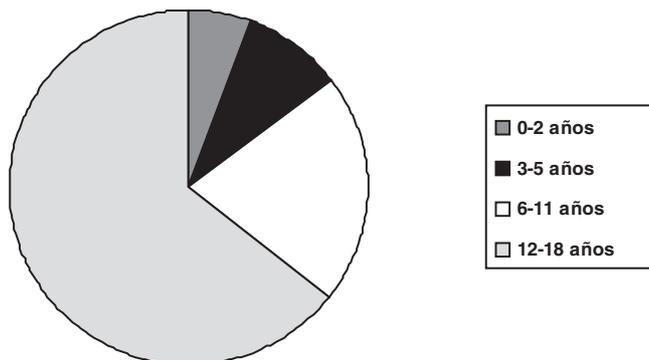


Figura 1. Distribución de pacientes de acuerdo con el grupo de edad.

Resultados

En 12 años fueron enviados 10 158 pacientes a la sección de micología con sospecha clínica de micosis superficial, 13% correspondió a niños (n=1311). Después de haber realizado el examen micológico se confirmó la presencia de micosis superficial en 695 niños, y en 233 de ellos (33.5%) se trató de onicomicosis. Estos últimos representan el universo del presente estudio.

No se encontró diferencia en la frecuencia entre niños (n=104, 44.6%) y niñas (n=129, 55.3%). La edad promedio al momento del diagnóstico fue de 12.6 años, con un rango de tres meses a 18 años. Casi dos terceras partes de los pacientes (64%) fueron adolescentes (Figura 1). Al analizar la edad de acuerdo con el sitio de presentación, se encontró una diferencia significativa entre 7.8 años promedio para las uñas de las manos y 12.9 años para las de los pies.

Como factores de riesgo se encontraron cuatro casos de diabetes mellitus y cuatro de síndrome Down. De manera constante en el expediente no se encontró el dato de si otros miembros de la familia padecían onicomicosis, por lo que esta variable no se consideró para el análisis.

En cuanto a la duración de la enfermedad, en 56% era menor de un año y en 5% de más de cinco años, dando una diferencia significativa entre las uñas de las manos (ocho meses promedio) y las uñas de los pies (19 meses en promedio).

Las uñas de los pies estuvieron afectadas en 220 pacientes y las de las manos en 10. Sólo tres pacientes presentaban afección de ambas. La variedad clínica más común fue la onicomicosis subungueal distal y lateral (195 casos), seguida de onicomicosis distrófica total en 27 casos, onicomicosis blanca superficial en cuatro y onicomicosis subungueal blanca proximal en tres.

En todos los casos se observaron hifas o esporas al examen directo con hidróxido de potasio, sin embargo, la tasa de crecimiento de los cultivos fue únicamente de 23%. En 68% de los cultivos positivos se pudo aislar a un dermatófito (*Trichophyton rubrum* en 35 casos y sólo uno de *M. canis*), en 24% a *Candida* y en 3.7% de los casos se documentó una infección mixta (*Trichophyton rubrum* y *Candida*) o por un MND (*Acremonium*) (Figura 2).

Padecían otra micosis superficial 76 pacientes, encontrándose en primer lugar tiña de los pies en 57 niños, tiña del cuerpo en cuatro, tiña de la ingle en tres y tiña de la mano en dos.

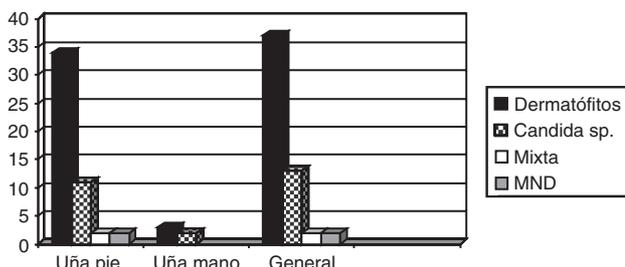


Figura 2. Distribución de los casos de acuerdo a la localización y agente causal.

Discusión

En nuestro estudio no fue posible calcular la prevalencia debido a que nuestro grupo de estudio no es representativo de la población general. En la cuarta parte de los niños enviados a micología se sospechaba onicomicosis, esto contrasta con otras áreas de nuestro país, sobre todo las rurales, donde la principal causa micológica de consulta en niños es la tiña de la cabeza o la pitiriasis versicolor.²⁰ Llama la atención que 5% de los casos de onicomicosis de nuestro hospital correspondieran a niños.¹¹ Los adolescentes (mayores de 12 años) son los más afectados, lo que concuerda con lo previamente señalado en la literatura;^{2,15-17} las razones que podrían ser una mayor frecuencia de tiña de los pies, mayor exposición a hongos, mayor probabilidad de trauma y menor velocidad de crecimiento de la uña que en lactantes o preescolares. La onicomicosis por levaduras en las uñas de las manos es más común en niños pequeños y con menor tiempo de evolución. La duración del padecimiento en las uñas de los pies fue mayor a lo previamente informado, y puede que a esto se deba el hecho de encontrar en 10% de los casos la variedad clínica de onicomicosis distrófica total, que junto con la onicomicosis blanca superficial y la onicomicosis subungueal blanca proximal no son comunes en niños.^{13,18}

El estudio micológico tiene un papel importante en la evaluación de los niños con cambios ungueales, sobre todo la visualización de hifas en el examen directo, ya que la negatividad del cultivo no necesariamente correlaciona con ausencia de infección fúngica.^{10,21,22} Lo ideal sería sembrar cada muestra tanto en agar Sabouraud simple como con antibiótico y cicloheximida, para poder garantizar el adecuado crecimiento de todos los posibles patógenos como dermatófitos, mohos no dermatófitos o levaduras.

La onicomicosis es causada por hongos con distribución geográfica mundial y la mayoría de trabajos de diferentes partes del mundo coinciden que *Trichophyton rubrum* es el agente más aislado y le siguen en importancia *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton interdigitale*.^{1,2,5,8,16}

Si consideramos que en estudios de nuestra población de 6 a 14% de los niños con pies aparentemente sanos son portadores de dermatófitos y que la incidencia de tiña de los pies va en aumento,^{23,24} no debe sorprendernos el incremento actual en la frecuencia de la onicomicosis en la edad pediátrica.

Aún no existe un consenso acerca de si debe tratarse la enfermedad fúngica en los niños o no. Algunos autores mencionan que existe un riesgo potencial de que la infección se pase a otras uñas o a otros miembros de la familia. Cuando la infección es muy superficial o en etapas iniciales, el tratamiento tópico con lacas o cremas puede tener buen resultado.³ Tanto la amorolfina como la ciclopiroxolamina han probado ser efectivas en niños.²¹ En nuestro país contamos con la combinación de bifonazol-urea, que también tiene un resultado muy aceptable incluso en formas más avanzadas de la enfermedad.²⁵

El tratamiento sistémico se debe considerar cuando hay más uñas afectadas o la parte involucrada es la proximal. A pesar de que la griseofulvina continúa siendo el tratamiento de elección para la tiña de la cabeza, no lo es para la

onicomicosis debido a que se requiere de terapia muy prolongada que no está libre de efectos secundarios y las recaídas son frecuentes.¹⁶

En realidad no existen estudios bien diseñados que evalúen los resultados obtenidos con terbinafina, itraconazol o fluconazol, de hecho, estos medicamentos no están aprobados por la *Food and Drug Administration* para el tratamiento de la onicomicosis pediátrica. Sin embargo, existen numerosos informes de la experiencia clínica con estos agentes donde se han obtenido buenas respuestas con baja incidencia de efectos secundarios.^{2,3,26}

El itraconazol puede prescribirse tanto en terapia continua como en pulsos, tiene un amplio espectro de acción y está disponible en cápsulas o suspensión oral. Esta última tiene mayor incidencia de efectos secundarios gastrointestinales por su contenido de ciclodextrina. La dosis se calcula a 5 mg/kg de peso y se deben tener presentes las interacciones medicamentosas de este inhibidor del citocromo p450.^{4,27}

La terbinafina es segura y efectiva en niños, con buena acción contra los dermatófitos, en particular del *Trichophyton*. Tanto el esquema continuo como los pulsos han sido empleados con buenas tasas de respuestas y baja recurrencia, además de contar con menos efectos secundarios e interacciones medicamentosas. La dosis recomendada es de 125 mg/día para niños de 20 a 40 kg y de 62.5 para los niños de 20 kg o menos.²⁸⁻³² No existe mucha experiencia en el tratamiento de onicomicosis en niños con fluconazol.³³

En niños o adolescentes que pesen más de 40 kg, la dosificación de cualquiera de los tratamientos sistémicos anteriormente mencionados será igual a la del adulto, sin embargo, no hay un consenso en cuanto a la duración óptima del tratamiento. El abordaje actual es tratarlos en forma similar a los adultos por un periodo de tres o cuatro meses.²⁷

En conclusión, puede señalarse que las enfermedades ungueales no son infrecuentes en la población pediátrica, la onicomicosis representa 15 a 30% de ellas y debe distinguirse de otras patologías como distrofia secundaria a dermatitis atópica, alopecia areata, psoriasis o líquen plano. De ahí la importancia de un examen micológico que compruebe la etiología fúngica. Los médicos que trabajan con niños y adolescentes deben familiarizarse con la imagen clínica, el diagnóstico y el tratamiento de la onicomicosis pediátrica.

Referencias

1. Arenas R. Las onicomicosis. Aspectos clínico-epidemiológicos, micológicos y terapéuticos. *Gac Med Mex* 1990;126:84-91.
2. Romano C, Papini M, Ghilardi A, Gianni C. Onychomycosis in children: a survey of 46 cases. *Mycoses* 2005;48:430-437.
3. Gupta AK, Skinner AR, Baran R. Onychomycosis in children: an overview. *J Am Acad Dermatol* 2003;2:31-34.
4. Gupta AK, Sibbald RG, Lynde CW, Hull PR, Rrussick R, Shear NH, et al. Onychomycosis in children: prevalence and treatment strategies. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:395-402.
5. Sigurgeirsson B, Kristinsson KG, Jonasson PS. Onychomycosis in Icelandic children. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006;20:796-799.
6. Cheng S, Chong L. A prospective epidemiological study on tinea pedis and onychomycosis in Hong-Kong. *Chinese Med J* 2002;115:860-865.
7. Iglesias A, Tamayo L, Sosa-de Martínez C, Durán-McKinster C, Orozco-Covarrubias L, Ruiz-Maldonado R. Prevalence and nature of nail alterations in pediatric patients. *Pediatr Dermatol* 2001;18:107-109.

8. **Lateur N, Mortaki A, André J.** Two hundred and ninety six cases of onychomycosis in children and teenagers: a ten year laboratory survey. *Pediatr Dermatol* 2003;20:383-388.
9. **Lange M, Roszkiewicz J, Szczerkowska-Dobosz A, Jasiel-Walikowska E, Bykowska B.** Onychomycosis is no longer a rare finding in children. *Mycoses* 2006;49:55-59.
10. **Arenas R, Ruiz-Esmenjaud J.** Onychomycosis in childhood: a current perspective with emphasis on the review of treatment. *An Bras Dermatol* 2004;79:225-232.
11. **Arenas R, Ocejo D.** Onicomicosis: frecuencia actual en un departamento de dermatología de la Ciudad de México. *Dermatología Rev Mex* 1997;41:171-174.
12. **Córdova ME, Arenas R, López C, Crespo A, Monroy E.** Síndrome Down. Frecuencia y características de la onicomicosis de los pies. *Dermatología Rev Mex* 2000;44:5-9.
13. **Gupta AK, Chang P, Del Rosso JQ, Adam P, Hofstader SL.** Onychomycosis in children: prevalence and management. *Pediatr Dermatol* 1998;15:464-471.
14. **Inanir I, Sahin MT, Gündüz K, Dinc G, Türel A, Arisoy A.** Case report. Tinea pedis and onychomycosis in primary school children in Turkey. *Mycoses* 2002;45:198-201.
15. **Gupta A, Skinner A.** Onychomycosis in children: a brief overview with treatment strategies. *Pediatr Dermatol* 2004;21:74-79.
16. **Huang PH, Paller AS.** Itraconazole pulse therapy for dermatophyte onychomycosis in children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000;154:614-618.
17. **Lange M, Nowicki R, Baranska-Rybak W, Bykowska B.** Dermatophytosis in children and adolescents in Gdansk, Poland. *Mycoses* 2004;47:326-329.
18. **Ploysangam T, Lucky A.** Childhood white superficial onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: Report of seven cases and review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:29-32.
19. **Bonifaz A, Saúl A, Mena C, Valencia A, Paredes V, Fierro L, et al.** Dermatophyte onychomycosis in children under 2 years of age: experience of 16 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21:115-117.
20. Micosis superficiales. Segunda revisión del Consenso Nacional de Prevención Diagnóstico y Tratamiento. Micosis en el niño. UNAM, 2003-2004.
21. **Hennequin C, Bodemer C, Teillac D, De Prost Y.** Onychomycosis in children. *J Mycol Med* 1996;6:186-189.
22. **Arenas R, Rosales C.** Onicomicosis y tiña de los pies. *Dermatología Rev Mex* 1997;41:139-142.
23. **Becerril-Chihu G, Bazan-Mora E, López Martínez R, Sosa-de Martínez C, Ruiz-Maldonado R.** How often are dermatophytes present in apparently normal versus scaly feet of children? *Pediatr Dermatol* 1999;16:87-89.
24. **Ruiz-Esmenjaud J, Arenas R, Rodríguez-Álvarez M, Monroy E, Fernández R.** Tinea pedis and onychomycosis en niños de una comunidad indígena mazahua. *Gac Med Mex* 2003;139:215-20.
25. **Bonifaz A, Ibarra G.** Onychomycosis in children: treatment with bifonazole-urea. *Pediatr Dermatol* 2000;17:310-314.
26. **Tosti A, Piraccini BM, Iorizzo M.** Management of onychomycosis in children. *Dermatol Clin* 2003;21:507-509.
27. **Gupta AK, Cooper EA, Ginter G.** Efficacy and safety of itraconazole use in children. *Dermatol Clin* 2003;21:521-535.
28. **Goulden V, Goodfield MJ.** Treatment of childhood dermatophyte infections with oral terbinafine. *Pediatr Dermatol* 1995;12:53-54.
29. **Zaias N, Rebell G.** The management of childhood onychomycosis. *Pediatr Dermatol* 2004;21:80-81.
30. **Ungpakorn R, Reangchainam S, Kullavanijaya P.** Onychomycosis in a 2-year-old child successfully treated with oral terbinafine. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:654-655.
31. **Gupta AK, Ryder JE, Lunch LE, Tavakkol A.** The use of terbinafine in the treatment of onychomycosis in adults and special populations: a review of the evidence. *J Drugs Dermatol* 2005;4:302-308.
32. **Gupta AK, Adamiak A, Cooper EA.** The efficacy and safety of terbinafine in children. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:627-640.
33. **Gupta AK, Cooper EA, Montero-Gei F.** The use of fluconazole to treat superficial fungal infections in children. *Dermatol Clin* 2003;21:537-542.

Niveles de moléculas de adhesión solubles en pacientes diabéticos tipo 2 normotensos e hipertensos

Alberto Francisco Rubio-Guerra,^{a*} Hilda Vargas-Robles,^b Roberto Medina-Santillán^c
y Bruno Alfonso Escalante-Acosta^b

^aClínica de Hipertensión Arterial, Hospital General de Ticomán, Secretaría de Salud

^bDepartamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados y ^cEscuela Superior de Medicina, IPN, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 31 de octubre de 2007

Aceptado: 9 de noviembre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: La diabetes mellitus tipo 2 y la hipertensión arterial cursan con disfunción endotelial, lo que condiciona inflamación vascular, expresión de moléculas de adhesión que favorecen la migración celular subendotelial y el desarrollo de aterosclerosis. El objetivo de este estudio fue valorar los niveles circulantes de moléculas de adhesión solubles en pacientes diabéticos tipo 2 normotensos e hipertensos.

Material y métodos: Las concentraciones en suero de VCAM1, ICAM1 y E-selectina fueron determinados por ELISA (RyDSYSTEMS Minneapolis), en 80 pacientes diabéticos tipo 2, (40 normotensos y 40 hipertensos), así como en 40 sujetos normotensos no diabéticos; el método estadístico empleado fue ANOVA.

Resultados: Los pacientes diabéticos presentaron niveles significativamente mayores de moléculas de adhesión celular que los no diabéticos ($p < 0.001$ para las tres moléculas). A su vez, entre los pacientes diabéticos, los sujetos hipertensos mostraron niveles significativamente mayores de ICAM que los normotensos (316 ± 17 versus 295 ± 16 ng/ml $p < 0.01$), mientras que en VCAM y E-selectina no hubo diferencia significativa.

Conclusiones: Los pacientes diabéticos muestran niveles significativamente mayores de moléculas de adhesión solubles que los no diabéticos. La coexistencia de hipertensión aumenta significativamente los valores de ICAM, esto podría explicar la mayor frecuencia de complicaciones en los pacientes que cursan con las dos patologías.

Palabras clave:

Diabetes mellitus tipo 2, moléculas de adhesión, hipertensión arterial, disfunción endotelial

SUMMARY

Background: Hypertension and type-2 diabetes affect endothelial function, which in turn increases the expression of soluble adhesion molecules and lead to the development of vascular damage. The aim of this study was to assess soluble adhesion molecule levels among normotensive and hypertensive diabetic patients.

Material and methods: Serum levels of soluble VCAM1, ICAM1 and e-selectin were measured in 80 type-2 diabetic patients, (40 normotensive and 40 hypertensive), and in 40 normotensive non-diabetic subjects by ELISA (RyDSYSTEMS Minneapolis). Statistical analysis was performed with ANOVA.

Results: Among diabetic patients, levels of all three soluble adhesion molecules were significantly increased when compared with non-diabetic patients ($p < 0.001$ for all three molecules). In diabetic hypertensive patients, higher levels of ICAM1 were detected in comparison to normotensive diabetic patients (316 vs. 295 ng/ml $p < 0.01$), VCAM1 and e-selectin levels were not different between diabetic patients with and without hypertension.

Conclusions: Diabetes is associated with increased levels of soluble adhesion molecules, suggesting a role of these molecules may play in endothelial damage. ICAM1 is further increased when hypertension and diabetes are present. The latter may explain why diabetic-hypertensive patients displayed more complications than normotensive patients.

Key words:

Type-2 diabetes, adhesion molecules, hypertension, endothelial dysfunction

Introducción

Tanto la diabetes mellitus tipo 2 como la hipertensión arterial cursan con disfunción endotelial, lo que favorece el desarrollo de daño vascular.¹

La disfunción endotelial incrementa la producción de radicales libres de oxígeno (estrés oxidativo) en la célula endotelial, ello facilita la presencia de inflamación vascular y aterosclerosis, además de establecer un círculo vicioso al condicionar más disfunción endotelial.²

El aumento del estrés oxidativo, con la consecuente reducción de la biodisponibilidad endotelial de óxido nítrico, tiene varias repercusiones, entre ellas, la expresión de varios mediadores de inflamación, así como la presencia de moléculas de adhesión en el endotelio arterial, particularmente la molécula de adhesión vascular celular-1 (VCAM1), la molécula de adhesión intercelular (ICAM) y E-selectina.^{3,4}

Las moléculas de adhesión comentadas en el párrafo previo, están presentes normalmente a nivel venular, y el resultado de ello es una respuesta inflamatoria que elimina

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Alberto Francisco Rubio-Guerra. Plan de San Luis s/n, esquina Bandera, Col. Ticomán, 07330 México D.F., México. Tel. y fax: (52 555) 754 3939. Correo electrónico: clinhta@hotmail.com.

al patógeno,⁵ sin embargo, cuando este proceso ocurre a nivel arterial, median la unión de leucocitos al endotelio y su paso al espacio subendotelial a ese nivel, un paso crucial en las primeras fases de la aterosclerosis^{6,7} pues una vez en el espacio subendotelial arterial, los leucocitos fagocitan LDL oxidadas (los macrófagos), transformándose en células espumosas, lo que inicia el desarrollo de la placa de aterosclerosis,^{1,8} o bien, pueden liberar sus enzimas lisosomales al medio, induciendo por esa vía daño tisular y orgánico.⁹

La molécula de adhesión intercelular-1 es una molécula constitutiva, y en condiciones normales está presente en concentraciones muy bajas, mientras que VCAM1 y E-selectina son inducibles, sin embargo, en presencia de disfunción endotelial, la expresión de dichas moléculas se incrementa en forma importante en la superficie luminal de la membrana de las células endoteliales. Las formas circulantes (denominadas solubles) se deben a un proceso proteolítico que las libera del endotelio activado a la circulación, por ello, los niveles circulantes de estas moléculas reflejan el grado de activación e inflamación endotelial, así como su expresión en la superficie endotelial.¹⁰

El propósito de este trabajo es estudiar los niveles circulantes de las moléculas de adhesión solubles en pacientes diabéticos tipo 2 normotensos e hipertensos.

Material y métodos

En este estudio clínico transversal se incluyeron 40 pacientes diabéticos normotensos en quienes previo consentimiento informado por escrito, se determinaron los niveles séricos de VCAM1, ICAM1, E-selectina (ELISA, RyDSystems Minneapolis), y se compararon con los obtenidos en 40 sujetos diabéticos hipertensos sin tratamiento antihipertensivo previo y 40 sujetos no diabéticos normotensos, en quienes se realizaron las mismas determinaciones.

Se excluyeron pacientes con alguno de los siguientes diagnósticos: insuficiencia cardíaca, hepática (aminotransferasas séricas aumentadas a más del doble de su límite superior normal), renal (creatinina >2.5 mg/dL) o diabetes mellitus tipo 1. Historia de abuso de alcohol o drogas psicótropas, antecedente de ingesta de antihipertensivos, estatinas, glitazonas y ácido acetilsalicílico a dosis mayores de 350 mg cada 24 horas.

Todas las muestras se tomaron por punción venosa (aproximadamente 15 ml), después de un ayuno de ocho horas, en tubos sin anticoagulante, las muestras fueron centrifugadas a 800 rpm durante 15 minutos, posteriormente se separó el suero para ser procesado.

Se hicieron en forma inmediata las determinaciones de glucosa sérica (glucosa oxidasa), creatinina sérica (JAFPE), perfil de lípidos con colesterol (CHODPAP) y triglicéridos (triglicérido-PAP) —la cuantificación de LDL se realizó mediante el método de Friedewald en quienes presentaron valores de triglicéridos < 400 mg/dl, y en quienes presentaron valores superiores a esos, se determinaron directamente—; las muestras para cuantificación de moléculas de adhesión se congelaron a -30° C hasta el momento de su determinación,

la cual se realizó con reactivos disponibles en forma comercial, por personal que desconocía el grupo al que pertenecían los pacientes.

Las variaciones intraensayo fueron 3.1 para VCAM1, 4.1 para ICAM1, 3.8 para E-selectina; mientras que las variaciones interensayo fueron 7 para VCAM1, 7.3 para E-selectina, 7.4 para ICAM1.

El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética e Investigación del Hospital General de Ticomán, Secretaría de Salud, México D.F., México, y se realizó de acuerdo a la Declaración de Helsinki. Los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito antes de ser incluidos.

Análisis estadístico

El método estadístico empleado fue análisis de varianza (ANOVA), los datos se presentan como media \pm desviación estándar; se consideró significativa una $p < 0.05$.

Resultados

Las características basales de los pacientes y controles se muestran en el cuadro I; como puede observarse, la edad, la distribución sexual, los niveles de lípidos, el perímetro abdominal y el índice de masa corporal fueron similares, aunque encontramos diferencias significativas en los valores de glucemia del grupo control y las cifras de presión arterial de los sujetos hipertensos.

La evaluación de la expresión de moléculas de adhesión en pacientes diabéticos muestra un aumento significativo ($p < 0.001$) en las concentraciones de las tres moléculas estudiadas (Cuadro II). La subdivisión de los pacientes diabéticos en hipertensos y normotensos mostró que los valores de ICAM1 fueron mayores ($p < 0.01$) en los hipertensos, mientras que los valores de VCAM1 y E-selectina fueron muy similares en ambos grupos de diabéticos.

Discusión

En este trabajo encontramos que los pacientes diabéticos exhiben niveles significativamente mayores de las moléculas de adhesión ICAM1, VCAM1 y E-selectina, que los sujetos no diabéticos, también encontramos que la coexistencia de hipertensión en el grupo de pacientes diabéticos eleva significativamente los valores de ICAM1.

El diseño del estudio con la determinación de los niveles de moléculas por duplicado, permitió tomar en cuenta la variación interpersonal al realizar el análisis estadístico, además, la inclusión tanto de un grupo control como de pacientes diabéticos hipertensos sin tratamiento antihipertensivo, y sin ingesta previa de estatinas ni glitazonas —fármacos que reducen los niveles de dichas moléculas—,¹¹ pero similar en edad, índice de masa corporal, perímetro abdominal, valores séricos de lipoproteínas de baja densidad, y en los pacientes diabéticos con un tiempo de evolución similar de la diabetes mellitus, permitió tener resultados confiables y sin efectos de

Cuadro I. Características basales de los pacientes

	Control	Diabéticos		p
		Normotensos	Hipertensos	
Edad	58 ± 11	58 ± 10	60 ± 9	ns
Sexo (M/F)	19/21	18/22	16/24	ns
Glucemia (mg/dl)	100 ± 11*	135 ± 25	133 ± 29	<0.001*
Hemoglobina glucosilada (%)	5 ⁺	6	6	<0.001 ⁺
LDL (mg/dl)	127.8 ± 24	127.5 ± 26	125 ± 29	ns
T/A (mm Hg)	122/76	124/74	175/93 ^o	<0.001 ^o
Índice de masa corporal	29.8 ± 6	30.4 ± 5	30.4 ± 5	ns
Perímetro abdominal (cm)	97.2	98.2	98.4	ns
Historia de diabetes mellitus 2		8.48 años	8.36 años	ns

estas variables sobre los resultados, para hacer un análisis sin sesgos y llegar a conclusiones válidas.

La presentación de niveles más elevados de moléculas de adhesión en sujetos diabéticos puede contribuir a la mayor frecuencia de complicaciones cardiovasculares en estos pacientes, pues estas moléculas participan en el proceso de crecimiento y desarrollo de la placa de aterosclerosis,¹² así como en la nefropatía diabética,⁵ de hecho, se han encontrado cifras elevadas de niveles circulantes de estas moléculas en padecimientos como hipertensión y dislipidemia, reconocidos como factores de riesgo cardiovascular.¹⁰

En diabetes mellitus tipo 2 los estudios que evalúan los niveles de moléculas de adhesión han sido contradictorios. Boulbou y colaboradores,¹³ a diferencia de nosotros, encontraron aumento sólo de E-selectina en pacientes diabéticos; la coexistencia de hipertensión en dicho reporte sólo incrementó los niveles de VCAM1. Las diferencias podrían explicarse por el hecho de que en ese estudio se evaluó un menor número de pacientes que en el presente, el grupo de diabéticos normotensos tenía casi el doble de sujetos que los demás grupos, lo que puede influir en el análisis de los resultados, y a diferencia de nuestro estudio los pacientes de ese trabajo que cursaban con hipertensión recibían tratamiento antihipertensivo, lo cual modifica los niveles circulantes de las moléculas de adhesión.¹⁴

Por otro lado, se ha informado incremento de los niveles de moléculas de adhesión sólo en diabéticos descompensados,¹⁵ lo que contrasta con nuestro estudio, donde los pacientes presentaban un aceptable control metabólico con cifras de hemoglobina glucosilada por debajo de 7%, como lo marcan las guías internacionales,¹⁶ a pesar de lo cual se pudo observar aumento de las tres moléculas estudiadas.

La mayor concentración de ICAM1 en los sujetos de nuestro estudio que cursaban con las dos patologías es una razón más para explicar la mayor frecuencia de complicaciones en ellos. El estudio Edimburgo¹⁷ mostró que los niveles de ICAM1 son marcadores inflamatorios que se asocian significativamente con aterosclerosis y enfermedad arterial periférica, aunque tal investigación se realizó en población general, y sólo 6% de los sujetos estudiados eran diabéticos.

Es importante señalar que en sitios de turbulencia de flujo sanguíneo es precisamente donde se desarrollan las placas de aterosclerosis, y en los sitios de flujo turbulento hay aumento de producción de ICAM1, por esta razón hay más presencia y actividad de ICAM1 en sitios donde se forman las lesiones vasculares,¹² además, la acción de ICAM1 es retener a los leucocitos en el sitio de inflamación,⁷ lo que favorece la permanencia de los mismos en el sitio de la lesión, prolongando el proceso inflamatorio y favoreciendo el desarrollo de lesiones crónicas, como las placas de aterosclerosis.

Cuadro II. Niveles de moléculas de adhesión en todos los sujetos

	Control	Diabéticos		p
		Normotensos	Hipertensos	
VCAM1	501 ± 27 ng/ml ^o	824 ± 42 ng/ml	86 ± 45 ng/ml	p<0.001 ^o
E-selectina	59 ± 3 ng/ml*	68 ± 4 ng/ml	71 ± 4 ng/ml	p<0.01*
ICAM1	260 ± 13 ng/ml ⁺	295 ± 16 ng/ml ⁺	316 ± 17 ng/ml ⁻	p<0.001 ⁺ p < 0.01 ⁻

Nuestros resultados también pueden tener implicaciones terapéuticas, pues se ha descrito que en diabetes mellitus tipo 2 tanto los inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (ECA) como los antagonistas del calcio, reducen los niveles de moléculas de adhesión,^{14,18} lo cual explica, al menos en parte, por qué el manejo antihipertensivo de los pacientes diabéticos con estos fármacos (o sus combinaciones) ofrece ventajas adicionales en pacientes diabéticos, tanto hipertensos como normotensos.^{19,20}

En este trabajo encontramos que el paciente con diabetes mellitus presenta niveles aumentados de moléculas de adhesión en comparación con los sujetos no diabéticos, y que la coexistencia de hipertensión incrementa significativamente los niveles de ICAM1, esto confirma la mayor activación endotelial de estos pacientes, y es una razón más para explicar el mayor daño vascular que presentan quienes padecen diabetes mellitus, sean o no hipertensos.

Referencias

1. **Todd R, Lee RW.** Increased incidence of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus: Mechanisms and Management. *Ann Intern Med* 2003;139:824-834.
2. **Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS.** Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:29-38.
3. **Valen G, Yan Z, Hanson GK.** Nuclear factor kappa-B and the heart. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:307-314.
4. **De Winter MPJ, Kanters E, Kraal G, Hofker MH.** Nuclear factor kB signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:904-914.
5. **Rubio AF, Robles H, Vargas G, Escalante BA.** Correlation between circulating adhesion molecules levels and albuminuria in type-2 diabetic normotensive patients. *Med Sci Monit* 2007;13:349-352.
6. **Shoelson S, Lee J, Goldfine A.** Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006;116:1793-1801.
7. **Frenette PS, Wagner DD.** Adhesion molecules-part I.N *Engl J Med* 1996;334:1526-1529.
8. **Frenette PS, Wagner DD.** Adhesion molecules-part II. *Blood Vessels and blood cells.* *N Engl J Med* 1996;335:43-45.
9. **Hansson GK.** Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352:1685-1695.
10. **Galen FX.** Cell adhesion molecules in hypertension: endothelial markers of vascular injury and predictors of target organ damage? *J hypertens* 2002;20:813-816.
11. **Berg AH, Scherer PE.** Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005;96:939-949.
12. **Lobby P, Ridker PM, Maseri A.** Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-1143.
13. **Boulbou MS, Koukoulis GN, Makri ED, Petinaki EA, Gourgoulialis KI, Germentis AE.** Circulating adhesion molecules in type 2 diabetes mellitus and hypertension. *Int J Cardiol* 2005;98:39-44.
14. **Gasic S, Wagner O, Fasching P, Ludwig C, Veitl M, Kapiotis S, et al.** Fosinopril decreases levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 in borderline hypertensive type 2 diabetic patients with microalbuminuria. *Am J hypertens* 1999;12:217-222.
15. **Matsumoto K, Sera Y, Nakamura H, Ueki Y, Miyake S.** Serum concentrations of soluble adhesion molecules are related to degree of hyperglucemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2002;55:131-138.
16. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2007. *Diabetes care* 2007;30:S4-S41.
17. **Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes GR.** C-reactive protein, interleukin-6 and soluble adhesion molecules as predictors of progressive peripheral atherosclerosis in the general population. *Circulation* 2005;112:976-983.
18. **Yamagushi M, Suwa H, Miyasaka M, Kumada K.** Selective inhibition of vascular cell adhesion molecule-1 expression by verapamil in human vascular endothelial cells. *Transplantation* 1997;63:759-764.
19. **Eurico DT, Majumdar SR, Tsuyuki RT, Johnson JA.** Reduced mortality associated with the use of ACE inhibitors in patients with type-2 diabetes. *Diabetes care* 2004;27:1330-1334.
20. **Rubio AF, Arceo A, Vargas G, Rodríguez L, Lozano JJ, Treviño C.** The effect of trandolapril and its fixed-dose combination with verapamil on proteinuria in normotensive adults with type 2 diabetes. *Diabetes care* 2004;27:1688-1691.

Remodelación selar: una opción quirúrgica para el síndrome de la silla turca vacía primaria

Gerardo Guinto-Balanzar,^{a*} Moisés Mercado-Atri,^b Patricia Guinto-Balanzar,^c Elisa Nishimura-Meguro,^d Miguel Abdo-Toro,^a Norma Aréchiga-Ramos^e y Bárbara Nettel-Rueda^a

Servicios de ^aNeurocirugía, ^bEndocrinología, ^cNeurología, Hospital de Especialidades y ^dEndocrinología, Hospital, Pediatría, CMN Siglo XXI ^eOtorrinolaringología, Hospital Regional "Gabriel Mancera", IMSS
México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 8 de octubre de 2007

Aceptado: 12 de octubre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: La silla turca vacía es una entidad que sólo en raras ocasiones presenta signos y síntomas, dentro de los cuales la afeción en el campo visual es una indicación para el manejo quirúrgico.

Materiales y Metodos: Se analizaron 20 pacientes con silla turca vacía primaria y alteraciones en los campos visuales, que fueron manejados quirúrgicamente con una técnica que denominamos remodelación selar. Fueron 19 mujeres y un hombre; todos ellos, además del déficit visual presentaban cefalea y tres casos elevación en el nivel sérico de prolactina. Se excluyeron los que mostraron aumento en la presión del líquido cefalorraquídeo. El procedimiento quirúrgico consistió en la colocación, por vía transesfenoidal, de un injerto autólogo formado por grasa, aponeurosis y dos láminas de hueso, con dimensiones precisas de acuerdo al tamaño de la silla turca del paciente.

Resultados: Con la cirugía se logró mejorar el déficit visual en 18 pacientes y la cefalea en 17; finalmente, dos de ellos normalizaron su nivel de prolactina. No se presentaron complicaciones serias.

Conclusiones: La remodelación selar es una técnica precisa, sencilla, segura y barata que permite mejorar los síntomas del síndrome de la silla turca vacía primaria, en especial las alteraciones visuales y la cefalea.

Palabras clave:

Aracnoidocele intraselar, cirugía transesfenoidal, déficit visual, quiasmopexia, silla turca vacía

SUMMARY

Background: The empty sella is an entity that only rarely presents signs and symptoms. When noted, visual field deficits are an indication for surgical management.

Material and methods: We studied twenty patients with primary empty sella and visual field deficits surgically treated with a technique termed by us as "sellar remodeling." We treated 19 females and 1 male. Aside from visual deficits, all participants reported headache. We reported an increase in prolactin serum level in three cases. Patients with an increase in cerebrospinal fluid pressure were excluded. The surgical procedure involved placing through a transsphenoidal route an autologous graft formed by fat, aponeurosis and two bone lamina, with precise dimensions according to each patient's sella turca.

Results: After surgery, visual deficits improved in 18 patients and headache in 17. Two patients displayed normal prolactin levels. No serious complications were reported during surgery.

Conclusions: Sellar remodeling is a precise, simple, safe and inexpensive technique that significantly improves symptoms such as visual deficits and headache observed in primary empty sella syndrome.

Key words:

Intrasellar arachnoidocele, transsphenoidal surgery, visual deficits, chiasmopexy, empty sella

Introducción

La silla turca vacía primaria se caracteriza por migración del espacio subaracnoideo hacia la fosa pituitaria. En estricto sentido, esto no puede considerarse una entidad patológica sino un estado anatómico con hallazgos radiológicos característicos y no siempre con manifestaciones clínicas; de hecho, la mayoría de los pacientes son asintomáticos y se efectúa este diagnóstico como un hallazgo en los estudios de imagen que son indicados por diversos motivos, pero que no requieren tratamiento alguno. Existe, sin embargo, un

número reducido de pacientes que refieren ciertos datos clínicos, estableciéndose el diagnóstico de síndrome de la silla turca vacía primaria. La fístula de líquido cefalorraquídeo, déficit visual, cefalea y las alteraciones endocrinológicas son, entre otros, los signos y síntomas referidos con mayor frecuencia, siendo la primera y la segunda las únicas en donde se indica un manejo quirúrgico.

Cuando existe fístula de líquido cefalorraquídeo el objetivo quirúrgico primario es, sin discusión, sellar herméticamente el sitio de fuga; sin embargo, cuando el déficit visual es el problema, la situación se vuelve altamente controver-

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Gerardo Guinto-Balanzar. Jefatura del Servicio de Neurocirugía, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Cuauhtémoc 330, Col. Doctores. Tel.: (55) 5627 6900, extensión 21126. Correo electrónico: gguinto@prodigy.net.mx.

tida, dado que existe una amplia variedad de procedimientos que se han propuesto para su corrección. Hemos diseñado una técnica quirúrgica que denominamos remodelación selar, como una opción para los pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria que presentan alteraciones visuales. En este trabajo reunimos una serie de 20 pacientes con esta alteración, en quienes la técnica fue aplicada, presentándose un análisis clínico preoperatorio, descripción quirúrgica y una evaluación de los resultados a fin de analizar si el procedimiento propuesto es de utilidad. No encontramos en la literatura internacional una serie que incluya un mayor número de pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria y déficit en los campos visuales manejados quirúrgicamente.

Material y métodos

Fueron incluidos los pacientes con diagnóstico de síndrome de la silla turca vacía primaria con alteraciones en los campos visuales, atendidos de noviembre de 1991 a octubre de 2006. Todos fueron sometidos a un protocolo consistente en una valoración clínica integral, estudios radiológicos, oftalmológicos, endocrinológicos y neurológicos. Los pacientes con algún antecedente de cirugía hipofisaria, radiación, tumor hipofisario o manejo endocrinológico previo fueron excluidos.

Protocolo clínico

Valoración clínica integral: al momento del internamiento se realizó una historia clínica completa, poniendo especial interés en determinar si los pacientes tenían obesidad o hipertensión arterial; de igual forma se registró el número de embarazos y partos. Se consideró a un paciente con sobrepeso¹ cuando su índice de masa corporal era mayor o igual a 25 kg/m² y obeso cuando era mayor o igual a 30 kg/m²; la hipertensión arterial se diagnosticó cuando la cifra sistólica era mayor o igual a 140 mm Hg y la diastólica mayor o igual a 90 mm Hg. Eran sometidos, además, a una valoración psicométrica para descartar, en lo posible, que alguna de las manifestaciones clínicas pudiera ser parte de un síndrome conversivo. Finalmente, se efectuaban los estudios rutinarios preoperatorios de laboratorio y gabinete.

Estudios radiológicos: se practicó a los pacientes una resonancia magnética simple y contrastada, con tiempos de recuperación T1 y T2, cortes axiales y coronales, con énfasis primordial en la región selar. Se analizaba predominantemente el grado de migración del espacio subaracnoideo a la silla turca, mediante el cual se establecía el diagnóstico de silla turca vacía primaria. Se consideraron para su inclusión, sólo los pacientes que presentaban la denominada silla turca vacía total o severa, es decir, cuando el líquido cefalorraquídeo llenaba más de 60% del volumen de la silla.²

En la resonancia magnética se analizó, además, la morfología específica del sistema visual supraselar, a fin de definir si éste se encontraba o no herniado hacia la silla turca. Para ello se consideró que la vía visual se encontraba herniada

cuando el descenso de alguna de sus porciones hacia la fosa pituitaria era evidente. También se tomó en cuenta la relación que guardaba el nervio óptico, el quiasma óptico y el piso del tercer ventrículo en la proyección sagital (relación óptico-ventricular). Si estas estructuras formaban una línea recta, se consideraba que los pacientes no presentaban descenso del sistema visual, mientras que si definían un ángulo obtuso, eran considerados con el sistema visual herniado.³ Finalmente, a todos los pacientes se les realizaba una radiografía simple de cráneo en proyección lateral, para efectuar mediciones específicas de la silla turca, tomando en cuenta el factor de magnificación. Para valorar si existía o no aumento del tamaño de la silla se consideraron las dimensiones máximas que han sido reportadas como las más constantes:⁴ 17 mm de longitud, 14 mm de profundidad y 18 mm de anchura.

Estudio oftalmológico: los pacientes eran sometidos a una valoración oftalmológica integral, haciendo especial énfasis en el estudio del fondo de ojo, la realización de una campimetría y la medición de la presión ocular. Si se encontraban signos de hipertensión endocraneana en la fundoscopia o elevación en la presión ocular, los pacientes eran excluidos del estudio. Sólo fueron incluidos los pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria que presentaban alteraciones en el campo visual, pero con el fondo de ojo y tonometría normales.

Valoración endocrinológica: se efectuó perfil hormonal hipofisario basal, donde los pacientes que presentaban alguna alteración eran también excluidos y enviados al servicio de endocrinología para su diagnóstico y tratamiento correspondientes. La única variación hormonal que no se consideró como factor de exclusión fue una elevación en el nivel de prolactina de hasta 100 ng/ml.

Examen neurológico: se efectuaba historia clínica neurológica completa. Una vez hospitalizados, los pacientes eran sometidos a una punción lumbar, con el principal objetivo de medir la presión del líquido cefalorraquídeo; si presentaban elevación en la presión de apertura, eran excluidos del estudio y sometidos a otra modalidad terapéutica. Así mismo, se efectuaba estudio citoquímico y pruebas específicas para el diagnóstico de neurocisticercosis y tuberculosis que, de ser anormales, también eran criterios de exclusión.

Procedimiento quirúrgico

El objetivo primordial del manejo quirúrgico era lograr una elevación del contenido selar para reposicionar los elementos anatómicos.⁵ Los pacientes eran colocados en una posición habitual para un abordaje transesfenoidal, es decir, en decúbito dorsal, con la cabeza fija en tres puntos, flexionada e inclinada lateralmente a la izquierda. Además, se mantenía flexionado el miembro inferior derecho, a fin de preparar la cara lateral del muslo, sitio de obtención del injerto. El cirujano se colocaba frente al paciente y del lado derecho del mismo; en todo momento se contaba con el apoyo del fluoroscopio y el microscopio quirúrgico. La técnica de abordaje era la misma empleada en cualquier cirugía transesfenoidal hasta llegar al piso de la silla turca.⁶ Se procedía entonces a la apertura del piso, procurando no

efectuar una ventana inicial muy amplia (un cuadrado de aproximadamente 6 a 8 mm por lado). Una vez expuesta la duramadre, se realizaba un despegamiento gradual de ésta mediante bandas de algodón prensado (cotonoides), procurando no *empaquetar* en exceso, para lo cual se empleaba el fluoroscopio. A manera de hemostasia se dejaba este paquete de cotonoides transitoriamente mientras se preparaba el injerto que se colocaría para mantener la elevación del contenido selar. La preparación del injerto y apertura del piso selar se efectuaban como sigue (Figura 1): se extraía del muslo uno o varios fragmentos de grasa, los cuales eran envueltos con un cuadrángulo de fascia lata para formar un *paquete* que se fijaba mediante uno o varios puntos con material no absorbible. Este paquete se colocaba entre dos láminas de hueso, obtenidas del septum nasal durante el abordaje y que tenían las dimensiones precisas de acuerdo con el tamaño de la silla turca para formar una especie de sándwich, mismo que se mantenía fijo con el mismo material de sutura no absorbible, lo que finalmente conformaba el injerto (Figura 1A). Para sus dimensiones exactas se tomaba

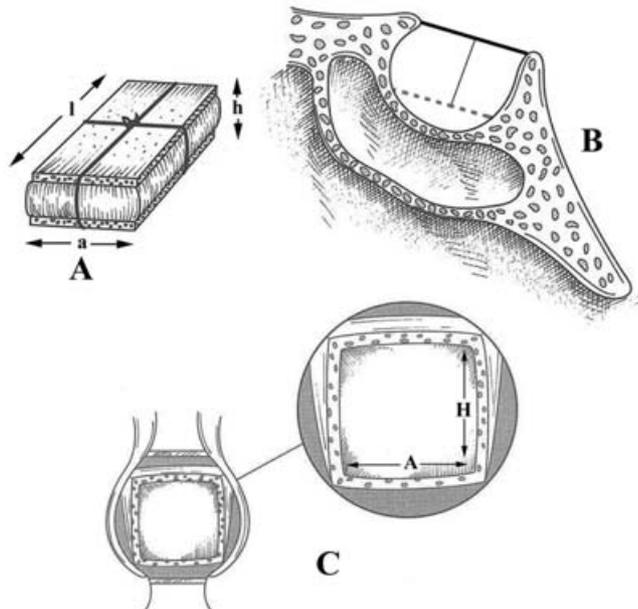


Figura 1. Dimensiones del injerto. La longitud del injerto (flechas l en la Figura A) era igual que la distancia anteroposterior de la silla turca medida en su piso (línea punteada en la Figura B). La altura del injerto (flechas h en la Figura A), correspondía a la altura de la silla (línea delgada vertical en la Figura B), a la que se le restaban 1 a 3 mm equivalentes al tamaño de la glándula hipófisis. Finalmente, la anchura del injerto (flechas a en la Figura A) era de 1 a 3 mm menor que la distancia intercarotídea (medida en el corte coronal de la resonancia magnética). Las dimensiones de la apertura del piso selar se adaptaban al tamaño del injerto como sigue (Figura C): la apertura en sentido transversal (flechas A en la Figura C) debía ser 1 a 2 mm mayor que lo ancho del injerto, mientras que la apertura en sentido vertical (flechas H en la Figura C) debía ser de 1 a 2 mm mayor que lo alto del bloque.

en cuenta la imagen lateral de la silla turca (Figura 1B), donde se trazaba una línea en el sitio anatómico correspondiente al diafragma selar, es decir, el plano interclinoideo (Figura 1B, línea gruesa); se trazaba entonces otra línea, paralela a la anterior, pero en el punto de confluencia entre el dorso y el piso de la silla turca (Figura 1B, línea punteada), que es el sitio donde quedaría asentado el injerto. Las dimensiones de esta segunda línea debían corresponder a la longitud del injerto (Figura 1A, flecha l). A continuación se medía la distancia existente entre estas dos líneas horizontales (Figura 1B, línea delgada vertical), a la cual se restaba la altura aproximada de la glándula hipófisis (1 a 3 mm), lo que correspondía a la altura del injerto (Figura 1A, flecha h). Finalmente, la anchura del mismo (Figura 1A, flecha a), era de 1 a 3 mm menor al espacio intercarotídeo, obtenido en la proyección coronal de la resonancia magnética.

Una vez esto, se retiraban los cotonoides de la fosa pituitaria y se procedía a adaptar la apertura de la selar a las dimensiones del injerto como sigue (Figura 1C): la apertura en sentido transversal (Figura 1C, flecha A) debía ser 1 a 2 mm mayor que el ancho del injerto, mientras que la apertura en sentido vertical (Figura 1C, flecha H) debería ser 1 a 2 mm mayor que la altura del injerto. Es importante mencionar que hay que tomar cuidadosamente las medidas del injerto, ya que una vez realizado es casi imposible modificarlo sin verse obligado a cortar las suturas, lo que prolongaría el tiempo quirúrgico.

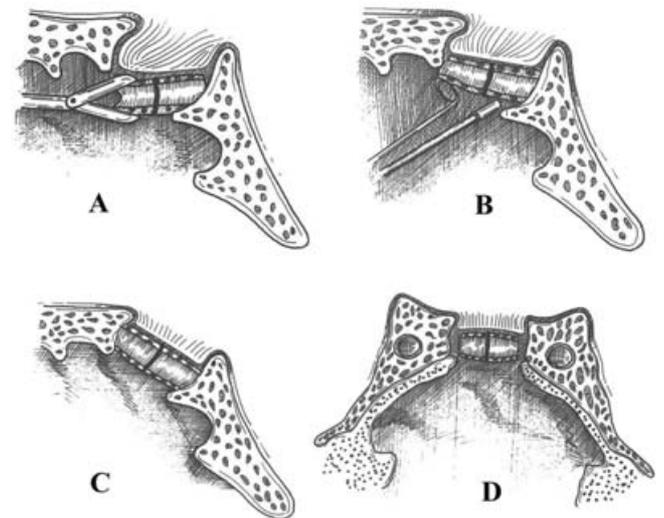


Figura 2. Introducción del injerto. El bloque se tomaba por su extremo anterior con las pinzas de biopsia y se colocaba inicialmente su extremo posterior en el punto de unión del piso con el dorso selar (A). Posteriormente, el extremo anterior del injerto se posicionaba ayudándose con la cucharilla y el aspirador (B). Una vez colocado el injerto, el espacio subaracnoideo era rechazado hacia la región supraselar, con lo que se completaba la aracnoidopexia. C) Vista sagital. D) Vista coronal.

A continuación se procedía a la introducción del injerto de la siguiente manera (Figura 2): el bloque se tomaba por su extremo anterior con las pinzas de biopsia y era introducido a la silla turca, colocando inicialmente su extremo posterior en el punto de confluencia entre el piso y el dorso selar (Figura 2A); hecho esto se posicionaba el extremo anterior del bloque empleando el aspirador y una cucharilla de 3 mm en ángulo recto (Figura 2B). Si las medidas de la silla turca, injerto y apertura selar eran obtenidas correctamente, la introducción del injerto era muy sencilla; hay que considerar que al estar éste formado por dos bloques de hueso, se podía controlar su posición exacta durante la cirugía mediante la fluoroscopia. Si el cirujano dudaba de la colocación del injerto, éste era recolocado; para ello era necesario inicialmente cortar las suturas con el bisturí, a fin de lograr su extracción de manera más simple. Con este procedimiento se lograba rechazar el espacio subaracnoideo a su sitio anatómico correspondiente (Figuras 2C y 2D).

Finalizada la cirugía los pacientes eran extubados y trasladados a la unidad de recuperación donde permanecían durante 90 a 120 minutos. Posteriormente se mantenían en hospitalización por un tiempo promedio de cinco días.

Seguimiento

Una vez egresados, los pacientes eran controlados por la consulta externa donde, además de las evaluaciones clínicas periódicas, se efectuaban estudios de resonancia magnética y campimetría a los dos, ocho y 24 meses y, posteriormente sólo si se consideraba necesario; de igual forma se efectuaba el mismo perfil endocrinológico hipofisario solicitado en el preoperatorio. El tiempo de seguimiento varió entre cuatro y 120 meses, con un promedio de 36 meses.

Resultados

Durante el periodo del presente estudio, fueron identificados 127 pacientes mediante imágenes de resonancia magnética, de presentar hallazgos sugestivos de silla turca vacía primaria; solamente 23 tuvieron alteraciones en el campo visual, de los cuales tres fueron excluidos dado que se encontraron cifras elevadas de la presión del líquido cefalorraquídeo en la punción lumbar; los 20 pacientes restantes fueron incluidos en esta serie. Este grupo estuvo formado por 19 mujeres y un hombre, con edad entre 36 y 56 años, con un promedio de 42.4 años al momento del diagnóstico. De las 19 pacientes femeninas, 13 presentaban sobrepeso, dos eran obesas y ocho tenían hipertensión arterial (Cuadro I); el hombre estaba en un peso cercano al ideal. El número de embarazos en las 19 pacientes fue de 3.8 en promedio (con límites entre dos y ocho), siendo dos de ellas nulíparas; en ocho pacientes (todas mujeres) fue diagnosticada hipertensión arterial y, finalmente, en ninguno de los 20 pacientes se encontraron alteraciones psiquiátricas sugestivas de síndrome conversivo.

En todos los casos, la resonancia magnética mostró los hallazgos típicos de esta entidad, caracterizados por herniación del espacio subaracnoideo a la silla turca (Figura 3). En

la proyección sagital se apreciaba cómo el líquido llenaba casi en su totalidad la fosa pituitaria (Figura 3 izquierda). Además, únicamente en tres pacientes se identificaron signos radiológicos claros de migración caudal de alguna de las porciones del sistema visual; por otro lado, en nueve (incluyendo a los tres mencionados) se pudo demostrar que la relación óptico-ventricular formaba un ángulo, mientras que los 11 restantes no presentaban evidencia radiológica de herniación de las vías visuales. En la proyección coronal era posible observar cómo el líquido cefalorraquídeo ocasionaba un desplazamiento del tejido hipofisario hacia el piso y paredes laterales de la silla turca, manteniendo el tallo pituitario en la región central. Esta imagen característica se conoce también como *signo del ancla* y fue encontrada en 18 pacientes (Figura 3 derecha). Finalmente, las mediciones de la silla turca mostraron que en solamente cinco pacientes se apreciaba un aumento en su tamaño.

El tiempo de evolución del déficit visual fue de 6.4 meses en promedio (con límites entre dos y 19 meses), siendo el síntoma inicial únicamente en dos casos. La afección campimétrica encontrada con mayor frecuencia fue una reducción concéntrica de ambos campos visuales, que se presentó en 12 pacientes (incluyendo al hombre). Sólo en cuatro pacientes se observó el patrón típico de las lesiones quiasmáticas, es decir, hemianopsia bitemporal; dos pacientes más presentaban cuadrantanopsia bitemporal superior y dos, hemianopsia temporal derecha.

En tres pacientes (mujeres) se determinó elevación del nivel sérico de prolactina, con cifras que variaron entre 32 y 75 ng/ml (promedio de 44.3 ng/ml). Todas presentaban alguna alteración menstrual, predominantemente oligomenorrea, siendo el síntoma inicial en uno de los casos.

La cefalea fue indudablemente el síntoma predominante en esta serie, dado que se presentó en todos los casos y fue lo que motivó la realización de los estudios de imagen en 17. Ésta era calificada como de gran intensidad en 12 pacientes, de moderada intensidad en seis y leve en dos (uno del sexo masculino). El tiempo de evolución también fue variable, pero en general con tendencia crónica, siendo de 18 meses en promedio (con límites entre seis y 62 meses). Los pacientes referían que la cefalea era universal, diaria, pulsátil, sin predominio de horario y localizada, sobre todo en la región frontal en forma bilateral. En cuatro pacientes llegaba a despertarlos por la noche y seis tenían que suspender su actividad laboral debido a este síntoma.

Los resultados quirúrgicos se observaron como sigue: en los estudios de resonancia magnética practicados a los dos meses de la cirugía, en todos los pacientes fue posible observar una elevación exacta del contenido de la silla turca,

Cuadro I. Cuadro clínico general

Pacientes	Núm. total	Sobrepeso	Obesidad	HA*
Mujeres	19	13	2	8
Hombres	1	0	0	0

* Hipertensión arterial

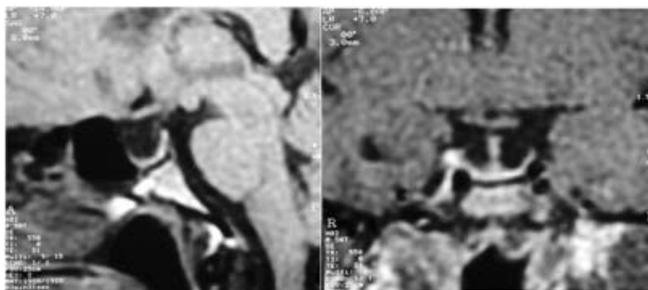


Figura 3. En la resonancia magnética en proyección sagital (izquierda) se observa migración del líquido cefalorraquídeo hacia la silla turca. En la proyección coronal (derecha) se aprecia la hipófisis desplazada hacia el piso y las paredes laterales de la silla turca, permaneciendo el tallo en el centro, lo que da el característico signo del ancla.

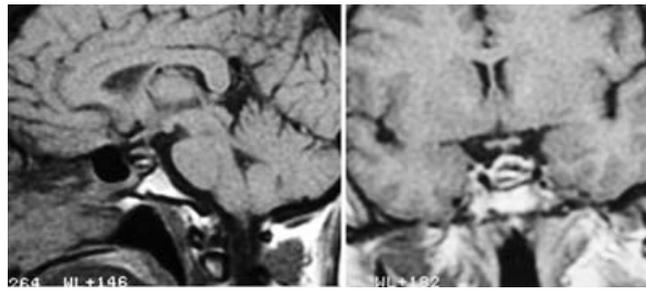


Figura 4. Resonancia magnética de control posoperatorio en proyección sagital (izquierda) y coronal (derecha) efectuada a los dos años de la cirugía del mismo paciente mostrado en la figura 3. Obsérvese cómo se ha logrado completa remodelación del contorno selar, permitiendo rechazamiento superior del espacio subaracnoideo (aracnoidopexia); así mismo, se puede apreciar que no existe reabsorción del injerto.

encontrando el injerto en buenas condiciones. En 19 estos hallazgos persistieron durante todo el tiempo de seguimiento (Figura 4), mientras que en un paciente se encontraron signos de reabsorción parcial del injerto a los dos años de la intervención. Con la cirugía se pudo observar que en 18 pacientes mejoró ostensiblemente el déficit campimétrico referido en el preoperatorio (Cuadro II), llegando casi a la normalidad en la mayoría de ellos. Dos pacientes presentaban aún limitación en los campos periféricos, pero referían mejoría notable. Es importante agregar que estos cambios positivos se observaron desde la valoración oftalmológica posoperatoria inicial realizada a los dos meses de la intervención, y persistieron durante todo el tiempo de seguimiento. Una paciente que refería hemianopsia bitemporal mejoró inicialmente, pero después recayó; fue ella en quien se detectó la reabsorción parcial del injerto. Finalmente, el paciente masculino no sólo no mejoró en su déficit visual sino que presentó progresión del síntoma; ha sido estudiado integralmente sin encontrar la causa de este deterioro visual.

En dos de los tres pacientes con hiperprolactinemia se normalizaron las cifras de prolactina después de la intervención, mientras que un paciente permaneció con cifras elevadas de la hormona (75 ng/ml), por lo que fue manejada con

agonistas dopaminérgicos. Cabe agregar que esta elevación persistente de la hormona se presentó aun cuando mejoraron las demás manifestaciones clínicas y el injerto no mostró datos de reabsorción.

Con el procedimiento fue posible mejorar la cefalea en 17 pacientes, logrando desaparecer incluso en 15. En dos permaneció igual: se trató de la mujer en quien se reabsorbió el injerto, mientras que el otro era un paciente masculino. Una de las pacientes con cefalea presentó progresión de ésta, a pesar de que había mejorado notablemente el déficit visual; sin embargo, cabe aclarar que la paciente era la que presentaba las cifras de presión arterial más elevadas y de difícil control.

Las complicaciones del abordaje se observaron en tres casos: dos tuvieron perforaciones septales que se manejaron conservadoramente, mientras que un paciente mostró datos de fístula de líquido cefalorraquídeo en el posoperatorio inmediato, que fue manejada con reposo; la respuesta fue favorable.

Cuadro II. Cuadro clínico neurológico y resultados posoperatorios

Signo o síntoma	Resultado posoperatorio			
	Núm. total	Mejor	Igual	Peor
Déficit visual	20	18	1	1
Reducción concéntrica	12	11		1
Hemianopsia bitemporal	4	3	1*	
Cuadrantanopsia bitemporal sup.	2	2		
Hemianopsia temporal derecha	2	2		
Cefalea	20	17	2	1**
Hiperprolactinemia	3	2	1	

* Paciente con reabsorción del injerto

** Paciente con hipertensión arterial de difícil control

Discusión

El término *silla turca vacía* fue propuesto por Busch en 1951⁷ para referirse a una condición anatómica peculiar observada en estudios de autopsia, particularmente en mujeres, caracterizada por una fosa pituitaria prácticamente vacía, ya que la glándula hipófisis se encontraba aplastada hacia el piso, dorso y paredes laterales. En 1968, Kaufman⁸ demostró que la morfología hipofisaria se debía en realidad a un desplazamiento del espacio subaracnoideo, pero se siguió aceptando el término original.

Si consideramos que en esta entidad en realidad la silla turca no se encuentra vacía sino llena por líquido cefalorraquídeo, hipófisis, tallo pituitario y en ocasiones el sistema visual y el tercer ventrículo, el calificativo de vacía es incorrecto. Por ello es preferible denominar a esta condición tal como lo sugiere Leclercq,⁹ es decir, *aracnoidocele intraselar*, ya que de esta manera se expresa el detalle anatómico

primordial. Sin embargo, considerando que esta denominación no ha sido muy popular en la literatura internacional, preferimos emplear el término más conocido durante la elaboración de este trabajo.

Hay dos variedades de silla turca vacía:¹⁰ se denomina secundaria cuando existe el antecedente de una lesión hipofisaria que ha sido tratada ya sea mediante cirugía, radioterapia o medicamentos; por otro lado, se conoce como silla vacía primaria cuando no existe alguno de estos antecedentes. Se han propuesto varios mecanismos para explicar la patogénesis de la silla vacía primaria, ninguno de los cuales ha sido demostrado. Se ha mencionado como posible causa a la ruptura de un quiste aracnoideo intraselar preexistente,¹¹ pero para que esto sea congruente con los hallazgos radiológicos, donde se ha demostrado libre circulación del líquido cefalorraquídeo craneal y selar, el supuesto quiste tendría que romperse hacia el espacio subaracnoideo, lo cual nunca ha sido probado. Otra teoría que también ha sido sugerida es que el origen es una insuficiencia vascular focal, que ocasiona un infarto del tejido pituitario;¹² el argumento en contra de esta hipótesis se fundamenta en la extraordinariamente baja frecuencia con que estos pacientes presentan alteraciones endocrinológicas. Otros autores han sugerido que, considerando su alta frecuencia en mujeres multíparas, la fisiopatología se fundamenta en una hipertrofia pituitaria durante los embarazos, seguida de una involución tisular especialmente durante la menopausia.⁴ Sin embargo, la multiparidad no es una condición obligada,^{4,1,13} además, aunque baja, como lo vimos en nuestra serie, también existe la posibilidad de que se presente en el sexo masculino. Finalmente, la teoría más aceptada a la fecha propone una incompetencia del diafragma selar que permite la migración del líquido cefalorraquídeo hacia la silla turca.⁸ El diafragma selar es una reflexión de la duramadre que forma el techo anatómico de la fosa pituitaria,¹⁴ que en condiciones normales mantiene al líquido fuera de esta área y presenta un orificio en su porción central para permitir el paso del tallo pituitario. Una debilidad o cierre insuficiente del orificio de esta membrana es el fundamento fisiopatológico del síndrome de la silla turca vacía primaria. Sin embargo, algún grado de incompetencia diafragmática ha sido demostrado en 22 a 77% de las personas normales, sin que necesariamente presenten herniación del espacio subaracnoideo, lo cual hace suponer que aunque esta anomalía se considera esencial para la presencia de una silla turca vacía primaria, otros factores deben también ser relevantes,¹⁵ entre ellos: presión del líquido cefalorraquídeo, influencia hormonal, obesidad, hipertensión arterial, cambios hipofisarios ocurridos durante el embarazo o combinación de alguno de estos factores.

El papel que desempeña el aumento de la presión del líquido cefalorraquídeo en la formación del síndrome de la silla turca vacía primaria ha sido también sujeto a debate;¹⁶ esta idea surgió porque esta entidad comparte muchas de sus peculiaridades clínicas (en especial la cefalea y la reducción concéntrica de los campos visuales) con las del denominado *pseudotumor cerebri* o hipertensión endocraneana benigna, que se caracteriza por un marcado aumento de la presión endocraneal de causa desconocida. Si bien el

papiledema es un signo de esta entidad, puede existir hipertensión endocraneal sin papiledema;¹⁷ por ello, para descartar esta asociación en nuestros pacientes decidimos realizar una raquimánometría, independientemente de los resultados de la fundoscopia. Solamente tres de 23 pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria y déficit visual presentaban aumento de la presión del líquido cefalorraquídeo, lo cual va de acuerdo con otras series similares,^{1,18} por lo que podemos afirmar que nuestros hallazgos sugieren que la presión del líquido cefalorraquídeo no influyó en la génesis del cuadro clínico.

En la fisiopatología del síndrome de la silla turca vacía primaria se ha propuesto que la debilidad o incompetencia del diafragma puede ser secundaria, como ya se mencionó, a una posible influencia hormonal, fundamentado en las variaciones fisiológicas que presenta el volumen de la glándula hipófisis, especialmente en mujeres;¹⁹ si bien ello podría explicar por qué este síndrome es más frecuente en el sexo femenino, hasta el momento este hecho no ha sido demostrado. De igual forma, el papel que desempeña la obesidad tampoco ha sido aclarado, pero se ha mencionado como una posible explicación que la obesidad mórbida puede inducir hipercapnia y que ésta a su vez puede ocasionar un incremento crónico de la presión de líquido cefalorraquídeo, que debilita las fibras del diafragma selar ocasionando la herniación del espacio subaracnoideo. Sin embargo, similar a otras series,^{1,19,20} nosotros encontramos obesidad extrema en sólo un mínimo porcentaje (dos pacientes). Finalmente, se ha encontrado una clara correlación entre la hipertensión arterial y la génesis de este síndrome.^{1,4,10} En conclusión, se desconoce la causa real de los cambios anatómicos en el síndrome de la silla turca vacía primaria. Si bien la debilidad del diafragma selar es la condición más aceptada, deben existir otros factores que precipiten la entidad.

La causa de las manifestaciones clínicas en el síndrome de la silla turca vacía primaria es también motivo de controversia; si bien la cefalea se considera el síntoma más frecuente,^{2,21} su origen no ha sido demostrado. Se ha propuesto que la migración del espacio subaracnoideo ocasiona tracción en las estructuras vasculares meníngeas sensibles al dolor. Esto puede ser apoyado por nuestros resultados, ya que tan pronto se reconstituyeron los elementos anatómicos de la silla turca, este síntoma desapareció en la mayoría de las pacientes. Las únicas explicaciones que podemos proponer respecto al hecho de que persistiera en tres de ellos son: hipertensión arterial de difícil control y reabsorción del injerto; en el paciente restante no tenemos una explicación objetiva.

Al igual que otras series,^{2,19} pudimos corroborar en nuestro análisis que las alteraciones endocrinológicas en el síndrome de la silla turca vacía primaria son generalmente mínimas y sin consecuencia clínica. Es indudable que la alteración hormonal referida con mayor frecuencia es el incremento en el nivel de prolactina,^{1,19} lo que también confirmamos en nuestros pacientes. Se ha encontrado que la hiperprolactinemia se presenta en alrededor de 11% de los pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria, y se ha propuesto como causa de esta elevación hormonal a una compresión en el tallo pituitario como consecuencia de una

alteración en la dinámica local de líquido cefalorraquídeo.²² Sin embargo, dada su baja frecuencia, no se puede descartar una asociación coincidental. Dos de los tres pacientes con hiperprolactinemia se normalizaron después del procedimiento, lo cual no necesariamente implica que haya sido por la cirugía. Hay que recordar que el simple estrés (por el temor a la cirugía, cefalea o las alteraciones visuales) pudo haber sido la causa de esta elevación en el preoperatorio, y que al desaparecer éste una vez operados, se normalizaran los niveles de esta hormona. Finalmente, no encontramos en nuestros pacientes otras afecciones endocrinológicas aún más difíciles de explicar y que, aunque raras (menos de 6%), también han sido descritas en el síndrome de la silla turca vacía primaria, como la deficiencia de hormona de crecimiento, hipopituitarismo, hipogonadismo y diabetes insípida.¹

El déficit visual ha sido informado en 1.6 a 16% de los pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria.^{1,18} Lo cual es discretamente inferior a 18% encontrado en la presente serie. Desconocemos con certeza el motivo por el cual observamos mayor índice de alteraciones campimétricas, pero con probabilidad se deba a que nuestro departamento es quirúrgico, por lo que son referidos en especial los casos con los síntomas más floridos. Es generalmente aceptado que la causa del déficit visual en estos pacientes se debe a que parte del sistema visual supraselar se desplaza hacia la silla turca, debido a la tracción ejercida por el espacio subaracnoideo;^{2,3} sin embargo, hay también descritos pacientes con una afección campimétrica evidente, pero con el sistema visual supraselar intacto.^{5,23} En nuestra serie encontramos que 11 pacientes (poco más de la mitad de los casos) no mostraban signos radiológicos que sugirieran herniación del sistema visual; esto no significa que no existiera algún grado de desplazamiento microscópico del mismo, pero también puede indicar la presencia de algún otro mecanismo fisiopatológico que pudiera explicar este déficit. Se ha propuesto^{20,23} que la tracción del tallo hipofisario ejercido por el espacio subaracnoideo puede ocasionar alguna alteración en el aporte microvascular en el sistema visual, generando este déficit y que puede no ser visible incluso en los estudios de imagen de alta resolución. Por otro lado, llama la atención la reversibilidad de estas alteraciones visuales, misma que pudimos constatar en nuestros pacientes, lo cual sugiere que cualquiera que fuese el mecanismo fisiopatológico involucrado en el déficit campimétrico, éste no es lo suficientemente severo como para dañar en forma definitiva el sistema visual en la mayoría de los casos.

Considerando las diferentes variedades morfológicas de la vía visual supraselar, es explicable la gran variabilidad del patrón de afección campimétrica descrita en el síndrome de la silla turca vacía primaria, sin embargo, nuestros hallazgos son similares a los indicados en otras series,^{2,10,18,24} donde la reducción concéntrica fue la alteración más encontrada. Hasta el momento se desconoce el motivo por el cual la hemianopsia bitemporal, déficit clásico en lesiones quiasmáticas, no es el patrón predominante en estos casos, como sucede en los adenomas hipofisarios.

La mayoría de los pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria que requieren tratamiento quirúrgico son ope-

rados por vía transesfenoidal. Este procedimiento ha sido denominado *quiasmapexia*;^{25,26} sin embargo, este término es incorrecto ya que al efectuar la cirugía por esta vía no sólo se eleva el sistema visual sino casi la totalidad del contenido selar. Por otro lado, no todos los pacientes con síndrome de la silla turca vacía primaria presentan desplazamiento del sistema visual hacia la silla turca, por lo que la posición del quiasma óptico no se modifica cuando se efectúa la cirugía. Es por ello que la denominación más correcta del procedimiento es la de *elevación del contenido selar*^{24,25} o *aracnoidopexia*, dado que así se describe de una manera más simple el objetivo quirúrgico en esta entidad, que es la elevación del espacio subaracnoideo. Han sido descritas múltiples técnicas y en todas se busca mantener la elevación del contenido de la silla turca en forma definitiva, lo que varía es el material para lograrlo. Se han utilizado tejidos obtenidos del propio paciente, tales como fragmentos de hueso,²⁴ grasa o músculo,²⁷ o una combinación de tejidos.^{18,28} La principal ventaja de estos materiales es que al ser tejidos autólogos, la posibilidad de rechazo es prácticamente nula; sin embargo, su principal desventaja es que, además de que implica otra cicatriz en el sitio donde son extraídos, estudios a largo plazo han mostrado que la mayoría de éstos se reabsorben. Por ello que se ha propuesto también el empleo de materiales sintéticos tales como láminas de aluminio,²⁹ resortes de silastic³⁰ o balones desprendibles.³¹ Si bien con el uso de estos materiales se evita la realización de otra incisión y se puede lograr una reconstrucción casi exacta de la silla turca, el hecho de que sean materiales inertes y en contacto con los senos paranasales, se incrementa el riesgo de infección;³² además, en el caso concreto de los balones desprendibles, en un seguimiento a largo plazo se ha visto que finalmente se desinflan.³³ El procedimiento propuesto en este trabajo si bien no evita la realización de otra incisión, permite moldear un injerto con dimensiones ajustadas casi en forma exacta al contorno de la silla turca del paciente, por lo que decidimos denominarlo *remodelación selar*, ya que se logra una reconstrucción del contorno de la silla prácticamente a la medida del paciente. Las principales ventajas del mismo consisten en que formar el bloque fuera del campo quirúrgico es mucho más fácil que realizarlo *in situ*, como se efectúa en las otras técnicas que emplean materiales autólogos; el grado de elevación del contenido selar es muy preciso, lo que evita el riesgo del *sobreempaquetamiento*³⁴ y, además, a diferencia de la grasa y músculo, su consistencia firme facilita su introducción en la fosa pituitaria. Por otro lado, el hecho de que esté formado por dos láminas de hueso ofrece otras ventajas: en primer lugar, se puede tener un control fluoroscópico transoperatorio del nivel de ascenso del contenido selar y, en segundo lugar, al estar ambas láminas en contacto con el hueso de la silla turca se promueve su osificación en el sitio exacto de su inserción, lo cual permite la persistencia de dicha elevación aún a largo plazo. Este hecho lo pudimos constatar en nuestra serie, donde un paciente presentó reabsorción del injerto, lo cual seguramente fue debido a un error durante la realización de las mediciones o durante su colocación. Finalmente, al ser un procedimiento seguro, económico y técnicamente sencillo, sugerimos su aplicación en pacientes similares, sin embargo

hay que aclarar que la elevación del contenido selar que este método ofrece, no implica un sellado hermético del piso de la silla, por lo que no recomendamos su aplicación en casos de fístula de líquido cefalorraquídeo asociada.

Referencias

1. **De Marinis L, Bonadonna S, Bianchi A, Maira G, Giustina A.** Primary empty sella. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5471-5477.
2. **Jaffer KA, Obbens EA, El Gammal TA.** Empty sella: review of 76 cases. *South Med J* 1979;72: 294-296.
3. **Kaufman B, Tomsak RL, Kaufman BA, Arafah BU, Bellon EM, Selman WR, et al.** Herniation of the suprasellar visual system and third ventricle into empty sellae: morphologic and clinical considerations. *AJR Am J Roentgenol* 1989;152:597-608.
4. **Neelon FA, Goree JA, Lebovitz HE.** The primary empty sella: clinical and radiographic characteristics and endocrine function. *Medicine (Baltimore)* 1973;52:73-92.
5. **Guinto G, Del Valle R, Nishimura E, Mercado M, Nettel B, Salazar F.** Primary empty sella syndrome: the role of visual system herniation. *Surg Neurol* 2002;58:42-48.
6. **Guinto G, Cohn F, Pérez-de la Torre R, Gallardo M.** Pituitary macroadenomas: transsphenoidal approach. En: Sekhar LN, Fessler RG, editors. *Atlas of neurosurgical techniques: brain*. NY, New York: Thieme Medical Publishers; 2006. pp. 670-679.
7. **Busch W.** Die Morphologie der sella turcica und ihre beziehungen zur hypophyse. *Virchows Arch* 1951;320:437-458.
8. **Kaufman B.** The empty sella turcica—a manifestation of the intrasellar subarachnoid space. *Radiology* 1968;90:931-941.
9. **Leclercq TA, Hardy J, Vezina JL, Mercky F.** Intrasellar arachnoidocele and the so-called empty sella syndrome. *Surg Neurol* 1974;2:295-299.
10. **Bjerre P.** The empty sella. A reappraisal of etiology and pathogenesis. *Acta Neurol Scand Suppl* 1990;130:1-25.
11. **Obrador S.** The empty sella and some related syndromes. *J Neurosurg* 1972; 36:162-168.
12. **Drury MI, O'Loughlin S, Sweeney E.** Houssay phenomenon in a diabetic. *Br Med J* 1970;2:709-711.
13. **Maira G, Anile C, Mangiola A.** Primary empty sella syndrome in a series of 142 patients. *J Neurosurg* 2005;103:831-836.
14. **Bergland RM, Ray BS, Torack RM.** Anatomic variations in the pituitary gland and adjacent structures in 225 human autopsy cases. *J Neurosurg* 1968;28: 93-99.
15. **Hubbard JL, McDonald TJ, Pearson BW, Laws ER Jr.** Spontaneous cerebrospinal fluid rhinorrhea: evolving concepts in diagnosis and surgical management based on the Mayo Clinic experience from 1970 through 1981. *Neurosurgery* 1985;16:314-321.
16. **Kaye AH, Tress BM, Brownbill D, King J.** Intracranial pressure in patients with the empty sella syndrome without benign intracranial hypertension. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1982;45:209-216.
17. **Foley KM, Posner JB.** Does pseudotumor cerebri cause the empty sella syndrome? *Neurology* 1975;25:565-569.
18. **Spaziante R, de Divitiis E, Stella L, Cappabianca P, Genovese L.** The empty sella. *Surg Neurol* 1981;16:418-426.
19. **Del Monte P, Foppiani L, Cafferata C, Marugo A, Bernasconi D.** Primary empty sella in adults: endocrine findings. *Endocr J* 2006; 53: 803-809.
20. **Wood JG, Dogali M.** Visual improvement after chiasmectomy for primary empty sella turcica. *Surg Neurol* 1975; 3: 291-294.
21. **Catarci T, Fiacco F, Bozzao L, Pati M, Magiar AV, Cerbo R.** Empty sella and headache. *Headache* 1994; 34: 583-586.
22. **Maira G, Anile C, Cioni B, Menini E, Mancini A, De Marinis L, Barbarino A.** Relationships between intracranial pressure and diurnal prolactin secretion in primary empty sella. *Neuroendocrinology* 1984; 38: 102-107.
23. **Braatvedt GD, Corral RJ.** The empty sella syndrome: much ado about nothing. *Br J Hosp Med* 1992;47:523-525.
24. **Olson DR, Guiot G, Derome P.** The symptomatic empty sella. Prevention and correction via the transsphenoidal approach. *J Neurosurg* 1972;37:533-537.
25. **Decker RE, Carras R.** Transsphenoidal chiasmectomy for correction of posthypophysectomy traction syndrome of optic chiasm. Case report. *J Neurosurg* 1977;46: 527-529.
26. **Hamlyn PJ, Baer R, Afshar F.** Transsphenoidal chiasmectomy for long standing visual failure in the secondary empty sella syndrome. *Br J Neurosurg* 1988;2:277-279.
27. **Weiss MH, Kaufman B, Richards DE.** Cerebrospinal fluid rhinorrhea from an empty sella: transsphenoidal obliteration of the fistula. *J Neurosurg* 1973;39:674-676.
28. **Spaziante R, de Divitiis E, Cappabianca P.** Reconstruction of pituitary fossa in transsphenoidal surgery: an experience of 140 cases. *Neurosurgery* 1985;17:453-458.
29. **Kobayashi S, Sugita K, Matsuo K, Inoue T.** Reconstruction of the sellar floor during transsphenoidal operations using alumina ceramic. *Surg Neurol* 1981;15:196-197.
30. **Zona G, Testa V, Sbaffi PF, Spaziante R.** Transsphenoidal treatment of empty sella by means of a silastic coil: technical note. *Neurosurgery* 2002;51:1299-1303.
31. **Nagao S, Kinugasa K, Nishimoto A.** Obliteration of the primary empty sella by transsphenoidal extradural balloon inflation: technical note. *Surg Neurol* 1988;2:455-458.
32. **Spaziante R, Zona G, Testa V.** Primary empty sella syndrome. *Surg Neurol* 2003;60: 177-178.
33. **Gazioglu N, Akar Z, Ak H, Islak K, Kocer N, Seckin MS, et al.** Extradural balloon obliteration of the empty sella. Report of three cases (intrasellar balloon obliteration). *Acta Neurochir (Wien)* 1999;141:487-494.
34. **Barrow DL, Tindall GT.** Loss of vision after transsphenoidal surgery. *Neurosurgery* 1990;27:60-68.

La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México

Patricia Manzano-Gayosso,^{a*} Luis J. Méndez-Tovar,^b Francisca Hernández-Hernández^a y Rubén López-Martínez^a

^aLaboratorio de Micología Médica, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM

^bLaboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología "Ernesto Macotela", Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 12 de octubre de 2007

— Aceptado: 12 de octubre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: Mundialmente se ha observado incremento en los casos de micosis asociada a falla terapéutica. Ante el desconocimiento real de este fenómeno en México, se decidió estudiar la resistencia a antifúngicos.

Material y métodos: Se evaluaron 76 aislamientos de pacientes del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social: 36 con dermatofitosis y 40 con candidiasis. Para dermatófitos se utilizó el método E-test® y para *Candida* spp. el método de microdilución en caldo. Los antimicóticos fueron itraconazol, ketoconazol y fluconazol para dermatófitos; además, voriconazol y anfotericina B para levaduras.

Resultados: De los 36 dermatófitos, siete (19.4%) fueron resistentes a uno o más antifúngicos: tres *Trichophyton rubrum*, tres *T. mentagrophytes* y un *T. tonsurans*. Un *T. rubrum* mostró resistencia a los tres azoles; los seis aislamientos restantes fueron resistentes sólo a fluconazol. De los 40 aislamientos de *Candida*, 11 (27.5%) mostraron resistencia: siete a ketoconazol e itraconazol; tres sólo a itraconazol y uno a ketoconazol. Un aislamiento de *C. glabrata* fue resistente a los cuatro azoles. Ninguna de las levaduras mostró resistencia a anfotericina B.

Conclusiones: La falla terapéutica podría deberse a fenómenos de resistencia. En este trabajo se encontró una resistencia a antifúngicos de 20 y 27.5% en dermatófitos y levaduras, respectivamente.

Palabras clave:

— Dermatófitos, *Candida*, resistencia antifúngica, azólicos

SUMMARY

Background: An increase in mycosis associated with therapeutic failure has been observed worldwide. The dearth of data in Mexico led us to study antifungal resistance.

Material and methods: Seventy six isolates of patients from the Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social were included: 36 with dermatophytoses and 40 with candidiasis. Dermatophytes were assessed using the E-test method and *Candida* spp. using the broth microdilution method. Antifungal drugs included itraconazole, ketoconazole and fluconazole for dermatophytes; in addition, voriconazole and amphotericin B were used to treat yeasts.

Results: From the 36 dermatophytes, seven isolates (19.4%) showed resistance to one or more antifungal drugs: three to *Trichophyton rubrum*, three to *T. mentagrophytes* and one to *T. tonsurans*. One *T. rubrum* isolate was resistant to the three azoles; the other six isolates were resistant to fluconazole only. From the 40 *Candida* isolates, 11 (27.5%) showed resistance: seven to ketoconazole and itraconazole; three only to itraconazole and one to ketoconazole. One *C. glabrata* isolate showed resistance to the four azoles. None of the yeasts showed resistance to amphotericin B.

Conclusion: Therapeutic failure could be caused by drug resistance. In our study we found an antifungal resistance of 20% and 27.5% in dermatophytes and in yeasts respectively.

Key words:

— Dermatophytes, *Candida*, antifungal resistance, azoles

Introducción

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un hecho conocido desde hace más de 50 años. Respecto a los hongos, este fenómeno era poco frecuente en los ochenta del siglo pasado.¹ En los últimos años, el número de casos de micosis con falla terapéutica se ha incrementado en el mundo, lo cual es atribuible a una deficiencia en la función inmunológica, baja biodisponibilidad de los antimicóticos, alteraciones en el metabolismo de los antifúngicos, interac-

ciones medicamentosas y resistencia antifúngica primaria o secundaria.²⁻⁴

Durante muchos años, los compuestos antimicóticos fueron escasos y poco efectivos. Para el tratamiento de las micosis superficiales se contaba únicamente con griseofulvina y nistatina. A partir de mediados del siglo pasado, la comercialización de anfotericina B, aunque tóxica, ayudó de manera importante en el tratamiento de micosis sistémicas.⁵ Con el advenimiento de los azoles tópicos como el miconazol y clotrimazol, y posteriormente los azoles sistémicos como

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Patricia Manzano-Gayosso. Laboratorio de Micología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Tel.: 5623 2458. Correo electrónico: angelesmg@liceaga.facmed.unam.mx.

ketoconazol, itraconazol, fluconazol y voriconazol, el tratamiento de las micosis superficiales y sistémicas se simplificó, mejorando las expectativas de curación en estas infecciones.⁶

Sin embargo, con la pandemia del sida, así como por el uso indiscriminado de drogas esteroides, cirugías y trasplantes, muchos investigadores notaron la aparición de casos de fallas en la terapéutica antimicótica a diversos compuestos como ketoconazol, fluconazol e incluso anfotericina B.⁷⁻⁹

En México, aunque no se han cuantificado los casos de resistencia en hospitales de atención general y de especialidades, se ha observado un incremento importante en el número de pacientes con micosis que no responden a los tratamientos; en algunos casos ha sido posible demostrar deficiencias inmunológicas.^{10,11} En otros, el comportamiento clínico hace sospechar resistencia primaria o secundaria a los antifúngicos, principalmente en quienes reciben estos medicamentos como profilaxis (en casos de trasplantes, sida, enfermedades autoinmunes tratadas con corticosteroides) o tratamientos repetidos por micosis recidivantes.

Con estos antecedentes, en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, se decidió investigar la resistencia antifúngica en dermatófitos, agentes más frecuentes causantes de micosis superficiales, así como en levaduras del género *Candida*, principal causa de micosis oportunistas.

Material y métodos

Cepas: se estudiaron 36 aislamientos de dermatófitos de pacientes con infecciones de diferentes zonas corporales: uñas, 19 casos; piel glabra, ocho; superficie plantar, seis; ingule, dos; cabeza, uno. Fueron obtenidos de 23 mujeres y 13 hombres adultos. Las especies de dermatófitos aisladas fueron *Trichophyton rubrum*, 25; *T. mentagrophytes*, seis; *T. tonsurans*, tres; *Epidermophyton floccosum* y *Microsporum canis*, un aislamiento de cada especie. Los aislamientos fueron conservados en agar dextrosa Sabouraud con antibióticos a 25 °C.

Para determinar la sensibilidad o resistencia, en los dermatófitos se utilizó el método de E-test[®] siguiendo las indicaciones del fabricante para hongos filamentosos y que ya han sido ensayadas por otros autores.¹² Los aislamientos fueron cultivados en agar lactrimel y se incubaron durante siete días a 28 °C. Los conidios fueron suspendidos en solución salina a 0.85% y la concentración se ajustó a 1×10^6 conidios/ml utilizando una cámara de Neubauer. Con un hisopo estéril, la suspensión fue aplicada de manera homogénea sobre placas de agar-RPMI (Gibco); una vez seco el inóculo, se aplicaron las tiras impregnadas con ketoconazol, itraconazol o fluconazol, compuestos disponibles institucionalmente para el tratamiento de las dermatofitosis. Las placas fueron incubadas a 35 °C durante 24 horas y después a 28 °C. Las cajas fueron revisadas diariamente durante cinco días y se registró la concentración mínima inhibitoria. Aunque no se conocen con precisión los puntos de corte para determinar la sensibilidad o resistencia de los dermatófitos frente a las diferentes drogas antifúngicas, en este estudio fueron consi-

derados los parámetros establecidos por el *Clinical Laboratory Standards Institute* en su documento M38-A para hongos filamentosos: fluconazol ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$; itraconazol ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$.¹³

Las 40 cepas de *Candida* fueron aisladas de las siguientes formas clínicas: fungemia, 12; candidiasis bucal pseudomembranosa, 11; onicomicosis, 10; lesiones intertriginosas, tres; infección de vías respiratorias inferiores, tres; artritis, uno. El número de cepas obtenido por especie fue *C. albicans*, 16; *C. tropicales*, ocho; *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. famata* y *C. dubliniensis*, tres de cada una; dos aislamientos de *C. kefyr* y un aislamiento de *C. humicola* y de *C. guilliermondii*.

La sensibilidad de *Candida spp.* se determinó siguiendo las indicaciones del *Clinical Laboratory Standards Institute* en su documento M27-A2.¹⁴ Se prepararon placas depositando 100 μl de diluciones decrecientes de los siguientes antifúngicos: ketoconazol, itraconazol, fluconazol, voriconazol y anfotericina B. Cada pozo fue inoculado con 100 μl de una suspensión de 1×10^3 UFC/ml de cada cepa. Las placas se incubaron a 35 °C durante 48 horas. La lectura se realizó visualmente con ayuda de un espejo invertido para determinar la concentración mínima inhibitoria (80% de inhibición de crecimiento). Como control de calidad se utilizaron dos cepas: *C. parapsilosis* (ATCC 22019) y *C. krusei* (ATCC 6258).

Resultados

De los 36 aislamientos obtenidos de pacientes con dermatofitosis, siete (19.4%) mostraron rangos de concentración mínima inhibitorias correspondientes a resistencia a uno o más de los compuestos azólicos (Cuadro I): dos aislamientos de *T. mentagrophytes* variedad *mentagrophytes* (de tiña del cuerpo) y uno de *T. mentagrophytes* variedad *interdigitale* (de tiña plantar) fueron resistentes a fluconazol; dos aislamientos de *T. rubrum* a partir de onicomicosis fueron resistentes a fluconazol; un tercer aislamiento de esta

Cuadro I. Respuesta de sensibilidad y resistencia de dermatófitos a compuestos azólicos*

Dermatófitos (clave del aislamiento)	Sensible	Resistente
<i>T. rubrum</i> (04-509)	-	K, I, F
<i>T. rubrum</i> (04-519)	K, I	F
<i>T. rubrum</i> (05-325)	K, I	F
<i>T. mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i> (04-504)	K, I	F
<i>T. mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i> (04-537)	K, I	F
<i>T. mentagrophytes</i> variedad <i>interdigitale</i> (04-711)	K, I	F
<i>T. tonsurans</i> (05-83)	K, I	F

*Puntos de corte tomados del documento M38-A del *Clinical Laboratory Standards Institute*.¹³ Resistente: ketoconazol e itraconazol, ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$; fluconazol ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$. Sensible: ketoconazol e itraconazol, ≤ 0.125 $\mu\text{g/ml}$; fluconazol, ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$.

K=ketoconazol; I=itraconazol; F=fluconazol.

especie, obtenido de un paciente con tiña plantar recidivante tratada previamente con miconazol tópico y 100 mg de itraconazol por día durante siete días, mostró valores elevados de concentración mínima inhibitoria para los tres azólicos (ketoconazol e itraconazol >32 µg/ml; fluconazol >256 µg/ml). La única cepa de *T. tonsurans* resistente a fluconazol fue obtenida de un caso de tiña de la cabeza.

De los 40 aislamientos obtenidos de pacientes con candidiasis, en 11 (27.5%) se demostró resistencia a uno o varios compuestos azólicos. Los tres aislamientos de *C. glabrata* mostraron resistencia a ketoconazol e itraconazol; además, uno fue también resistente a voriconazol y fluconazol. Esta resistencia mostrada por *C. glabrata* contrasta con la observada en *C. albicans*, donde sólo tres de las 16 cepas aisladas mostraron resistencia a ketoconazol e itraconazol. Una de las dos cepas de *C. famata* aislada de un líquido de lavado bronquial fue resistente a ketoconazol e itraconazol; esta cepa correspondió a un paciente con sida que había recibido itraconazol por más de seis meses como profilaxis.

Ninguno de los 12 aislamientos obtenidos de hemocultivos mostró resistencia a los antimicóticos probados. Los 40 aislamientos de levaduras estudiados fueron sensibles *in vitro* a anfotericina B (Cuadro II).

Discusión

Mientras que algunas patologías virales o parasitarias han disminuido su frecuencia, las infecciones micóticas han registrado un incremento constante. *U.S. National Center for Health Statistics* informa que del total de infecciones, las micosis ocupan el séptimo lugar como causa de muerte; también se hace mención que de 1980 a la fecha el número de decesos por infecciones fúngicas se ha triplicado,¹⁵

Cuadro II. Respuesta de resistencia de especies de *Candida* a compuestos azólicos*

Especie y forma clínica	Sensibilidad dosis dependiente	Resistente
<i>C. glabrata</i> (intertrigo)	V, F	K, I
<i>C. glabrata</i> (bucal)	V, F	K, I
<i>C. glabrata</i> (onicomicosis)	-	K, I, V, F
<i>C. albicans</i> (bucal)	-	K, I
<i>C. albicans</i> (bucal)	-	K, I
<i>C. albicans</i> (bucal)	-	K
<i>C. famata</i> (bronquial)	F	K, I
<i>C. famata</i> (onicomicosis)	-	I
<i>C. guilliermondii</i> (onicomicosis)	-	I
<i>C. dubliniensis</i> (bucal)	-	K, I, V, F
<i>C. parapsilosis</i> (onicomicosis)	-	I

*Puntos de corte tomados del documento M27-A2 del *Clinical Laboratory Standards Institute*:¹⁴ Resistencia: ketoconazol ≥1 µg/ml; itraconazol ≥1 µg/ml; fluconazol ≥64 µg/ml; voriconazol ≥4 µg/ml. Sensibilidad dosis-dependiente: ketoconazol, 0.25-0.5 µg/ml; itraconazol, 0.25-0.5 µg/ml; fluconazol, 16-32 µg/ml; voriconazol, 2 µg/ml.
K=ketoconazol; I=itraconazol; F=fluconazol; V=voriconazol.

siendo las principales causas la candidiasis y la aspergilosis.¹⁶ Mundialmente, este incremento se ha relacionado con diversos factores entre los que sobresalen el aumento de población con diabetes mellitus, el número de padecimientos oncológicos, corticoterapia, trasplantes y sida.

El advenimiento de los compuestos azólicos para aplicación tópica como el clotrimazol, econazol y miconazol se dio entre 1959 y 1960. En 1967 apareció el ketoconazol de administración tópica y bucal, convirtiéndose en el estándar de oro terapéutico durante varios años. Finalmente, los triazólicos como el itraconazol, fluconazol y voriconazol (estos últimos disponibles para aplicación endovenosa), aunados a su amplio espectro y baja toxicidad, motivó a muchos investigadores a suponer que el problema de las infecciones micóticas tendían a desaparecer.¹⁷

Debido al uso profiláctico de antimicóticos durante largos periodos en pacientes con inmunosupresión, Evans¹⁸ manifestó el riesgo de aparición de cepas resistentes en hongos causantes de micosis sistémicas, como ya se había demostrado, y también en agentes de micosis superficiales como las onicomicosis.

Recientemente, Silva Barros y Hamdan¹⁹ estudiaron la sensibilidad de cepas de *T. mentagrophytes* aisladas de onicomicosis y encontraron que esta especie tenía baja sensibilidad a fluconazol, siendo las mejores alternativas de tratamiento la terbinafina y el itraconazol. En 2006, Santos y Hamdan²⁰ ampliaron los estudios de sensibilidad e incluyeron, además de *T. mentagrophytes*, a *T. rubrum*; los resultados de este estudio confirmaron que el fluconazol tiene menor actividad que otros azoles. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, donde de las siete cepas resistentes de dermatófitos, tres de *T. mentagrophytes* mostraron resistencia a fluconazol.

La candidiasis es la infección oportunista más frecuente en los pacientes hospitalizados. En Estados Unidos de América, las infecciones nosocomiales ocupan el primer lugar como causa de muerte entre las micosis.¹⁶ En el Hospital de Especialidades donde se llevó a cabo este estudio no se tiene contabilizado el número de decesos por candidiasis. Sin embargo, en un estudio realizado durante 2005 en pacientes con síndrome febril, 10% de los hemocultivos fueron positivos a *Candida sp.* (datos de la encuesta epidemiológica del hospital, no publicados); por lo tanto, el diagnóstico y tratamiento oportuno de estas infecciones es de suma importancia.

En las infecciones por levaduras, en repetidas ocasiones se ha demostrado resistencia a uno o varios antifúngicos; algunas especies como *C. krusei* presentan resistencia intrínseca a fluconazol;²¹ en otras especies parece cumplirse la suposición de Evans¹⁸ acerca del desarrollo de resistencia secundaria. Los mecanismos postulados para explicar la resistencia son varios: alteración en la penetración de la droga causada por genes como CDR1 y CDR2, modificación de la molécula blanco (desmetilasa del lanosterol) asociada a genes como ERG11 y alteración de $\Delta^{5,6}$ esterol desaturasa.²² A pesar de que son pocas las observaciones registradas, una cepa podría presentar más de uno de estos mecanismos, lo que explicaría la multiresistencia desarrollada en algunos hongos.²³

En pocos hospitales de Latinoamérica se documenta la causa de la falla terapéutica;²⁴ sin embargo, es un hecho de observación clínica cada vez más frecuente que algunos pacientes con micosis superficiales o sistémicas no responden al tratamiento antimicótico a pesar de que los esquemas de tratamiento son correctos. Aunque los resultados de resistencia/sensibilidad *in vitro* no correlacionan totalmente con las observaciones clínicas, los datos obtenidos en este trabajo muestran la relevancia actual de este fenómeno en pacientes mexicanos, ya que se observó resistencia en casi 20% de los dermatofitos estudiados y en 27.5% de las cepas de *Candida*. Lo anterior resalta la importancia de realizar estudios de sensibilidad en todos los aislamientos fúngicos obtenidos de pacientes con micosis superficiales asociadas a falla terapéutica, y, por su gravedad, en todos los casos de micosis sistémicas.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT, con número de registro IN215302, de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México.

Referencias

- Hudson MM. Antifungal resistance and over-the-counter availability in the UK: a current perspective. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:345-350.
- Vesell ES. On the significance of host factors that affect drug disposition. *Clin Pharmacol Ther* 1982;31:1-7.
- Loeffler J, Stevens DA. Antifungal drug resistance. *Clin Infect Dis* 2003;36:S31-S41.
- Bradley MC, Leidich S, Isham N, Elewski BE, Ghannoum MA. Antifungal susceptibilities and genetic relatedness of serial *Trichophyton rubrum* isolates from patients with onychomycosis of the toenail. *Mycoses* 1999;42:S105-S110.
- Chapman SW, Cleary JD, Rogers PD. Amphotericin B. En: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, editors. *Clinical mycology*. Philadelphia, EUA: Oxford University Press; 2003. pp. 33-48.
- Fromtling RA. Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clin Microbiol Rev* 1988;1:187-217.
- Horsburgh CR, Kirkpatrick CH. Long-term therapy of chronic mucocutaneous candidiasis with ketoconazole: experience with twenty-one patients. *Am J Med* 1983;74:23-29.
- Fox R, Neal KR, Leen CL, Ellis ME, Mandal BK. Fluconazole resistant *Candida* in AIDS. *J Infect* 1991;22:201-204.
- Nolte FS, Parkinson T, Falconer DJ, Dix S, Williams J, Gilmore C, et al. Isolation and characterization of fluconazole- and amphotericin B-resistant *Candida albicans* from blood of two patients with leukemia. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:196-199.
- Méndez-Tovar LJ, Serrano-Jaén L, Almeida-Arvizu VM. Cefotaxima más amikacina asociadas a inmunomodulación en el tratamiento de actinomicetoma resistente a tratamiento convencional. *Gac Med Mex* 1999;135:517-521.
- Serrano-Jaen L, Méndez-Tovar LJ, Almeida-Arvizu V, Manzano-Gayosso P, Córdoba-Martínez E, Bazán-Mora E, et al. Dermatofitosis diseminada crónica asociada a fagocitosis deficiente tratada con antimicóticos e inmunostimulación fagocitaria. *Gac Med Mex* 2006;142:415-417.
- Szekely A, Johnson EM, Warnock DW. Comparison of E-test and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of molds. *J Clin Microbiol* 1999;37:1480-1483.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard. Document M38-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2002.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard. Document M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2002.
- Pinner RW, Teutsch SM, Simonsen L, Klug LA, Graber JM, Clarke MJ, et al. Trends in infectious diseases mortality in the United States. *JAMA* 1996;275:189-193.
- McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan MA, Conn LA, Plikaytis BD, et al. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis* 2001;33:641-647.
- Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and emerging azole antifungal agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:40-79.
- Evans EG. Causative pathogens in onychomycosis and the possibility of treatment resistance: a review. *J Am Acad Dermatol* 1998;38:S32-S36.
- Da Silva-Barros ME, Hamdan JS. Determination of susceptibility/resistance to antifungal drugs of *Trichophyton mentagrophytes* isolates by a microdilution method. *Can J Microbiol* 2005;51:983-987.
- Santos DA, Hamdan JS. *In vitro* antifungal oral drug and drug-combination activity against onychomycosis causative dermatophytes. *Med Mycol* 2006;44:357-362.
- Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, et al. Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis *in vitro-in vivo* correlation data for fluconazole, itraconazole, and *Candida* infections. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clin Infect Dis* 1997;24:235-247.
- Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:501-517.
- Carrillo-Muñoz AJ, Tur C, Estivill D, Montsant L, Carceller A, Hernández-Molina JM, et al. Resistencia *in vitro* al fluconazol e itraconazol en aislamientos clínicos de *Candida* spp y *Cryptococcus neoformans*. *Rev Iberoam Micol* 1997;14:50-54.
- Silva VV, Díaz JMC, Febré N, Red de Diagnóstico en Micología Médica. Vigilancia de la resistencia de levaduras a antifúngicos. *Rev Chil Infec* 2002;19:S149-S156.

Recurrencia y supervivencia en cáncer mamario temprano con inmunofenotipo triple-negativo

Raquel Gerson,^{a*} Fernando Alban,^b Alberto Villalobos^c y Alberto Serrano^a

^aDepartamentos de Oncología Médica, ^bMedicina General, ^cHematología, Centro Médico ABC, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 2 de octubre de 2007

Aceptado: 5 de octubre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: El estado ganglionar axilar, la expresión de los receptores hormonales y del HER2 son importantes factores pronóstico en cáncer de mama temprano. El inmunofenotipo triple negativo (HER2 y receptores hormonales negativos) se ha asociado con mayor frecuencia de recurrencia y menor tiempo de supervivencia. El objetivo de esta investigación fue evaluar el comportamiento clínico, recurrencia y supervivencia en mujeres con cáncer de mama temprano-triple negativo y otros inmunofenotipos.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de mujeres en etapas I-II B, mayores de 18 años, en quienes se determinó la expresión de la proteína HER2, receptores de estrógeno y de progesterona a través de inmunohistoquímica. Se identificaron cinco grupos: triple negativo, triple positivo, HER2 negativo y receptores hormonales positivos, HER2 positivo y receptores hormonales negativos, HER2 negativo y un receptor hormonal positivo. En cada caso se analizó la edad, fecha del diagnóstico, etapa clínica, tamaño tumoral, estado ganglionar axilar, receptores de estrógenos, progesterona, HER2, p53, angiogénesis, Ki67, tipo de cirugía realizada, tratamiento adyuvante, tiempo a la recurrencia, número y sitios de la recurrencia, así como el tiempo de sobrevida global.

Resultados: 17 pacientes (15.4%) manifestaron el fenotipo triple negativo; 14 (12.7%), triple positivo; 52 (47.3%) en el grupo 3, 11 (10%) en el 4 y 16 (14.5%) en el grupo 5. El fenotipo triple negativo se asoció con proliferación celular aumentada ($p < 0.000$), menor edad (mediana 43 años), mayor tamaño tumoral (mediana 2.5 cm) y menor proporción de pacientes en etapa I, así como mayor frecuencia de expresión positiva de la proteína p53 (78.5%). Observamos mayor frecuencia de recurrencia y de muerte en el grupo triple negativo y en HER2 positivo con receptores hormonales negativos.

Conclusiones: El cáncer de mama triple negativo se presenta en mujeres jóvenes y se asocia con proliferación celular aumentada, induce mayor incidencia de recurrencia y de mortalidad. El comportamiento biológico del cáncer de mama con fenotipo triple negativo es agresivo y similar al observado en pacientes con HER2 positivo y receptores hormonales negativos.

Palabras clave:

Cáncer de mama, fenotipo triple negativo, estado ganglionar axilar, receptores hormonales

SUMMARY

Background: Axillary lymph node status, hormonal receptors (HR) and HER2 expression are significant prognostic factors for early breast cancer. Triple negative immunophenotype (HER2 and HR negative) is associated with a high frequency of recurrence and lower overall survival. The objective was assess clinical behavior, recurrence and survival of patients with triple negative early breast cancer and patients with other immunophenotypes.

Material and methods: We carried out a retrospective study among women with stages I-II B over 18 years with determination of HR and HER2 expression by immunohistochemical assay. We identified 5 groups: triple negative, triple positive, HER2 negative & HR positive, HER2 positive & HR negative, HER2 negative & HR positive. We recorded age, date of diagnosis, clinical stage, tumor size, axillary lymph node status, ER, PR, HER2, p53, angiogenesis, Ki67, type of surgery, adjuvant treatment, time to recurrence, number and recurrence site and overall survival.

Results: 17 patients (15.4%) had triple negative phenotype, 14 (12.7%) triple positive, 52 (47.3%) were localized in group 3, 11 (10%) in 4 and 16 (14.5%) in group 5. Triple negative phenotype was associated with increased cellular proliferation ($p < 0.000$); being young (median 43 years), large tumor size (median size 2.5 cm) lower proportion of patients in stage I and high frequency of p53 positive (78.5%). We observed a high frequency of recurrence and death among the triple negative group and among the HER2 positive and HR negative cases.

Conclusions: Triple negative breast cancer is more common among young women and is associated with a high frequency of recurrence and mortality. Clinical behavior among triple negative breast cancer cases is aggressive and displays a similar clinical profile that observed among HER2 positive and HR negative patients.

Key words:

Breast cancer, Triple negative breast cancer, axillary lymph node status, hormonal receptor expression

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Alberto Serrano. Torre Médica II, Centro Médico ABC, Sur 136 número 116-2c, Col. Las Américas, México D.F., México. Tels.: 5272 3345, 5272 8430. Correo electrónico: serranoolvera@yahoo.com.mx.

Introducción

Mundialmente, el cáncer de mama es la neoplasia más común entre las mujeres; durante el año 2002 se registró más de un millón de casos nuevos y 410 712 muertes por esta enfermedad. En Estados Unidos de Norteamérica, durante el mismo año se identificaron 209 995 casos nuevos, de los cuales fallecieron casi 43 mil mujeres. En México, la incidencia del cáncer de mama es menor, sin embargo, se informaron 11 064 casos y 4310 muertes.¹

Debido a su detección en etapas más tempranas así como por los avances en la quimioterapia adyuvante, se ha logrado reducir la recurrencia y la mortalidad.^{2,3} La enfermedad micrometastásica es la causa de la recurrencia y sugiere el uso de la terapia adyuvante. El cálculo del riesgo de recurrencia en el cáncer mamario temprano se establece a través del análisis de diversas características de la paciente y del tumor; la edad al diagnóstico, tamaño tumoral, estado de los ganglios axilares, grado de diferenciación y la presencia o ausencia de invasión vascular o linfática, han sido algunos factores pronósticos extensamente validados.^{2,4}

El estado de los receptores hormonales (receptores de estrógenos y de progesterona) y la sobreexpresión de la proteína o la amplificación del oncogén HER2 han mostrado ser de utilidad para establecer el pronóstico y predecir la respuesta a modalidades específicas de tratamiento.^{2,4,5} El informe del estudio NSABP-B06 mostró el valor pronóstico de receptores de estrógeno, ya que en las mujeres con carcinoma mamario tratado con cirugía seguida de radioterapia se observó 74% de supervivencia libre de enfermedad a cinco años y sobrevida global en 92% de aquellas con receptores de estrógeno positivos, mientras que en las mujeres con receptores de estrógeno negativos estos parámetros fueron 66 y 82%, respectivamente.⁶

El protooncogén HER2 se encuentra amplificado en 20 a 30% de las pacientes con cáncer de mama, su presencia se asocia con mayor agresividad tumoral manifestada por mayor incidencia de recurrencia y mayor mortalidad, predominantemente en pacientes con ganglios axilares positivos; además, este oncogén ha mostrado capacidad para predecir la respuesta a distintos esquemas de quimioterapia en enfermedad avanzada o metastásica, convirtiéndose en el foco de investigación como blanco terapéutico para el desarrollo del anticuerpo monoclonal trastuzumab, el cual ha modificado las expectativas de vida en este grupo de pacientes.⁷⁻⁹

Los avances tecnológicos en años recientes han permitido incorporar métodos novedosos para analizar el comportamiento genético del cáncer mamario mediante la determinación de perfiles de expresión génica. Perou y colaboradores¹⁰ describieron la heterogeneidad molecular del cáncer mamario al agrupar cinco subtipos detectados a través de un estudio de arreglos de la expresión de ácido ribonucleico (ARN) —luminal (A y B), HER2, basal, normal—. Actualmente se reconocen tres perfiles genéticos que han modificado la taxonomía del carcinoma mamario: subtipo luminal, HER2 y basal; cada uno de estos perfiles muestra características clínicas y pronóstico diferentes.¹¹⁻¹³ El carcinoma mamario basal se ha caracterizado por la ausencia de receptores

hormonales y de HER2, está representado por genes involucrados en la proliferación y diferenciación celular, vías mediadas por p21 así como vías de señalización del ciclo celular.^{12,14}

Un estudio mexicano en 10 mujeres con cáncer de mama determinó, a través de técnicas de microarreglos de ácido desoxirribonucleico (ADN) clonado e hibridación genómica comparativa, la sobreexpresión de nueve genes relacionados con el ciclo celular, la adhesión celular y el factor de crecimiento fibroblástico; también se observó subexpresión de seis genes asociados con la apoptosis, reparación de ADN y ocho genes apagados involucrados en la apoptosis, reparación de ADN, interacción célula-célula y producción de interleucina-2.¹⁵

El costo y la falta de infraestructura requerida para realizar perfiles de expresión genética permitieron que se utilizara la inmunohistoquímica como un medio para caracterizar los subtipos de cáncer mamario. Nielsen¹⁶ documentó que un panel consistente en RE, HER1, HER2 y citoqueratinas 5/6 era suficiente para identificar cánceres subtipo basal. La ausencia de tinción inmunohistoquímica a los receptores hormonales y la proteína del HER2, o de su amplificación, define al grupo de pacientes con cáncer de mama triple negativo;¹⁷ este fenotipo triple negativo ha sido asociado con peor pronóstico tanto en recurrencia como en supervivencia.¹⁸⁻²⁰

El objetivo de este trabajo es analizar el comportamiento clínico, recurrencia y sobrevida del cáncer mamario en etapa temprana con fenotipo triple negativo, y compararlo con otros inmunofenotipos.

Material y métodos

De enero de 2000 a septiembre de 2006 se atendieron 208 mujeres con cáncer de mama clasificadas en etapa I, IIA o IIB, que fueron tratadas con mastectomía radical modificada o cirugía conservadora, seguida de tratamiento adyuvante con quimio, radio y terapia hormonal o la combinación de ellas. Para los fines de este estudio se incluyeron pacientes mayores de 18 años de edad, con diagnóstico confirmado de cáncer mamario en etapa I, IIA o IIB, en quienes se determinó el estado de receptores de estrógeno y progesterona y la expresión de la proteína HER2 a través de inmunohistoquímica. Se excluyeron los casos donde los datos del tumor primario o del estado de los receptores estrógeno y progesterona y HER2 no fueron disponibles (31), aquellos que continuaban en tratamiento adyuvante mientras se realizó el análisis estadístico (seis), así como los que fueron tratados con quimioterapia primaria (10), diagnóstico de carcinoma *in situ* (14), presentación del cáncer mamario como una segunda neoplasia (10) o asociación con embarazo (uno), histología diferente al carcinoma ductal o lobular (uno), cáncer inflamatorio (uno), etapa clínica superior a IIB al momento del diagnóstico inicial (dos) o seguimiento inferior a seis meses (21).

De acuerdo con el estado de los receptores de estrógeno y progesterona y la expresión de HER2 se definieron cinco inmunofenotipos:

1. *Triple negativo*: tinción positiva de receptores de estrógeno (< 5 fmol/g) y receptores de progesterona < 10 fmol/g de tejido y del HER2, considerada como 0+, 1+ o 2+ en relación con los lineamientos estandarizados internacionales.
2. *Triple positivo*: tinción positiva de receptores de estrógeno y progesterona, tinción 3+ de HER2.
3. *HER2 negativo* y receptores hormonales positivos.
4. *HER2 positivo* y receptores hormonales negativos.
5. *HER2 negativo* y un receptor hormonal positivo.

Se recomienda que los casos HER2 positivo 2+ sean revisados a través de hibridación fluorescente *in situ* (FISH por sus siglas en inglés), sin embargo, esta técnica estuvo disponible en nuestro hospital hasta el año 2005, por lo que los casos considerados como HER2 2+ no fueron reclasificados a través de dicha técnica. Sin embargo, todos los estudios de inmunohistoquímica fueron hechos por el mismo equipo de patólogos utilizando los protocolos estandarizados para cada prueba.

Análisis inmunohistoquímico

Se realizó inmunohistoquímica en los cortes de tejido embebido de parafina obtenidos del tumor primario para identificar los marcadores biológicos. En los bloques de parafina se realizaron cortes de 2 micras que se montaron en un control positivo y otro negativo con incubación a 60 grados por 30 minutos. Posteriormente, se procedió al desparafinado mediante dos lavados de xilol, dos más de alcohol absoluto a 96% y más tarde se rehidrataron con agua destilada. La recuperación de proteínas se llevó a cabo mediante la aplicación de solución de citrato amortiguadora, exposición a altas temperaturas, enfriamiento, lavado, reincubación y reamortiguación. Para obtener el bloque de proteínas se empleó peróxido de hidrógeno, seguido de la exposición a los anticuerpos primarios con receptores de estrógeno y progesterona, HER2, p53, Ki67 y CD31 (Cuadro I). Para conseguir la fijación y amplificación de la respuesta se expusieron a un anticuerpo secundario biotinado seguido de lavado para posteriormente conseguir la formación de complejos con estreptoviridina; el revelado se realizó con diaminobenzidina y aplicación de cromógenos y la de contraste con hematoxilina de Meyer. La técnica fue auxiliada por un aparato de inmunotinción automática, DAKO autostainer, DAKO, California, U.S.

Los criterios de positividad para cada una de las pruebas realizadas fueron:

1. Receptores de estrógeno inmunotinción nuclear >5% de las células tumorales.
2. Receptores de progesterona inmunotinción nuclear >10% de las células tumorales.
3. HER2 tinción membranal, 3+ en intensidad.
4. P53 tinción nuclear positiva.
5. Ki67 tinción nuclear >20% de las células tumorales.
6. CD31 tinción citoplásmica >17 vasos por campo (40x).

Variables en estudio

En cada caso se determinó edad al diagnóstico, fecha del diagnóstico, etapa clínica, tamaño tumoral, estado ganglionar axilar, receptores de estrógeno y progesterona, HER2, P53, Ki67, CD31, tipo de cirugía realizada, tratamiento adyuvante, tiempo a la recurrencia, número y sitios de la recurrencia, y el tiempo de sobrevida global. El tiempo a la recurrencia se consideró como el lapso transcurrido desde la cirugía al momento de la enfermedad recurrente; el tiempo de supervivencia global se consideró como el periodo cursado desde el diagnóstico original y el momento de la muerte, relacionada o no a la neoplasia.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizaron los métodos de la estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión; las variables cualitativas se analizaron con χ^2 o la prueba exacta de Fisher, y las cuantitativas con la *t* de Student o la prueba de Kruskal-Wallis.

Resultados

Fueron incluidas en este análisis 110 pacientes, de acuerdo con la definición de los grupos; 17 (15.4%) manifestaron el fenotipo triple negativo; 14 (12.7%), triple positivo; 52 (47.3%), HER2 negativo y receptores hormonales positivos; 11 (10%), HER2 positivo y receptores hormonales negativos; 16 (14.5%), HER2 negativo y un receptor hormonal positivo. Las características generales de la población se muestran en el cuadro II, donde se observa que las pacientes triple negativo fueron más jóvenes que en otros grupos, con

Cuadro I. Anticuerpos utilizados para el análisis inmunohistoquímico

	Clona	Dilución	Casa	Localización
Receptores de estrógeno	RBT11	1:200	BioSB	Santa Bárbara, California, U.S
Receptores de progesterona	RBT22	1:50	BioSB	Santa Bárbara, California, U.S.
Oncoproteína HER2	HER2-24	1:30	BioSB	Santa Bárbara, California, U.S.
Proteína P53	DO7	1:200	Dako	Carpintería, California, U.S.
Ki67	K3	1:100	Cell Marque	Houston, Texas, U.S.
CD31	JC70A	1:600	Dako	Carpintería, California, U.S.

Cuadro II. Características generales de la población

	Fenotipo triple negativo	Fenotipo triple positivo	HER2 (-) RH (+)	HER2 (+) RH (-)	HER2 (-) 1 RH (+)	p
Número de pacientes	17 (15.4%)	14 (12.7%)	52 (47.3%)	11 (10.0%)	16 (14.5%)	
Edad (años)						0.121
Promedio	45.8	53.6	54.1	52.2	54.4	
Mediana	43	49.5	55	53	51	
Rango	34-64	34-82	32-76	43-73	30-83	
Etapa clínica (%)						0.079
I	29.4	42.8	40.4	9.1	31.2	
IIA	52.9	50	40.4	81.9	43.7	
IIB	17.6	7.1	19.2	9.1	25	
Tamaño tumoral (cm)						0.163
Promedio	2.6	2.0	2.2	3.0	2.7	
Mediana	2.5	1.9	2.0	2.8	1.8	
Rango	0.5-8.0	0.5-3.0	0.3-5.0	1.4-4.7	0.8-4.0	
Ganglios axilares						0.005
Negativo	8.3	64.3	55.7	27.3	50	
1 a 4 +	5.8	28.6	23.1	36.4	31.2	
5 a 9 +	5.8	0	5.8	18.2	12.5	
> 10 +	5.8	0	11.5	9.1	0	
Ganglio centinela +	0	7.1	3.8	9.1	0	
No conocido						
Terapia adyuvante						
Quimioterapia	100	85.7	76.9	100	68.7	
Radioterapia	41.2	35.7	55.8	45.5	37.5	
Hormonal	11.8	85.7	90.4	27.3	75	
Anticuerpos monoclonales	0	7.1	0	9.1	0	
Proliferación Ki67						<0.00
Promedio	46.4	23.2	26.7	49.5	14.3	
Mediana	47.5	20	20	26.4	10	
Rango	5-90	2-50	1-75	10-85	0-50	
Angiogénesis (CD31)						0.29
Promedio	9.7	11	12.6	14.3	11.5	
Mediana	9	9	11	14.5	11	
Rango	4-19	0-18	4-25	6-24	4-21	

RH = receptores hormonales

mediana de 43 años; ellas también tuvieron menor proporción de enfermedad mamaria detectada en etapa I y mayor tamaño del tumor, con mediana 2.5 cm, comportamiento similar al grupo HER2 positivo y receptores hormonales negativos; sin embargo, no se observó diferencia estadística, $p > 0.05$. Las pacientes triple negativo tuvieron mayor proporción de ganglios negativos (82%) y mayor proliferación celular, mediana 46.4; no se observó relación con la actividad angiogénica, $p > 0.05$. Se detectó expresión positiva de P53 en 78.5% de aquellas triple negativo y en 80% de aquellas con HER2 positivo y receptores hormonales negativos, sin observarse diferencia entre los grupos, $p > 0.05$.

El tratamiento adyuvante en cada grupo se muestra en el cuadro III, donde se observa que todas las pacientes triple negativo y aquellas con HER2 positivo y receptores hormonales negativos recibieron quimioterapia adyuvante; los esquemas basados en antraciclinas y taxanos fueron usados con menor frecuencia en el grupo triple negativo (41.2%) y en el

triple positivo (33.3%) en relación con los grupos restantes. Además, a pesar del resultado negativo de los receptores hormonales en estos grupos, 11.8 y 27.3% respectivamente, fueron tratadas con hormonoterapia adyuvante.

La mediana del tiempo de seguimiento fue de 43, 50.5, 35, 45 y 34.5 meses para cada grupo, respectivamente. Durante ese tiempo se identificaron 13 pacientes con recurrencia (13.8%) y siete muertes (6.4%); de los casos con recurrencia en 13 fue sistémica y en dos, local. En el grupo triple negativo se detectaron 3/17 pacientes (17.6%) con recurrencia sistémica, 1/14 en el triple positivo (7.1%), 3/52 con HER2 negativo y receptores hormonales positivos (5.8%), 4/11 en el HER2 positivos y receptores hormonales negativos (36.4%) y 2/16 con HER2 negativo y un receptor hormonal positivo (12.5%). La recurrencia sistémica se observó a 6, 11 y 16 meses en el primer grupo; 35 en el segundo; 40, 39 y 30 en el tercero, 30, 20 y 6 meses en el cuarto y 19 y 35 meses en el quinto grupo. El patrón

Cuadro III. Tratamientos aplicados

	Triple negativo n = 17	Triple positivo n = 14	HER2 -, RH+ n = 52	HER2+, RH - n = 11	HER2-, 1RH+ n = 16
Cirugía					
Conservadora	9 (52.9%)	4 (28.6%)	23 (44.3%)	2 (18.2%)	7 (43.7%)
MR modificada	8 (47.1%)	10 (71.4%)	29 (55.7%)	9 (81.8)	9 (56.3%)
Quimioterapia					
Sí	17 (100%)	12 (85.7%)	40 (76.9%)	11 (100%)	11 (68.8%)
FAC o AC	10 (58.8%)	7 (58.3%)	17 (42.5%)	2 (18.2%)	3 (27.7%)
FAC o AC + taxano	7 (41.2%)	4 (33.3%)	22 (55%)	8 (72.8%)	8 (72.3%)
CMF	0	1 (8.3%)	1 (2.5%)	1 (9.1%)	0
Radioterapia					
Sí	7 (41.2%)	5 (35.7%)	29 (55.7%)	5 (45.4%)	6 (37.5%)
Hormonoterapia					
Sí	2 (11.8%)	12 (85.7%)	47 (90.4%)	3 (27.3%)	12 (75%)
Trastuzumab					
Sí	0	1 (7.1%)	0	1 (9.1%)	0

MR = mastectomía radical

FAC = 5-fluorouracilo, adriamicina, ciclofosfamida

AC = adriamicina, ciclofosfamida

RH = receptores hormonales

anatómico de los casos con recurrencia se muestra en el cuadro IV, donde se observa que la invasión visceral, incluyendo las metástasis cerebrales, se presentó en aquellas triple negativo, HER2 negativo y receptores hormonales positivos y HER2 positivo y receptores hormonales negativos; los dos casos de recurrencia local se observaron en este último grupo, a los tres y 11 meses. Cinco de las 25 pacientes con HER2 positivo presentaron recurrencia local o sistémica, y tres fallecieron.

Durante el estudio se detectaron siete muertes, de ellas tres se observaron en el fenotipo triple negativo (3/17 pacientes=17.6%), una con triple positivo (1/14=7.1%), dos con HER2 positivo/receptores hormonales negativos (2/11=18.2%) y una con HER2 negativo/un receptor hormonal positivo (1/16=6.2%). Las muertes en el fenotipo triple negativo ocurrieron en una mediana de 13 meses, la del triple positivo fue a los 55 meses y a los 25 meses en los otros dos grupos. Dado el tamaño de los grupos no es factible realizar un

Cuadro IV. Sitios de recurrencia y mortalidad

	Pacientes con recurrencia	Sitio anatómico de la recurrencia por paciente	Tiempo a la recurrencia (meses)	Muerte	Tiempo de SV (meses)
Triple negativo	3	1. Cerebro, hígado, pulmón	6	Sí	8
		2. Pulmón	11	Sí	16
		3. Pulmón	16	Sí	39
Triple positivo	1	1. Hueso	35	Sí	59
HER2 negativo, RH positivo	3	1. Mediastino, hueso	40		49
		2. Hueso, hígado	39		63
		3. Pulmón, cerebro	30		62
HER2 positivo, RH negativo	4	1. Local, piel, hueso	6*/35		42
		2. Hueso, cerebro, ganglios cervicales	27	Sí	32
		3. Local	18		18
		4. Hígado cerebro	12	Sí	31
HER2 negativo, 1 RH positivo	2	1. Ganglios axiliares	20		51
		2. Hueso, pleura	36	Sí	41

SV = supervivencia RH = receptores hormonales

* La recurrencia local se presentó a los seis meses y la sistémica a los 35 meses

análisis estadístico mayor, pero con las observaciones realizadas hasta el momento es posible pensar que el fenotipo triple negativo ejerce una influencia negativa en la recurrencia y la supervivencia, comportamiento similar al observado en el grupo HER2 positivo y receptores hormonales negativos (Cuadro IV).

Discusión

Los resultados de nuestro análisis mostraron que el cáncer de mama temprano, inmunofenotipo triple negativo, se asocia con proliferación celular aumentada ($p < 0.000$); además, notamos tendencia a presentarse en edad más temprana, mayor tamaño tumoral y menor proporción de pacientes en etapa I, así como mayor frecuencia de expresión positiva de la proteína P53. También en el presente estudio observamos mayor frecuencia de recurrencia y de muerte entre las mujeres con fenotipo triple negativo y HER positivo/receptores hormonales negativos, en comparación con los otros subgrupos.

Otros estudios han mostrado hallazgos similares a los observados en nuestro análisis. Haffty y colaboradores¹⁸ notaron el fenotipo triple negativo en 24.3% de 482 casos, en su mayoría eran mujeres afroamericanas y en 63% el diagnóstico se estableció antes de los 50 años de edad comparado con 45% de otros fenotipos; además, se detectaron mutaciones deletéreas del BRCA1 en 10 de 99 casos y en siete de 99 sobre el BRCA2. Los autores observaron mayor frecuencia de tumores T2 en el grupo triple negativo, 42 vs. 21%. Rakha y colaboradores¹⁹ determinaron el triple negativo en 16.3% de 1726 casos, con edad promedio 49.9 años, el índice pronóstico de Nottingham promedio fue 4.8, rango 2.3 a 7.6, este fenotipo se asoció a mayor tamaño tumoral, pobre grado de diferenciación, mayor recurrencia, menor supervivencia ($\chi^2=112.6$, $p=0.009$) y un patrón metastásico agresivo con diseminación a la médula espinal, meninges, cerebro, hígado y metástasis pulmonares ($\chi^2=48.5$, $p=0.001$), además, se observó ausencia de la expresión del receptor de andrógenos en 87% de los casos ($\chi^2=47.96$, $p < 0.001$), expresión negativa para E-caderina ($\chi^2=6.4$, $p=0.04$) y positiva a P-caderina ($\chi^2=18.3$, $p < 0.001$) y de P53 ($\chi^2=11.2$, $p=0.004$). Bauer y colaboradores²⁰ mostraron que 6370 (12.5%) de los 51 074 casos estudiados eran triple negativo, con mayor proporción entre las mujeres hispanicas (18.6 vs. 12.8%), $p < 0.001$, y de raza negra no hispanica (10 vs. 4.4%), $p < 0.001$. Los autores también detectaron mayor frecuencia de estadios avanzados, mayor tamaño tumoral (22 vs. 17 mm) y menor grado de diferenciación en los casos triple negativo.

El fenotipo triple negativo ha sido asociado con peor pronóstico tanto en recurrencia como sobrevida. Rakha y colaboradores¹⁹ notaron una asociación con peor pronóstico de sobrevida global e intervalo libre de enfermedad (rango logarítmico=25.4, $p < 0.0001$ y 14.3, $p=0.0002$, respectivamente). Haffty y colaboradores¹⁸ informaron que los casos triple negativo tenían peor índice de metástasis a distancia a cinco años que las mujeres no triple negativo (67 vs. 82%, $p=0.002$)

y de supervivencia relacionada con la neoplasia (índice de riesgo=1.79; IC 95%=1.03 a 3.22, $p=0.047$); el análisis multivariado identificó al fenotipo como predictor de metástasis a distancia (índice de riesgo=2.15; IC 95%=1.31 a 3.53, $p=0.002$). Bauer y colaboradores²⁰ identificaron supervivencia relativa de 77% a cinco años entre las mujeres con triple negativo mientras que en otros fenotipos se estimó en 93%.

La categorización genética del carcinoma mamario comenzó simultáneamente al siglo XXI, Perou y colaboradores¹⁰ fueron los primeros en describir la heterogeneidad molecular del cáncer mamario. Actualmente se reconocen tres perfiles genéticos que han modificado la taxonomía del carcinoma mamario: subtipo luminal, HER2 y similar al basal; cada uno con características clínicas y pronóstico diferentes.²⁰ El subtipo luminal es el más frecuente, tiene alta frecuencia de receptores de estrógenos o genes relacionados a su activación, generalmente se asocia con buen pronóstico. El subtipo HER2 se asocia con ausencia de receptores hormonales, mutación de P53 y peor pronóstico.¹¹ El subtipo similar al basal (*basal-like*), así llamado por recordar a las células basales de otras partes del cuerpo y a las mioepiteliales de la mama normal, registra la ausencia de expresión de receptores de estrógenos y HER2, muestra fuerte expresión de citoqueratinas 5, 6 y 17, así como la expresión de genes relacionados con la proliferación celular; se asocia con mutaciones de P53 y sobreexpresión de EGFR, C-Kit, así como mutaciones de BRCA1 y BRCA2; es más frecuente entre las mujeres afroamericanas jóvenes y se asocia con mal pronóstico.^{11,17,21}

Los términos *basal-like* y triple negativo comúnmente son utilizados como sinónimos, sin embargo, representan a grupos poblacionales y técnicas de diagnóstico diferentes que comparten características clínicas y de pronóstico. No todos los cánceres mamarios triple negativo por métodos inmunohistoquímicos son calificados como *basal-like* cuando se analizan a través de pruebas de microarreglos de ADN clonado. En un estudio¹⁹ se notó que entre los 282 casos considerados como triple negativo por inmunohistoquímica, sólo 55.7% eran *basal-like* cuando se agregó la expresión de las citoqueratinas 5, 6 o 14; en otros reportes, sólo 85% de los tumores triple negativo se categorizaron como *basal-like*.^{22,23}

En nuestra serie, todas las pacientes con fenotipo triple negativo y HER2 positivo/receptores hormonales negativos recibieron quimioterapia adyuvante; sin embargo, los esquemas basados en antraciclina/taxano se aplicaron en 40.9 y 72.4%, respectivamente. El número de pacientes incluidas en este trabajo limitó la posibilidad de evaluar el impacto de la quimioterapia sobre la frecuencia de recurrencia y supervivencia. La activación del oncogén HER2 puede aumentar la sensibilidad a paclitaxel por inhibición del punto de restricción en la transición de G1/S por medio de P27, lo que permite la progresión del ciclo celular a fases G2 y M.²⁴ Baselga y colaboradores²⁵ señalan una asociación entre la sobreexpresión del HER2 y mayor respuesta terapéutica en mujeres con cáncer de mama metastásico tratadas con paclitaxel, pero esta observación no ha sido confirmada en otros análisis.^{26,27} Al momento parece que la quimiorresistencia no es un factor que condicione el mal pronóstico, ya que algunos estudios han

mostrado alta frecuencia de respuestas completas en cáncer mamario *basal-like* tratado con neoadyuvancia a base de antraciclinas y taxanos.^{11,28} Recientemente se ha observado que este fenotipo no influye en la respuesta cuando se emplea el esquema CMF.²⁹ Nuevas estrategias en el manejo sistémico del cáncer mamario triple negativo comienzan a ser propuestas, entre ellas el uso de desimatinib,³⁰ cisplatino³¹ o trasplante de células progenitoras.³²

Nuestro estudio tiene debilidades que deben ser consideradas al momento de interpretar los resultados:

1. Se trata del análisis retrospectivo de una población pequeña.
2. No se realizó una determinación genética de los casos mediante microarreglos de ADN o ARN, para correlacionar y confirmar los casos que pudieran integrarse en los subtipos luminal (HER2 negativo y receptores hormonales positivos), HER2 (HER positivo y receptores hormonales negativos) o basal (triple negativo), lo que podría aumentar el nivel de confianza acerca de nuestras observaciones.
3. Los casos determinados por inmunohistoquímica como HER2 2+ se consideraron negativos y no se revisaron mediante un ensayo de amplificación genética, como lo sugiere el consenso internacional creado por la *American Society of Clinical Oncology* y el *College of American Pathologists*,³³ lo cual podría influir en la proporción de los casos asignados a cada grupo y variar el comportamiento biológico en cada caso.
4. En nuestro estudio, dos pacientes consideradas con HER2 positivo 3+ recibieron terapia adyuvante con el anticuerpo monoclonal trastuzumab. El valor de la terapia adyuvante con trastuzumab ha sido analizada en cinco ensayos clínicos aleatorios (NSABP B-31, HERA, BCIRG-006, FinHer, N9831), en ellos se ha mostrado que las pacientes asignadas al brazo de estudio tienen mejoría de la supervivencia libre de enfermedad, disminución en la presencia de metástasis a distancia, reducción del riesgo de muerte y aumento de la supervivencia global.³⁴⁻³⁶ Nuestro grupo comenzó a utilizar rutinariamente la adyuvancia con trastuzumab cuando fue aprobada la indicación por la *Food and Drug Administration* en el año 2005, por lo que el comportamiento de los grupos con HER positivo pudiera ser diferente.

Finalmente se concluye que el cáncer de mama triple negativo (HER2 y receptores hormonales negativos) determinado por técnicas de inmunohistoquímica se presenta en mujeres jóvenes y se asocia con proliferación celular aumentada; además, este fenotipo parece tener mayor incidencia de recurrencia y de mortalidad. El comportamiento biológico del cáncer de mama con fenotipo triple negativo es muy similar al observado en pacientes con HER2 positivo y receptores hormonales negativos.

Referencias

1. Globocan 2002. International Agency for Research on Cancer. Disponible en <http://www.dep.iarc.fr>
2. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist* 2004;9:606-616.
3. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of randomized trials. *Lancet* 2005;365:1687-1717.
4. Breast Cancer. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical practice guidelines in oncology V.2. 2007. Disponible en <http://www.nccn.org>
5. Gerson R, Serrano A, Villalobos A, Sánchez-Forgach E, Sánchez-Basurto C, Murillo A, et al. Biomarcadores en el pronóstico y respuesta al tratamiento en cáncer mamario. *Gac Med Mex* 2002;138:15-24.
6. Fisher B, Redmond C, Brown A, Fisher ER, Wolmark R, Bowman D, et al. Adjuvant chemotherapy with and without tamoxifen in the treatment of primary breast cancer: 5 years results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Trial. *J Clin Oncol* 1986;4:549-471.
7. Gerson R, Serrano A, Dolengevich H, Sánchez-Forgach E, Sánchez-Basurto C, Villalobos A, et al. c-erbB2 oncoprotein expression related to recurrence and survival in breast cancer patients. XXX World Congress of the International College of Surgeons; Kyoto, Japón. 1996.
8. Ross JF, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Oncologist* 1998;3:237-252.
9. Tsuda H. HER-2 (c-erbB-2) test update: present status and problems. *Breast Cancer* 2006;13:236-248.
10. Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, Rees CA, Eisen MB, Ross DT, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Nature* 2000;96:9212-9217.
11. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005;23:7350-7360.
12. Kapp AV, Jeffrey SS, Langerod A, Borresen-Dale AL, Han Wonshik, Noh DY, et al. Discovery and validation of breast cancer subtypes. *BMC Genomics* 2006;7:231-244.
13. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* 2006;7:96-107.
14. Sorlie T, Wang Y, Chunlin X, Johnsen H, Naume B, Samaha RR, et al. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analysis across three different platforms. *BMC Genomics* 2006;7:127-141.
15. Valladares A, García-Hernández N, Salamanca-Gómez F, Curiel-Quezada E, Madrigal-Bujaidar E, Vergara MD, et al. Genetic expression profiles and chromosomal alterations in Mexican women. *Cancer Genetics Cytogenetics* 2006;170:147-151.
16. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:5367-5374.
17. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol* 2007;8:235-244.
18. Haffy BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5652-5657.
19. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007;109:25-32.
20. Bauer AR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER) negative, progesterone receptor (PR) negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population based study from the California cancer Registry. *Cancer* 2007;109:1721-1728.
21. Altundag K, Harputluoglu H, Aksoy S, Gullu IH. Potential chemotherapy options in triple negative subtype of breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:1294-1295.
22. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mol Pathol* 2006;19:264-271.
23. Kandel MJ, Stadler Z, Masciari S, Collins L, Schnitt S, Harris L, et al. Prevalence of BRCA-1 mutations in triple negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(suppl 18):508.
24. Pegram MD, Finn RS, Arzoo K, Beryt M, Pietras RJ, Salmón DJ. The effect the HER2/neu over-expression on chemotherapeutic drugs sensitivity in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 1997;15:537-547.
25. Baselga J, Seidman AD, Rosen PP, Norton L. HER2 over expression and paclitaxel sensitivity in breast cancer: therapeutic implications. *Oncology (Williston Park)* 1997;11:43-48.
26. Colomer R, Montero S, Lluch A, Ojeda B, Barnadas A, Casado A, et al. Circulating HER2 extracellular domain and resistance to chemotherapy in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:2356-2362.
27. Harris LN, Broadwater G, Lin NU, Miron A, Schnitt SJ, Cowan D, et al. Molecular subtypes of breast cancer in relation to paclitaxel response and outcomes in women with metastatic disease: results from CALGB 9342. *Breast Cancer Res* 2006;8:66-77.

28. **Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al.** Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:5678-5685.
29. **Falo C, Moreno A, Varela M, Lloveras B, Figueras A, Escobedo A.** HER-2/neu status and response to CMF: retrospective study in a series of operable breast cancer treated with primary CMF chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007;133:423-429.
30. **Finn RS, Dering J, Ginther C, Wilson CA, Glaspy P, Tchekmedyian N, Slamon DJ.** Dasatininb, an orally active small molecule inhibitor of both the *src* and *abl* kinases, selectively inhibits growth of basal-type/"triple-negative" breast cancer cell lines growing in vitro. *Breast Cancer Res Treat* 2007;105:319-326.
31. **Leong CO, Vidnovic N, De Young MP, Sgroi D, Ellisen LW.** The p63/p73 network mediates chemosensitivity to cisplatin in a biologically defined subset of primary breast cancers. *J Clin Invest* 2007;117:1370-1380.
32. **De Giorgi U, Rosti G, Frassinetti L, Kopf B, Giovannini N, Zumaglini F, et al.** High-dose chemotherapy for triple negative breast cancer. *Ann Oncol* 2007;18:202-203.
33. **Wolff AC, Hammond EH, Schwartz JN, Hagerty KL, Alfred C, Cote RJ, et al.** American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guidelines recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:118-145.
34. **Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al.** Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-1672.
35. **Romond EW, Pérez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Davidson NE, et al.** Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Eng J Med* 2005;353:1673-1684.
36. **Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, Feyereislova A, Dowsett M, et al.** 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive: a randomized controlled trial. *Lancet* 2007;369:29-36.

Absorción ultravioleta de los protectores solares para prescripción en México

Juan Pablo Castanedo-Cázares,^{a*} Bertha Torres-Álvarez,^a Cuauhtémoc Araujo-Andrade,^b Mari Paz Castanedo-Tardan^a y Benjamín Moncada^a

^aDepartamento de Dermatología, Hospital Central "Ignacio Morones Prieto", Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México

^bCentro de Investigaciones en Óptica, A.C. León, Guanajuato, México

Recibido en su versión modificada: 10 de septiembre de 2007

Aceptado: 28 de septiembre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: Un fotoprotector adecuado debe proporcionar una elevada y amplia protección ultravioleta no sólo para el rango B sino también para el A. El objetivo fue cuantificar el espectro de absorción ultravioleta en protectores solares disponibles para prescripción médica, y analizar su relación con el factor de protección solar mostrado en su etiqueta.

Material y métodos: Se analizaron 39 protectores solares posterior a exposición de radiación solar simulada y cuantificación de su espectro de absorbancia ultravioleta *in vitro*.

Resultados: 56% de los productos absorbió 90% o más radiación ultravioleta; 75% (n=34) absorbió más de 95% de radiación ultravioleta B, y 46% (n=18) más de 90% de ultravioleta A. No existió relación significativa entre la absorción ultravioleta y el factor de protección solar.

Conclusiones: En esta muestra, la cantidad de absorción ultravioleta no pudo estimarse únicamente por el factor de protección solar, y la protección ultravioleta A varía significativamente entre productos con el mismo factor de protección solar. Este estudio hace evidente las deficiencias en la regulación para la comercialización de estos productos.

Palabras clave:

Filtros solares, absorbancia, radiación solar

SUMMARY

Background: An appropriate sunscreen should provide high and broad ultraviolet protection both for the B and A range. The objective was quantify the ultraviolet absorption spectrum in sunscreens available for medical prescription, and analyze its relationship with the labeled Sun Protection Factor (SPF).

Material and methods: Thirty-nine sunscreens were analyzed *in vitro* using ultraviolet spectroscopy following exposure to simulated solar irradiation.

Results: Fifty-six percent of sunscreens absorbed 90% or more of ultraviolet radiation. Seventy-five percent (n=34) absorbed more than 95% of ultraviolet B radiation, and 46% (n=18) more than 90% of ultraviolet A. There was no significant association between ultraviolet absorption and SPF.

Conclusion: We were unable to estimate ultraviolet absorption only by its SPF. Protection differed considerably among products with similar SPF. Our study highlights regulation deficiencies in marketing practices of these products.

Key words:

Sunscreens, absorbance, solar radiation

Introducción

Por su localización geográfica, la República Mexicana recibe dosis elevadas de radiación ultravioleta durante la mayor parte del año.¹ La radiación ultravioleta ocasiona neoplasias cutáneas,² mutaciones,³ fotoenvejecimiento,⁴ inmunosupresión⁵ y cataratas oculares.⁶ La radiación ultravioleta B (290 a 320 nm) origina la mayoría de estos procesos.⁷ Sin embargo, la radiación ultravioleta A (320 a 380 nm) contribuye a la inmunosupresión⁸ y fotoenvejecimiento cutáneo,⁹ además de ser el principal factor involucrado en fenómenos fotoalérgicos y de fotosensibilidad.¹⁰ La protección cutánea para los segmentos A y B de la radiación ultravioleta previene lesiones

tanto agudas como crónicas. Aunque se recomienda evitar la exposición solar prolongada, la aplicación de fotoprotectores es una de las estrategias que previene los efectos deletéreos tales como la aparición de neoplasias,^{11,12} inmunosupresión,⁸ fotosensibilidad,¹³ y pueden demorar el fotoenvejecimiento.⁹ En nuestro país existe un número considerable de fotoprotectores prescritos primordialmente por dermatólogos, reumatólogos, pediatras y ginecólogos. Sin embargo, desconocemos sus propiedades terapéuticas ya que no son considerados medicamentos sino productos de perfumería y belleza.¹⁴ En consecuencia, no existen instancias sanitarias que los evalúen de forma periódica. La finalidad del estudio fue cuantificar *in vitro* la absorción de radiación ultravioleta en un grupo de

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Juan Pablo Castanedo-Cázares. Departamento de Dermatología. Hospital Central "Ignacio Morones Prieto", Venustiano Carranza 2395, Zona Universitaria, 78210 San Luis Potosí, SLP, México. Tel.: (444) 834 2795.

protectores solares registrados en el Diccionario de Especialidades Farmacéuticas,¹⁵ y analizar su relación con el factor de protección solar citado en la etiqueta. El factor de protección solar es la graduación aceptada para cuantificar la eficacia de un fotoprotector. Se define como la relación entre la cantidad mínima de radiación ultravioleta requerida para producir eritema en piel cubierta con éste, y la requerida para producirse en piel desprotegida.¹⁶

Material y métodos

Se adquirieron 39 presentaciones de protectores solares en puntos comerciales del país, de los cuales se registró su presentación (crema, gel, loción), así como el factor de protección solar indicado en la etiqueta.

Los productos fueron almacenados a temperatura ambiente sin recibir estímulos lumínicos antes de su valoración. La

Cuadro I. Fotoprotectores evaluados con información de relevancia fotobiológica e ingredientes activos

SPF ^a	Absorción ultravioleta (%) ^b			Composición ^c	Fabricante ^d
	A	B	λ		
18	79.38	79.38	78.45	OXI, OMC, HSA	A
20	97.70	99.28	98.49	OZN, TIO, TNS, OMC	B
20	31.66	97.38	64.52	SBZ, AFS	A
20	68.89	93.70	81.30	OZN, TIO, TNS	B
25	94.13	99.36	96.75	TIO, AVO, OXI, OSA, OMC, MEL	C
25	86.60	99.75	93.18	OXI, OMC, OSA, MEL	C
25	72.23	82.57	77.40	OZN, TIO	C
30	96.12	99.79	97.96	TIO, PAO, AVO, OXI	A
30	90.30	99.00	94.65	AVO, OXI, OMC, AFS	D
30	81.74	99.08	90.41	OXI, OMC, HSA	E
30	80.09	99.64	89.87	AVO, OXI, OMC, AFS	D
30	77.75	99.22	88.49	OXI, OMC	C
30	72.93	98.72	85.83	OXI, OSA, OMC	F
30	70.55	99.40	84.97	TIO, OXI, OSA, OMC, HSA	C
30	71.56	97.59	84.57	OZN, OXI, OMC, MBA	D
30	78.16	90.34	84.25	AVO, OXI, OCT, OSA, OMC, HAS, MEL	C
30	74.29	86.40	80.35	AVO, OMC	C
30	56.32	97.34	76.83	AVO, OXI, OMC, AFS	D
30	98.45	99.76	99.11	AVO, OSA, OMC, HSA, MBA	C
34	96.18	99.51	97.85	TIO, TNS, AVO, OXI, OMC, MEL	C
40	97.59	98.00	97.80	MEX	G
40	93.75	97.42	95.59	TIO, AVO, OCT, OMC	C
40	57.77	97.86	77.82	OMC, HSA	C
50	98.78	100.00	99.39	TNS, OZN, TIO	B
50	95.54	99.74	97.64	AVO, OCT, OMC	C
50	66.35	97.31	81.83	OMC, MBA	H
55	72.20	98.18	85.19	TIO, SBZ, OXI, OMC	A
60	99.77	100.00	99.88	TNS, TIO, AVO, OCT, OCZ, OSA, MEX	G
60	97.44	99.06	98.25	OZN, TIO, TNS	B
60	96.63	99.59	98.11	TIO, TNS, OCT, OMC	B
80	99.49	100	99.75	TIO, AVO, OXI, OCT, OSA, MEL, OMC	C
80	75.57	96.53	86.05	TIO, TNS	C
85	97.12	99.55	98.34	TIO, OZN, OXI, AVO, OMC, OSA, MBA	C
100	98.64	99.60	99.12	TNS, AVO, OCZ, MBA	I
100	76.89	98.91	87.90	TIO, TNS	C
NM	96.61	99.87	98.24	TIO	D
NM	94.56	98.65	96.60	TIO	D
NM	86.48	97.68	92.08	TIO, AVO, OXI, OMC	J
NM	77.26	95.33	86.30	OZN, OXI, OMC, MBA	D

^a El factor de protección solar es el indicado en la etiqueta del producto. NM=no mostrado

^b Resultados posteriores a la exposición de 180 mJ/cm² de radiación ultravioleta solar simulada. Lambda (λ) es el porcentaje de absorción entre 290 y 370 nm.

^c OMC=octilmetoxicinamato; OXI=oxibenzona; OSA=octilsalicilato; HSA=homosalato; OCT=octocrilene; PAO=pamidato O; MBA=metilbenciliden alcanfor; AFS=ácido fenilbencimidazol sulfónico; MEL=melanina; MEX=mexoryl SX/XL; OCZ=octitriazona; AVO=avobenzona; SBZ=sulisobenzona; TNS=tinorob MIS; TIO=dióxido de titanio; OZN=óxido de zinc.

absorción ultravioleta de estos compuestos se evaluó colocando la dosis de referencia propuesta por la Administración de Drogas, Bebidas y Alimentos de Estados Unidos de América (FDA, por sus siglas en inglés).¹⁷ Un investigador aplicó con movimientos circulares 2 mg de cada uno de los productos sobre placas de cuarzo de 1 cm² y 1 mm de espesor. El peso fue corroborado mediante el uso de una balanza de laboratorio. La muestra se dejó fijar durante 15 minutos a una temperatura de 20 °C y una humedad ambiental relativa de 50%.

Con la finalidad de registrar el espectro de absorción de los productos en condiciones aparentes de utilización activa, las 39 muestras fueron expuestas a radiación ultravioleta de amplio espectro originada por un simulador solar de xenón de 150 watts modelo S16 (Solar light, Inc. Phil, EUA). La dosis de radiación ultravioleta fue de 180 miliJoules/cm², cantidad equivalente a la existente de 12 a 2 PM en el ambiente de la ciudad de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México, en el mes de mayo.¹

Posteriormente se cuantificó el espectro de absorción ultravioleta (por ejemplo: A y B) de los compuestos mediante un espectro fotómetro de fibra óptica marca Ocean Optics (Dunedin, FL, EUA), modelo S2000, configurado para longitudes de 200 a 1200 nm. Para evaluar el espectro de protección del producto, se utilizó el valor crítico de absorción (λ), el cual se define como la longitud de onda entre 290 y 400 nm en que la integral de la curva de absorción espectral completa 90% del área.¹⁸ Dado que la Academia Americana de Dermatología recomienda la absorción ultravioleta mínima de 90% entre longitudes de 290 a 370 nm, λ se circunscribió a 370 nm.¹⁹

El registro obtenido fue analizado y graficado mediante el programa Origin versión 6.0 (Microcal Software, Inc. Northampton, MA, EUA). Se realizó análisis de regresión simple a fin de investigar la relación entre factor de protección solar y la absorción ultravioleta. Las diferencias entre los

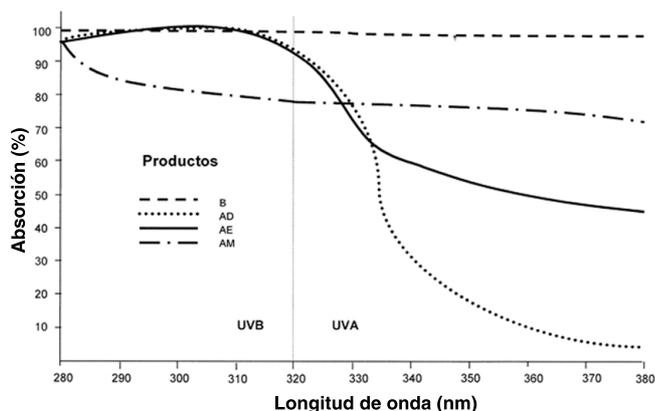


Figura 1. Rangos de absorción ultravioleta A y B encontrados en los productos evaluados. El producto B mostró la mejor absorción en ambos en espectros (UVA, UVB). Los productos AD y AE tienen un rango de absorción ultravioleta B muy semejante, sin embargo AD tiene el menor porcentaje de absorción de radiación ultravioleta A. El producto AM muestra el porcentaje de absorción de ultravioleta B más bajo, pero una absorción ultravioleta A superior al producto AD. Estos espectros se obtuvieron posteriores a la exposición de 180 mJ/cm² de radiación solar simulada.

segmentos de absorción se analizaron mediante la prueba *t*. Se consideraron significativos valores $p \leq 0.05$.

Resultados

En el cuadro I se muestra las sustancias activas, factor de protección solar, y absorción ultravioleta (λ) en los productos evaluados. La mayoría indica el factor de protección solar en su etiqueta, con excepción de cuatro presentaciones. El factor de protección solar más común es 30, con rangos de 18 a 100.

Estos productos incorporan un total de 18 compuestos activos. La mayoría incorpora dos o más sustancias; 48.7% (n=19) combina elementos químicos (orgánicos) y físicos (inorgánicos), 43.5% (n=17) sólo químicos y 7.7% (n=3) sólo físicos. Los más frecuentes son octilmetoxicinamato en 64.1% (n=26), dióxido de titanio en 51.2% (n=20) y oxibenzona en 46.1% (n=19).

En la figura 1 se exponen las curvas de absorción ultravioleta de cuatro productos representativos. Respecto a λ , solamente 56% (n=22) de los productos bloquearon más de 90% de la radiación ultravioleta. La absorción máxima obtenida en la muestra fue de 99.8%, y la mínima de 64.5%. El análisis de correlación de Pearson (*r*) y el de determinación (*r*²) mostró una relación poco significativa entre el factor de protección solar y la absorción ultravioleta (λ), ($r=0.36$, $r^2=0.13$, $p=0.03$). Entre segmentos tampoco existió relación entre factor de protección solar y ultravioleta B ($r=0.26$, $r^2=0.07$, $p=0.06$), así como factor de protección solar y ultravioleta A ($r=0.27$, $r^2=0.073$, $p=0.064$). Cuatro productos se excluyeron del análisis por no indicar el factor de protección solar en su etiqueta (Figura 2).

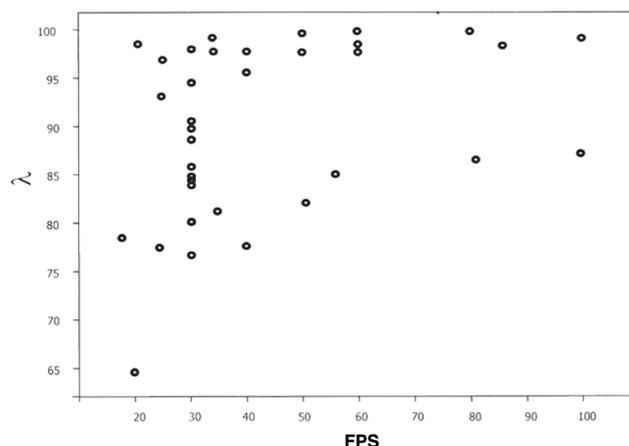


Figura 2. Relación entre los valores de factor de protección solar mostrados en la etiqueta y la longitud crítica de absorción (λ) de los productos evaluados. Se ilustra la variación en el porcentaje de absorción ultravioleta ($\lambda=290-370$ nm) entre productos con el mismo factor de protección solar, así como entre valores diferentes. Como ejemplo se muestra que entre productos con factor de protección solar 30, el rango de absorción ultravioleta es de 76 a 98%. El análisis de correlación muestra una relación poco significativa ($r=0.36$, $r^2=0.13$, $p=0.03$).

Respecto a la absorción ultravioleta B, 75% (n=34) de los productos impiden su paso en más de 95%, a diferencia de 7.6% (n=3) que absorbe menos de 90%. En relación con la radiación ultravioleta A, 46.1% (n=18) mostró absorciones superiores a 90%, en contraste con el resto que mostró absorciones tan bajas como de 31%. En promedio, los productos examinados tienen mayor capacidad de eliminar radiación ultravioleta B que ultravioleta A (97.19 vs. 83.37%, p<0.001).

Discusión

El rango ultravioleta B incide primordialmente sobre la epidermis, a diferencia del ultravioleta A que penetra hasta dermis produciendo lesiones poco perceptibles con consecuencias a largo plazo.²⁰ Por lo tanto, un fotoprotector adecuado es aquel capaz de cubrir ambas porciones.

La absorción del segmento ultravioleta 290 a 370 (λ) es un parámetro in vitro conmensurable a la medición in vivo del factor de protección solar.¹⁸ Sin embargo, en nuestro estudio no se halló relación entre el factor de protección solar expuesto en la etiqueta y la radiación ultravioleta absorbida. En consecuencia, sería inadecuado asumir que a mayor factor de protección solar, mejor protección solar ofrecerán estos productos.

Respecto a la protección para los segmentos A y B, la mayor parte de los productos son adecuados para prevenir lesiones agudas (por ejemplo, quemadura solar), ya que eliminan más de 90% de la porción eritematogénica (290-340 nm). Sin embargo, la protección para el segmento A es insuficiente, ya que más de la mitad de los productos son incapaces de eliminarlo conforme a lo recomendado.¹⁹ De igual forma, el factor de protección solar tampoco muestra relación con la protección ofrecida frente a longitudes de 340 a 400 nm (ultravioleta A), ya que un producto puede ser apropiado para evitar quemadura solar, pero ser poco útil en la prevención de lesiones como fotosensibilidad, hiperpigmentación, o envejecimiento, entre otras. Es decir, la protección A varía significativamente entre productos etiquetados con un mismo factor de protección solar.

La relación entre factor de protección solar y ultravioleta B tampoco fue importante, posiblemente debido a la sobreevaluación del factor de protección solar descrita en trabajos previos.¹⁶ Es decir, existen productos con factor de protección solar de 30 o inferiores que absorben radiación ultravioleta de forma similar a aquellos con factores superiores a 50. En la práctica clínica, si consideramos que un protector con factor de protección solar 15 es suficiente para la mayoría de nuestra población,^{1,21} el prescribir factores altos incrementa innecesariamente el costo de esta intervención, ya que la vida media de todos es muy semejante (dos a cuatro horas). Consecuentemente, queremos resaltar que en un país con niveles elevados de radiación ultravioleta como el nuestro, es de mayor relevancia prescribir fotoprotectores de amplio espectro e indicar su utilización adecuada, que recomendarlos simplemente en relación con su factor de protección solar.

Otro aspecto que debemos resaltar de los hallazgos de este estudio es que en nuestro país los fotoprotectores no se

consideran medicamentos sino cosméticos. Esto origina que el paciente utilice productos inadecuados para su protección con la falsa sensación de seguridad.^{16,21} Desde hace años, instancias regulatorias en países desarrollados promueven que estos productos ofrezcan protección contra radiación ultravioleta A y ultravioleta B; aunque en nuestro medio aparentemente también sucede, es sólo desde el punto de vista del fabricante. Es posible que nuestra institución sea la única en México donde se realizan estudios como el descrito, cuando debería ser un compromiso del Sector Salud. Por lo tanto, exhortamos a las instancias gubernamentales correspondientes a resolver este problema, e invitamos a los grupos médicos, academias, colegios y sociedades de nuestro país, a influir sobre aquellas para lograr un cambio en el estatus de estos productos.

Referencias

1. Castanedo-Cázares IP, Lepe V, Gordillo-Moscoso A, Moncada B. Ultraviolet radiation doses in Mexican students. *Salud Publica Mex* 2003;45:439-444.
2. Koh HK, Geller AC, Miller DR, Grossbart T A, Lew RA. Prevention and early detection strategies for melanoma and skin cancer. *Arch Dermatol* 1996;132:436-443.
3. Wikonkal NM, Brash DE. Ultraviolet radiation induced signature mutations in photocarcinogenesis. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999;4:6-10.
4. Yaar M, Gilchrist BA. Aging and photoaging: postulated mechanisms and effectors. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1998;3:47-51.
5. Nishigori C, Yarosh DB, Donawho C, Kripke ML. The immune system in ultraviolet carcinogenesis. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1996;1:143-146.
6. Sliney DH. Epidemiological studies of sunlight and cataract: the critical factor of ultraviolet exposure geometry. *Ophthalmic Epidemiol* 1994;1:107-119.
7. Cole CA, Forbes PD, Davies RE. An action spectrum for ultravioleta photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol* 1986;36:187-191.
8. Serre I, Cano JP, Picot MC, Meynadier J, Meunier L. Immunosuppression induced by acute solar-simulated ultraviolet exposure in humans: prevention by a sunscreen with a sun protection factor of 15 and high ultravioleta A protection. *J Am Acad Dermatol* 1997;37:187-194.
9. Stem RS. Clinical practice. Treatment of photoaging. *N Engl J Med* 2004;350:1526-1534.
10. Krutmann I. Ultraviolet A radiation-induced biological effects in human skin: relevance for photoaging and photodermatitis. *J Dermatol Sci* 2000;23(Suppl 1):S22-S226.
11. Buller DB, Geller AC, Cantor M, Buller MK, Rosseel K, Benjes L, et al. Sun protection policies and environmental features in US elementary schools. *Arch Dermatol* 2002;138:771-774.
12. Thompson SC, Jolley D, Marks R. Reduction of solar keratoses by regular sunscreen use. *N Engl J Med* 1993;329:1147-1151.
13. Azurdia RM, Pagliaro JA, Rhodes LE. Sunscreen application technique in photosensitive patients: a quantitative assessment of the effect of education. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2000;16:53-56.
14. Norma Oficial Mexicana. NOM-141-SSAI-1995. Bienes y servicios. Etiquetado para productos de perfumería y belleza preenvasados. Secretaría de Salud, México.
15. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas (DEF). José Antonio Solís Sánchez, editor. México: Thomson PLM, edición 51; 2005.
16. Castanedo-Cázares JP, Torres-Álvarez B, Briones-Estevis S, Moncada B. La inconsistencia del factor de protección solar (FPS) en México. El caso de los filtros para piel oleosa. *Gac Med Mex* 2005;141:111-114.
17. Department of Health and Human Services FDA, USA. Sunscreen Drug Products For Over-The-Counter Human Use; Final Monograph. *Federal Register* 1999;64;27666-27693.
18. Diffey BL, Tanner PR, Matts P J, Nash JF. In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. *J Am Acad Dermatol* 2000;43:1024-1035.
19. Kullavanijaya P, Lim HW. Photoprotection. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:937-958.
20. Mitchell D. Revisiting the photochemistry of solar UVA in human skin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:13567-13568.
21. Castanedo-Cázares JP, Torres-Álvarez B, Medellín-Pérez ME, Aguilar-Hernández GA, Moncada B. Conocimientos y actitudes de la población mexicana con respecto a la radiación solar. *Gac Med Mex* 2006;142:451-455.

Obesidad, inflamación y diabetes

Luis Miguel Miranda-Garduño* y Alfredo Reza-Albarrán

Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, SSA, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 17 de mayo de 2007

Aceptado: 24 de mayo de 2007

RESUMEN

La integración de metabolismo e inmunidad bajo condiciones normales es benéfica para mantener la homeostasis, pero puede ser deletérea bajo condiciones de cambio metabólico como en la inmunosupresión característica de la desnutrición. Con el incremento del sobrepeso y la obesidad, nuevos problemas de la intersección del metabolismo e inmunidad han emergido: obesidad asociada a enfermedades inflamatorias, diabetes, hígado graso y aterosclerosis. Existe un alto nivel de coordinación entre las vías metabólica e inflamatoria y destacan en este sentido los macrófagos y los adipocitos en la obesidad. Las señales intracelulares activadas en la respuesta a la inflamación pueden inhibir la señal de la insulina. La pérdida de mediadores o moléculas de señalización inflamatorias previene la resistencia a la insulina. En ausencia de obesidad, una infusión de citocinas inflamatorias o lípidos causa resistencia a la insulina. Entender los mecanismos que conducen de obesidad a inflamación tendrá importantes implicaciones para reducir la morbilidad y mortalidad de la obesidad a través de prevenir su asociación con inflamación.

Palabras clave:

Diabetes, obesidad, inflamación, estrés, resistencia a la insulina

SUMMARY

Integration of metabolism and immunity in normal physiology is beneficial to maintain homeostasis. It can also become deleterious under conditions such as the immunosuppression observed among the malnourished. With the increase of excess weight and obesity, a new set of problems and complications has emerged at the intersection of metabolic activity and immunity. As examples of the latter we find obesity associated with inflammatory diseases, diabetes, fatty liver disease and atherosclerosis. Obesity is characterized by inflammation; there are common factors at the crossroads of inflammation and metabolic disease. Obesity is characterized by an inflammatory response and many inflammatory mediators exhibit expression patterns that interfere with insulin action. The high level of coordination of inflammatory and metabolic pathways is highlighted by the overlapping biology of macrophage and adipocyte function observed in obesity. The intracellular signaling pathways activated by inflammatory and stress responses inhibit insulin signaling and the loss of inflammatory mediators prevents insulin resistance. In the absence of obesity, an infusion of inflammatory cytokines or lipids causes insulin resistance. Understanding the mechanisms leading from obesity to inflammation will have important implications to help reduce the morbidity and mortality associated with obesity by preventing its association with inflammatory disorders.

Key words:

Diabetes, obesity, inflammation, stress, insulin resistance

La supervivencia de organismos multicelulares depende de su habilidad para luchar contra infecciones, reparar el daño y de la habilidad para almacenar energía para el tiempo en que exista baja disponibilidad de nutrientes o se requiera de alta energía. Los sistemas inmune y metabólico son por lo tanto requerimientos básicos en el reino animal, desde organismos como *Drosophila* hasta mamíferos. Las vías metabólicas e inmunes son por tanto cercanas e interdependientes. Muchas hormonas, citocinas, proteínas señaladoras, factores de transcripción y lípidos bioactivos pueden funcionar en ambos roles, metabólico e inmune. Además, algunos usando la misma maquinaria celular y regulando el uno al otro. La respuesta normal inflamatoria requiere del soporte metabólico y la redistribución de la

energía, particularmente la movilización desde los sitios de reserva de lípidos que juegan un papel importante en la lucha contra la infección durante la fase de respuesta aguda. La respuesta inflamatoria básica favorece el estado catabólico y suprime vías anabólicas como la de la insulina.

La integración de metabolismo e inmunidad bajo condiciones normales es benéfica para el mantenimiento de la homeostasis, pero puede ser deletérea bajo condiciones de cambio metabólico como se ejemplifica en la inmunosupresión característica de la desnutrición. Con el incremento del sobrepeso y la obesidad, nuevos problemas y complicaciones de la intersección del metabolismo e inmunidad han emergido, incluyendo la obesidad asociada a enfermedades inflamatorias, diabetes, hígado graso y aterosclerosis.

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Alfredo A. Reza-Albarrán. Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga 15, Col. Sección XVI, 14000 Tlalpan, México D.F., México. Tel.: 5487 0900. Correo electrónico: a_reza_albarran@yahoo.com.mx.

Hay evidencia que indica la interacción cercana entre metabolismo y sistema inmune; entre muchas razones para mantener un peso saludable se tiene al paradigma de que el desequilibrio metabólico conduce a desequilibrio inmune, con desnutrición e inmunosupresión en un lado del espectro, y obesidad e inflamación en el otro.¹ Las citoquinas involucradas provienen tanto del tejido adiposo como de las células del sistema inmune.

En este artículo se discute la asociación molecular y celular entre metabolismo e inflamación, particularmente en el contexto de diabetes y obesidad, destacando mediadores de inflamación, estrés y vías de señalización. Se considera el origen y las razones de la respuesta inflamatoria en la obesidad.

La obesidad es caracterizada por inflamación

Factores entrelazados en inflamación y enfermedad metabólica

La primera molécula que asoció inflamación y obesidad fue el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α).² El TNF α es una citocina inflamatoria que se produce fundamentalmente en los macrófagos y en otras células. El TNF y la interleucina-1 (IL1) son dos de las principales citocinas; sus acciones más importantes en la inflamación se derivan de sus efectos sobre el endotelio, leucocitos y fibroblastos e incluyen la inducción de respuestas sistémicas de fase aguda. En el endotelio inducen un espectro de cambios, principalmente regulados al nivel de la transcripción de genes, sobre la síntesis de mediadores químicos, en los que destaca por su efecto en la resistencia a la insulina la IL6.

El TNF es sobreexpresado en tejido adiposo en modelos de obesidad en ratones y es sobreproducido en tejido adiposo y en músculo de humanos obesos.²⁻⁴

En sujetos obesos, las concentraciones en plasma de TNF α , IL6, CRP (proteína C reactiva) y PAI1 (inhibidor del activador de plasminógeno-1) se encuentran elevadas; muchos de los mediadores de inflamación, como IL6, exhiben patrones de expresión que impactan en la acción de la insulina de una manera similar al TNF.^{3,4}

La administración de TNF α recombinante a animales altera la acción de la insulina. La inhibición de la señal del receptor de insulina por mediadores de inflamación es el primer mecanismo por el cual se condiciona resistencia a insulina. La exposición de las células a TNF α inhibe la fosforilación de IRS1 (sustrato del receptor de insulina-1). La inhibición de la fosforilación del IRS y de la habilidad de IRS a unirse al receptor de insulina inhiben la señalización "río abajo" de la insulina; en ratones obesos que carecen de TNF α funcional o de receptores para TNF α , la sensibilidad y acción de la insulina mejoran, por tanto, y particularmente en modelos experimentales es claro que una sobreexpresión de TNF α en tejido adiposo es una importante característica de la obesidad y contribuye significativamente a la resistencia a insulina.⁵ La diabetes y la obesidad se caracterizan por concentraciones elevadas de reactantes de fase

aguda, como IL6. Varios estudios confirman la idea de que en la diabetes mellitus tipo 2 hay un estado de inflamación.^{6,7} Hay evidencias claras de que la inflamación participa de manera importante a través de TNF, IL1, IL6 y otros, en dos problemas de salud pública: diabetes y obesidad.

Estudios transcripcionales han revelado que los genes de la respuesta inflamatoria y estrés se expresan abundantemente en tejido adiposo de animales obesos.

Además de las citocinas inflamatorias que alteran la homeostasis metabólica,^{8,9} existen moléculas que son típicamente de adipocitos y las cuales también tienen funciones metabólicas que pueden regular la respuesta inmune; la leptina es una de tales hormonas y desempeña un importante papel en la inmunidad adaptativa e innata. Los niveles reducidos de leptina pueden ser responsables, por lo menos en parte, de la inmunosupresión asociada con la desnutrición, como lo muestra que la administración de leptina a ratones desnutridos revierte el estado de inmunosupresión.¹⁰

Otra adipocitocina que como la leptina tiene un papel en el metabolismo e inmunidad es la visfatina; dicha molécula tiene una relación directa con la masa de tejido adiposo y también participa en la diferenciación de los linfocitos B, células que también la sintetizan y secretan. Esta adipocitocina puede mimetizar la acción de la insulina al unirse y activar a su receptor y potencialmente puede disminuir los niveles de glucosa en ratones.¹¹ En cambio, la adiponectina tiene una relación inversa en la obesidad y con la edad; sus niveles están reducidos en humanos obesos y su administración a modelos de ratones obesos mejora la acción de la insulina.¹²

La resistina es otra adipocitocina que tiene una relación directa con la masa de tejido adiposo y tiene un papel en la resistencia a la insulina, aunque se requieren estudios adicionales para aclarar su papel en humanos.^{12,13}

Finalmente, los lípidos por sí mismos también participan en la respuesta inflamatoria y en el metabolismo. Niveles elevados de lípidos en plasma son característicos de obesidad, infección y otros estados inflamatorios. La hiperlipidemia característica de la obesidad es responsable en parte de inducir resistencia a insulina y contribuye al desarrollo de aterosclerosis. Es interesante notar que los cambios metabólicos característicos de la fase de respuesta aguda son también proaterogénicos; así, la alteración en el metabolismo de los lípidos que es benéfica en corto plazo para la lucha en contra de infecciones es perjudicial si se mantiene a largo plazo.¹

Inflamación y metabolismo ligados a macrófagos

Existe un alto nivel de coordinación entre las vías metabólica e inflamatoria y destacan en este sentido los macrófagos y los adipocitos en la obesidad. La expresión de genes es muy similar entre ambos tipos celulares. Los macrófagos expresan muchos de los productos génicos del adipocito, tales como PPAR γ y la adipocito/macrófago FABP aP2 (proteína de unión a ácidos grasos que une con gran afinidad múltiples ligandos hidrofóbicos, incluyendo ácidos grasos, eicosanoides y retinoides; se piensa que las FABP facilitan la captación de los ácidos grasos y su posterior transporte intrace-

lular a las organelas subcelulares), mientras que los adipocitos pueden expresar muchas proteínas de macrófago, como TNF α , IL6 y MMP (matriz metaloproteínasa).¹⁴ La capacidad funcional de estas dos células también se sobrepone; los macrófagos pueden tomar las reservas de lípidos y llegar a ser células espumosas en la aterosclerosis. Los preadipocitos pueden bajo algunas condiciones mostrar propiedades fagocíticas y antimicrobianas y es posible que puedan diferenciarse a macrófagos bajo el estímulo y ambiente apropiados; esto sugiere un papel potencial de los preadipocitos en la inmunidad.¹⁵ Más aún, en el tejido adiposo en humanos obesos coexisten macrófagos y adipocitos. El hallazgo de que una característica de la obesidad es la acumulación de macrófagos en grasa visceral agrega otra dimensión al conocimiento del desarrollo de la inflamación en tejido adiposo en obesidad.¹⁶

Los macrófagos del tejido adiposo probablemente contribuyen a la producción de mediadores de inflamación, de manera aislada o con la cooperación de adipocitos.

En términos de respuesta inmune, la interacción entre macrófagos y adipocitos tiene sentido, dado que ambos tipos de células participan en la respuesta inmune innata: macrófagos en el papel de células inmunes destruyen patógenos y liberan citocinas, quimiocinas inflamatorias y adipocitos, liberando lípidos que pueden modular el estado inflamatorio o participar en la neutralización de patógenos.

La distribución de la grasa corporal influye en el riesgo cardiovascular; la distribución androide o del segmento superior se asocia con mayor riesgo que la ginecoide o del segmento inferior, aun ajustando por índice de masa corporal; ello probablemente se debe a la mayor respuesta a estímulo lipolítico (y por ello mayor liberación de ácidos grasos que condicionan resistencia a la insulina) del tejido adiposo visceral. Otro punto importante es la contribución del tejido graso subcutáneo *versus* el visceral en la resistencia a la insulina. Parece ser válida la aseveración de que ambos tipos de grasa contribuyen, uno por su mayor masa global (subcutáneo) y otro por su mayor actividad lipolítica ajustada por unidad de masa de tejido graso (visceral).

Inflamación y resistencia a insulina

La obesidad está asociada con un estado de inflamación crónica de bajo grado, particularmente en la grasa visceral. Las citocinas inflamatorias y los ácidos grasos producen resistencia a la insulina. Las señales intracelulares activadas en respuesta a la inflamación inhiben las vías de señalización de la insulina.

La insulina al unirse a su receptor activa en la cascada "río abajo" a cinasas de MAP; estas mismas cinasas pueden ser activadas de manera independiente de la insulina por agentes externos, como los productos microbianos, o internos, como las citocinas. Al activarse por vías independientes de la insulina, estas proteínas cinasas generan resistencia a la misma (Figura 1).

El receptor de la insulina es miembro de la familia de receptores con actividad intrínseca cinasa de tirosina, y está

situado en la superficie de células que dependen de insulina como hígado, adipocito y músculo; la unión al receptor de insulina estimula su autofosforilación y la de varios sustratos, incluyendo los miembros de la familia de sustratos de receptor de insulina (IRS) (Figura 1). Existen cuatro isoformas de IRS^{17,18} que coordinan múltiples señales a través de la activación de la vía de fosfatidilinositol 3 cinasa y la vía Grb2/Sos→cascada de Ras; esto inicia los eventos "río abajo" de la señal de insulina, que incluyen los de tipo metabólico y los asociados a mitosis y proliferación celular; las cinasas de MAP participan sobre todo en este último tipo de respuesta mencionado y median respuestas celulares que incluyen cambios en la actividad de enzimas metabólicas, en la expresión de genes y en la estructura del citoesqueleto. Las cinasas de MAP incluyen la cinasa aminoterminal Jun (JNK), la cinasa activada por señales extracelulares (ERK) y la cinasa asociada a p85.

La inhibición de la señalización activada por el receptor de insulina por citocinas inflamatorias es el primer mecanismo por el que se produce resistencia a la insulina. La exposición de las células a TNF α o a niveles elevados de ácidos grasos libres inhibe la fosforilación de IRS1; dicha inhibición y la disminución de la unión del receptor de insulina con IRS1 condicionan resistencia a la insulina.

En las células eucariotes hay múltiples vías de cinasas de MAP; éstas pueden ser activadas tanto por la unión de un ligando a un receptor acoplado a proteína G como a un receptor con actividad cinasa de tirosina; estas proteínas son cinasas de serina y treonina que se activan en el citosol en respuesta a señales extracelulares específicas dependientes e independientes de insulina y que pueden ser translocadas al núcleo. Las distintas cinasas de MAP median respuestas celulares específicas, por ejemplo, morfogénesis, muerte celular y respuestas al estrés.

Varias de estas cinasas de serina y treonina son activadas por inflamación o estrés y contribuyen a la inhibición de la señal "río abajo" de la insulina.^{19,20} De nueva cuenta, destaca la interrelación entre las vías metabólica e inmune; éstas son las mismas cinasas, particularmente el inhibidor de la cinasa del factor nuclear kappa B (IKK) y JNK, que son activadas a través del receptor parecido a toll (TLR) en

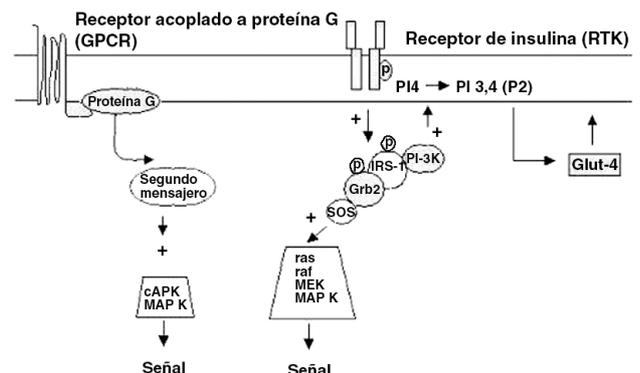


Figura 1. Las proteínas con actividad de cinasas pueden ser activadas por vía de GPCR y TRK.

respuesta a lipopolisacáridos, peptidoglucanos, RNA y otros productos microbianos.

La interrelación entre metabolismo e inmunidad queda ejemplificada en el mayor componente de la inmunidad innata, la serie de células centinela, macrófagos, células presentadoras de antígenos, células dendríticas y también las células del epitelio intestinal, endotelio, células de Kupffer en el hígado, adipocitos y otros que actúan como detectores de *intrusos*; receptores de pauta de reconocimiento (PRR) en estas células reconocen estructuras moleculares características de agentes peligrosos. Los PRR más estudiados son la familia de TLR; se conocen al menos 10 TLR; TLR está presente en la superficie celular como receptor transmembrana. TLR4, por ejemplo, reconoce lipopolisacáridos de bacterias gram negativas. Otros receptores de pauta de reconocimiento que se ubican en la superficie de los macrófagos son los SR (receptor scavenger) y el receptor de productos finales de glucosilación avanzada, estos son ampliamente conocidos en su papel en la generación de células espumosas en la aterosclerosis y en la aparición de complicaciones crónicas de la diabetes mellitus 2, respectivamente. La unión al receptor de pauta de reconocimiento activa al factor nuclear kappa B (NF- κ B), IKK y JNK, induciendo la respuesta de genes proinflamatorios, especialmente aquellos para citocinas inflamatorias⁷ (Figura 2). A continuación se describe cómo estas moléculas inhiben la señal de la insulina, generando resistencia a sus efectos.

JNK (cinasa amino terminal JUN)

Los tres miembros del grupo de serina/treonina JNK, JNK1, JNK2 y JNK3,²¹ pertenecen a la familia de cinasas de MAP y regulan múltiples actividades en la función y desarrollo celular, en parte por su habilidad en el control de la transcripción de proteínas activadoras de fosforilación (AP1) y que incluyen c-Jun y Jun-B. JNK ha emergido recientemente como un regulador que juega un importante rol en el desarrollo de la resistencia a la insulina en la obesidad.²¹ En respuesta a estímulos tales como estrés en retículo endoplásmico (un concepto que más adelante se describirá con detalle), citocinas y ácidos grasos libres, JNK es activado y

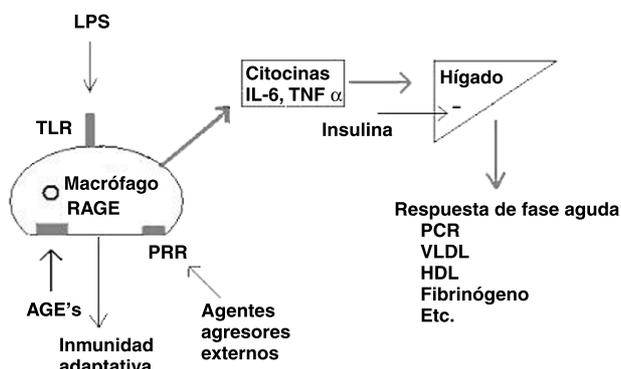


Figura 2. La activación de receptores TLR, PRR y RAGE lleva a la generación de moléculas (IKK, JNK) que modulan la respuesta inflamatoria y generan resistencia a la insulina.

fosforila IRS1 en serina 307, bloqueando la señal “río abajo” e impidiendo la acción de la insulina.²² En obesidad, la actividad de JNK es alta en hígado, músculo y tejido adiposo. La pérdida de JNK1 previene el desarrollo de resistencia a insulina y diabetes en modelos génicos y dietarios de obesidad en ratones. La acción de JNK1 en animales adultos también produce efectos sistémicos en el metabolismo de la glucosa, lo cual muestra la importancia de esta vía en el hígado. La contribución de la vía de JNK a la resistencia a la insulina en tejido adiposo, músculo y en otros tejidos es actualmente poco clara. Estudios recientes en ratones han demostrado que la inhibición de JNK en diabetes o aterosclerosis podría ser una terapéutica potencialmente viable para estas enfermedades en humanos.²³

PKC (proteína cinasa C) e IKK

Son cinasas inflamatorias que tienen el papel de contrarrestar la acción de la insulina, particularmente en el metabolismo lipídico. Se ha demostrado que la hiperglucemia en diabéticos y la infusión de lípidos aumenta el nivel intracelular de metabolitos de ácidos grasos como el diacilglicerol (DAG) y acil Co-A; este incremento es correlacionado con la activación de PKC θ y el incremento en la fosforilación de IRS1 en serina 307 y disminución de la actividad de fosfatidilinositol-3 (PI3) cinasa; también se ha observado que la subunidad β del receptor de insulina sufre una fosforilación serina-treonina, lo que disminuye la capacidad del receptor de autofosforilarse.²⁴ Las actividades de varias isoformas de PKC que catalizan la fosforilación de serina o de treonina del receptor de la insulina están elevadas en modelos animales de resistencia a la insulina y en los humanos resistentes a la insulina. Aún más, la activación de PKC por la hiperglucemia en la diabetes mellitus tiene consecuencias patogénicas importantes que implican a las complicaciones crónicas.²⁵

PKC θ puede interferir con la acción de la insulina al activar otras cinasas de serina/treonina, IKK β o JNK. IKK β puede alterar la señal de la insulina a través de al menos dos vías: directamente fosforilar IRS1 en residuos de serina y fosforilar al inhibidor de NF- κ B, activando así a NF- κ B, un factor de transcripción que entre otros blancos estimula la producción de múltiples mediadores de inflamación, incluyendo TNF α e IL6 (Figura 3). La inhibición de IKK β en humanos diabéticos con altas dosis de aspirina favorece la señalización de la insulina.²⁶ La activación de IKK en el hígado y células mieloides parece contribuir a la resistencia a la insulina inducida por la obesidad, aunque esta vía no es tan importante en el músculo.²⁷

Otras vías: en adición a las cinasas de serina/treonina, otras vías inflamatorias inducen resistencia a la insulina. Al menos tres miembros de la familia de SOCS (*supresores of cytokine signal*), SOCS1, SOCS3, SOCS6 (supresores de la señal de citocinas), han sido implicados en la inhibición de la señalización de la insulina; estas moléculas parecen producir resistencia a la insulina al impedir la fosforilación de los residuos de tirosina de IRS1 y IRS2.²⁸

En ratones, IRS1 media los efectos de la insulina en el crecimiento celular somático, mientras que IRS2 es esencial

para la homeostasis metabólica. En ratones, la ausencia de IRS1 y de IRS2 conduce a resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. La ausencia selectiva de IRS1 en ratones se asocia con retraso en el crecimiento y leve resistencia a la insulina, lo que sugiere que IRS1 no es indispensable en la secreción de insulina pero tiene un papel importante en la función de los receptores de insulina y de IGF1 (factor de crecimiento similar a la insulina-1). La ausencia selectiva de IRS2 causa deterioro en la función beta pancreática y resistencia severa a la insulina, lo que sugiere que IRS2 es importante en la regulación metabólica de la respuesta a la insulina¹⁷ (Figura 1).

Los IRS pueden ser degradados por sistemas que implican a ubiquitinas durante estrés celular. Muchas citocinas proinflamatorias regulan a la alta a supresores de señal de citocinas (SOCS), de los que se incluyen ocho isoformas; estas proteínas se unen a receptores activados de citocinas como parte de un mecanismo de retroalimentación negativa para atenuar la señal de citocinas; varios reportes sugieren que SOCS1, SOCS3 y SOCS6 inhiben la señal de insulina al promover la ubiquitinización y degradación de IRS1 y IRS2.^{28,29}

La inflamación mediada por citocinas puede también inducir a iNOS. La sobreproducción de óxido nítrico contribuye a la resistencia a la insulina en músculo y en la misma célula β del páncreas en la obesidad.^{30,31} La delección de iNOS no modifica el deterioro de la señalización de la insulina en músculo causada por una dieta alta en grasa, por tanto SOCS e iNOS parecen representar dos mecanismos independientes que contribuyen a la resistencia a la insulina.

Regulación de la vía inflamatoria

Lípidos y blanco de los lípidos

El papel de los lípidos en la enfermedad es complejo. Por un lado la hiperlipidemia conduce a una mayor captación de ácidos grasos por el músculo y, por tanto, a una mayor producción de sus metabolitos que estimulan la cascada inflamatoria e inhiben la señal de insulina³² y, por otro, algunas moléculas intracelulares de naturaleza lipídica pueden también ser antiinflamatorias. Los receptores nucleares, PPAR α , γ , y β/δ y LXR α y β son factores de transcripción que regulan la expresión de genes involucrados en la homeostasis metabólica.

Los ligandos del receptor hepático X (LXR) y de la familia de receptores del activador de proliferación peroxisomal (PPAR) son oxisteroles y ácidos grasos, respectivamente, y la activación de estos factores de transcripción inhibe la expresión de genes proinflamatorios en macrófagos y adipocitos en gran parte por la supresión de NF- κ B;^{32,33} la actividad de estos ligandos lipídicos es influida por proteínas de unión de ácidos grasos (FABPs Ap2); los animales en los que se bloqueó en adipocito y macrófago la proteína de unión de ácidos grasos están protegidos contra diabetes tipo 2 y aterosclerosis; los agonistas de LXR inhiben la expresión de mediadores inflamatorios, incluyendo IL6 y óxido nítrico inducible, los cuales también están implicados en la aterosclerosis. Los LXR activados son la clave en la regulación de

transportadores *ATP-binding cassette* (ABC)³⁴ que participan en el transporte reverso de colesterol y, por tanto, potencialmente pueden ser antiaterogénicos.

La función de LXR es también regulada por la inmunidad innata. La inhibición de la activación LXR en macrófagos provoca una mayor acumulación de colesterol y contribuye a los efectos proaterogénicos de la infección; LXR parece ser necesario para la completa respuesta de los macrófagos a la infección. En ausencia de LXR existe una apoptosis acelerada de los macrófagos y aparece una respuesta inapropiada a la infección.

Manipulación farmacológica de la inflamación

En corroboración con la evidencia genética, la pérdida de mediadores o moléculas de señalización inflamatorios en modelos murinos previene la resistencia a la insulina; el blanco farmacológico sobre las vías inflamatorias mejora también la acción de la insulina. Tratamientos efectivos han sido demostrados con inhibidores de las cinasas inflamatorias; los salicilatos promueven la señalización de la insulina al inhibir la cascada de cinasas inflamatorias dentro de la célula.²⁶ A través de la inhibición de IKK y posiblemente de otras cinasas, los salicilatos a dosis muy altas son capaces de mejorar el metabolismo de la glucosa en ratones obesos y humanos diabéticos. El uso de inhibidores de la síntesis o de péptidos inhibidores de JNK mejora la acción de la insulina en ratones obesos y reduce la aterosclerosis en el modelo de ratón deficiente de apoproteína-E (apo-E). Estos resultados demuestran directamente el potencial terapéutico de inhibidores de JNK en diabetes.

Se han producido ligandos sintéticos para las tres isoformas de PPAR y para LXR-, aunque sólo los ligandos de PPAR γ y PPAR α han sido aprobados para su uso clínico. Las tiazolidinedionas (TZD) tienen una alta afinidad por PPAR γ y su uso clínico como agentes sensibilizadores de insulina mejora la acción de insulina por varios mecanismos, incluyendo el metabolismo de los lípidos y la reducción de la producción de mediadores de la inflamación como el TNF α .³⁵ Los ligandos sintéticos de PPAR α son los fibratos usados en el tratamiento de hiperlipidemia; estas drogas parecen trabajar predominantemente por estimulación de la oxidación de ácidos grasos, por ello tienen también acciones antiinflamatorias que contribuyen a sus efectos. Los ligandos de LXR α mejoran el metabolismo de la glucosa en animales de experimentación y está por verse si la supresión de la inflamación contribuye a esta acción.³⁵

El potencial terapéutico de la inhibición de cinasas JNK e IKK genera una fuerte acción anti-diabética porque estos factores integran señales de múltiples mediadores de inflamación. Por otro lado, si un proceso o el mediador más central puede ser identificado, esto puede proporcionar un objetivo aún más atractivo. La vía de estrés del retículo endoplásmico³⁶⁻³⁸ puede ser potencialmente uno de esos mediadores centrales; esta vía es capaz de activar JNK e IKK; la inhibición de la respuesta de estrés del retículo endoplásmico podría

incapacitar potencialmente a estas armas de la respuesta inflamatoria y rescatar la acción de la insulina. Se ha demostrado recientemente que ratones que sobreexpresan la proteína chaperona ORP150³⁸ muestran una reducción del estrés del retículo endoplásmico y una mejora en la acción de la insulina, mientras que la reducción de la expresión de esta molécula en hígado resulta en un incremento del estrés del retículo endoplásmico y resistencia a la insulina.

Origen de la inflamación en la obesidad

Mientras se conocen muchos de los factores que median la resistencia a la acción de insulina, algunas preguntas están aún sin respuesta, por ejemplo, ¿es la inflamación el primer evento ligado a la obesidad con resistencia a la insulina o la respuesta inflamatoria se presenta después de presentarse la resistencia a la insulina?, ¿cómo y por qué el organismo inicia una respuesta inflamatoria en respuesta a obesidad?, ¿la obesidad induce una respuesta inflamatoria, o la inflamación es secundaria a hiperlipidemia o hiperglucemia?

Al revisar los hechos, es claro que la obesidad promueve los estados de inflamación de bajo grado y de resistencia a la insulina. Sin embargo, aun en ausencia de obesidad, en animales de experimentación una infusión de citocinas inflamatorias o lípidos causa resistencia a la insulina. Adicionalmente, en personas con alguna condición inflamatoria crónica existe un alto riesgo de desarrollar diabetes; por ejemplo, cerca de una tercera parte de pacientes con hepatitis crónica C desarrollan diabetes tipo 2; niveles elevados de TNF α están implicados en esta asociación. La artritis reumatoide también predispone al desarrollo de diabetes y particularmente a enfermedad cardiovascular. Finalmente, remover los mediadores inflamatorios o el componente de la vía inflamatoria, tales como TNF α , JNK y IKK, protege contra la resistencia a la insulina en modelos de ratón obeso y en humanos tratados con drogas que tienen sus blancos de

acción en estas vías, tales como los salicilatos, que a dosis muy altas mejoran la sensibilidad a la insulina. Así, la evidencia disponible sugiere fuertemente que la diabetes tipo 2 es una enfermedad inflamatoria y que la inflamación es una causa primaria de resistencia a insulina en la obesidad; la hiperglucemia e hiperlipidemia parecen ser consecuencias.

Pero, ¿cómo empieza la respuesta inflamatoria? Aunque esta pregunta no se puede responder actualmente, sí se puede especular basándose en los datos disponibles. Parece probable que la respuesta inflamatoria inicie en los propios adipocitos; ellos representan las primeras células afectadas por el desarrollo de la obesidad. ¿Cómo puede la expansión del tejido adiposo en la obesidad provocar una respuesta inflamatoria?

Un mecanismo que parece ser de central importancia es la activación de vías inflamatorias por estrés en el retículo endoplásmico ER. La obesidad genera condiciones que incrementan la demanda en el retículo endoplásmico y sobrecarga su capacidad funcional.^{36,37} Esto es particularmente importante en el caso del tejido adiposo, el cual experimenta cambios severos en su arquitectura, incrementando la síntesis de proteínas y de lípidos, perturbando los nutrientes intracelulares y el flujo de energía. En cultivos y en animales intactos, el estrés del retículo endoplásmico conduce a la activación de JNK y de IKK y así contribuye a la resistencia a la insulina.

Un segundo mecanismo que puede ser relevante en el inicio de la inflamación en la obesidad es el estrés oxidativo. El incremento en la captura de glucosa por las células endoteliales del tejido adiposo en condiciones de hiperglucemia causa un exceso de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria, lo cual condiciona daño oxidativo y activa señales de inflamación dentro de la célula endotelial. El daño endotelial en el tejido adiposo causa quimiotaxis de macrófagos y exacerba aún más la inflamación local. La hiperglucemia también estimula la generación de especies reactivas de oxígeno en los adipocitos, con lo cual se incrementa la producción de citocinas proinflamatorias.^{39,40}

Cuadro I. Acciones de las citocinas y adipocitocinas más importantes involucradas en la inflamación asociadas a la obesidad

Citocina/adipocitocina	Sitio de síntesis	Principales efectos
Adiponectina	Adipocito	Mejora la sensibilidad a la insulina; su nivel en suero correlaciona negativamente con el índice de masa corporal y con la edad.
Leptina	Adipocito	Sus niveles circulantes son proporcionales a la masa grasa. Disminuye la ingesta alimentaria y promueve el metabolismo. Regula la proliferación de linfocitos T.
Visfatina	Adipocito/linfocitos	Efectos insulinomiméticos; se une y activa al receptor de insulina. Promueve la diferenciación de linfocitos B.
Resistina	Adipocito	Sus niveles en sangre correlacionan positivamente con el IMC y participa en la resistencia a la insulina.
TNF α	Macrófago/adipocito	En células endoteliales y en leucocitos aumenta la síntesis y secreción de IL6 y reactantes de fase aguda.
MMP	Adipocito/macrófago	Promueve la diferenciación de preadipocitos a adipocitos; participa en la hiperplasia e hipertrofia del tejido adiposo y en la ruptura de la placa de aterosclerosis.
IL6	Macrófago	Resistencia a la insulina.
PAI1	Adipocito/macrófago	Resistencia a la insulina, promueve el estado procoagulante.

TNF α =factor de necrosis tumoral alfa; MMP=matriz metaloproteínasa; IL6=interleucina 6; PAI1=inhibidor del activador de plasminógeno.

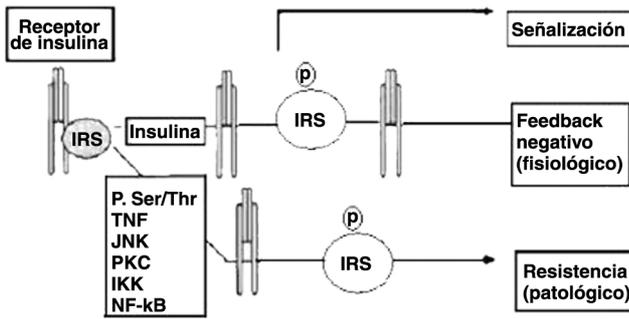


Figura 3. Efectos de la fosforilación de IRS en su interacción con el receptor de insulina. En el modelo presentado la fosforilación en Ser/Thr de IRS sirve como mecanismo de autocontrol o como mecanismo de resistencia a la insulina. Bajo condiciones patológicas como inflamación, estrés o infección, cinasas proinflamatorias como JNK, IKK, PKC o NF-κB fosforilan a IRS y bloquean la señal de la insulina.

La célula beta pancreática responde a concentraciones fisiológicas de glucosa y a concentraciones bajas de ácidos grasos libres. Sin embargo, la exposición de las células beta a concentraciones altas de glucosa y de ácidos grasos resulta en deterioro de la capacidad funcional (gluco y lipotoxicidad, respectivamente). Las citocinas que intervienen en la inflamación parecen tener un papel en los mecanismos por los cuales las concentraciones altas de glucosa y ácidos grasos libres dañan la reserva funcional pancreática.

El cuadro 1 muestra las acciones de las citocinas y adipocitocinas más importantes involucradas en la inflamación asociadas a la obesidad.

¿Por qué inflamación?

Una de las preguntas más difíciles de responder es por qué la obesidad conduce a una respuesta inflamatoria. ¿Por qué, si la habilidad de almacenar el exceso de energía ha sido preservada a través del curso de la evolución, su presencia hace al organismo reaccionar de una manera que es perjudicial a él mismo? Quizá la respuesta esté en la interdependencia en las vías del sistema inmune y metabólico.

Quizás el estrés de la obesidad sea similar al estrés de una infección, en que el organismo reacciona a la obesidad como lo hace a una infección. Por ejemplo, en ambos casos, infección y obesidad, las vías de estrés intracelulares tales como JNK e IKK-NF-κB son activadas. ¿Pueden estas vías ser activadas por mecanismos similares en ambas condiciones?

Un mecanismo que parece ser crítico en el inicio de esta respuesta en ambas situaciones es el estrés del retículo endoplásmico. Durante una infección viral, las vías de estrés son activadas por el genoma viral en el retículo endoplásmico. De manera similar, las demandas en la obesidad (síntesis de proteínas, de lípidos, otros) también resultan en una sobrecarga del retículo endoplásmico y en activación de estas vías (Figura 4).

Por otro lado, es probable que la respuesta inflamatoria de la obesidad no sea simplemente un subproducto indesea-

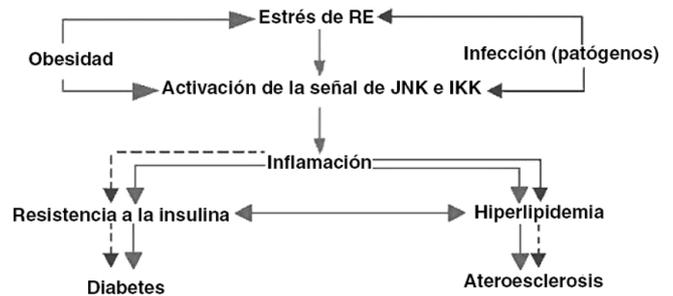


Figura 4. La obesidad (líneas punteadas) y los procesos infecciosos (líneas continuas) se asocian a estrés del retículo endoplásmico (RE) y activan las vías que aumentan la inflamación.

ble, sino un mecanismo de homeostasis para prevenir que el organismo alcance un punto en el que el exceso de acumulación de grasa dañe y de otro modo disminuya la salud. El almacenamiento de lípidos y el aumento de peso requieren de los procesos anabólicos, ejemplificados por la acción de insulina, mientras que la inflamación estimula el catabolismo, incluyendo lipólisis de los adipocitos. Es concebible que mecanismos tales como la activación del catabolismo vía inflamación (y resistencia a señales anabólicas) pueden ser una tentativa de limitar la ganancia de peso.

Mientras no hay evidencia experimental disponible que apoye el papel de la inflamación de bajo grado en tal homeostasis, algún sustento para esta idea se puede ver en los hallazgos observados en experimentos en los que se indujo inflamación local o resistencia a insulina en el tejido adiposo; en dicho tejido el receptor para insulina y para TNF habían sido bloqueados (*knock-out*); los hallazgos fueron metabólicamente favorables, teniendo como resultado un fenotipo delgado y con la sensibilidad sistémica a la insulina conservada.⁵

Se ha propuesto que la presencia de tres o más factores de riesgo cardiovascular que coexisten frecuentemente en un individuo se denomine síndrome metabólico, entidad cuyo valor diagnóstico ha sido cuestionado por la Asociación Americana de Diabetes y por la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes. Es claro que la inflamación y la resistencia a la insulina asociada a ella participan en la coexistencia más frecuente de lo que sería esperable por el azar de ese conjunto de factores de riesgo cardiovascular.

Conclusiones

Es claro que la inhibición de la señalización de la insulina es el mecanismo central a través del cual la inflamación y el estrés producen resistencia a la insulina; es probable que otras vías, moléculas y mecanismos alternos involucrados en esta interacción aún no hayan sido descubiertos.

Otra importante cuestión es si las diferencias genéticas pueden predisponer a algunos individuos a resistencia a la insulina mediada por inflamación. Varios estudios han indicado asociaciones entre diabetes y polimorfismos en los promotores del TNFα y de IL6. Uno de los polimorfismos genéticos más estudiados en asociación con diabetes tipo 2

es el encontrado en el gen que codifica para PPAR γ . Variaciones en la producción de TNF α en la actividad de PPAR γ pueden afectar la susceptibilidad a inflamación en obesidad. De manera similar, variaciones genéticas en FABP, JNK, IIK o en las vías de estrés del retículo endoplásmico que modulan la extensión de la inflamación y consecuentemente de resistencia a la insulina pueden definir el riesgo de individuos para desarrollar complicaciones metabólicas por obesidad.

Finalmente, además de diabetes y enfermedad cardiovascular, la inflamación es un factor importante que une obesidad a hígado graso, cáncer y posiblemente otras entidades nosológicas. Entender los mecanismos que conducen a obesidad e inflamación tendrá importantes implicaciones para diseñar novedosas terapias para reducir la morbilidad y mortalidad de la obesidad a través de prevenir su asociación con enfermedades crónicas inflamatorias.

El racimo de entidades conocidas como síndrome metabólico, obesidad, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular ha comenzado a ser un problema de salud pública mundial. El dramático incremento de la incidencia de la obesidad en la mayor parte del mundo ha contribuido a la aparición de este conjunto de enfermedades, particularmente resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2. Sin embargo, entender el mecanismo molecular subyacente en cada uno de estos desórdenes de manera individual y su relación entre ellos es un auténtico reto.

Referencias

1. Khovidhunkit W, Dunchateau PN, Medzihraszk KF, Moser AH, Naya-Vigne J, Shigenaga JK, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host [review]. *J Lipid Res* 2004;45:1169-1196.
2. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259:87-91.
3. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995;95:2409-2415.
4. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995;95:2111-2119.
5. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature* 1997;389:610-614.
6. Schmidt MI. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (atherosclerosis risk in communities study): a cohort study. *Lancet* 1999;353:1649-1652.
7. Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ, Gaw A, Ford I, Lowe GD, et al. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes* 2002;51:1596-1600.
8. Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:813-823.
9. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004;25:4-7.
10. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998;394:897-901.
11. Fukuhara, A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005;307:426-430.
12. Vilarrasa N, Vendrell J, Maravall J, Broch M, Estepa A, Megia A, et al. Distribution and determinants of adiponectin, resistin and ghrelin in a randomly selected healthy population. *Clinical Endocrinology* 2005;63:329-335.
13. Stepan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004;255:439-447.
14. Bouloumie A, Senegenés C, Portolan G, Galitzky J, Lafontan M. Adipocyte produces matrix metalloproteinases 2 and 9: involvement in adipose differentiation. *Diabetes* 2001;50:2080-2086.
15. Charrière G, Cousin B, Arnaud E, André M, Bacou F, Pénicaud L, et al. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem* 2003;278:9850-9855.
16. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796-1808.
17. White MF. The insulin signalling system and the IRS proteins. *Diabetologia* 1997;40(Suppl. 2):S2-S17.
18. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996;271:665-668.
19. Davis RJ. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell* 2000;103:239-252.
20. Aguirre V, Werner ED, Giraud J, Lee YH, Shoelson SE, White MF. Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. *J Biol Chem* 2002;277:1531-1537.
21. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgüm CZ, Uysal KT, Maeda K, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* 2002;420:333-336.
22. Paz K, Hemi R, LeRoith D, Karasik A, Elhanany E, Kanety H, et al. A molecular basis for insulin resistance. Elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 1997;272:29911-29918.
23. Kaneto H, Nakatani Y, Miyatsuka T, Kawamori D, Matsuoka TA, Matsuoka M, et al. Possible novel therapy for diabetes with cell-permeable JNK-inhibitory peptide. *Nat Med* 2004;10:1128-1132.
24. Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* 2002;277:50230-50236.
25. Brownlee M. Banting Lecture 2004. The Pathobiology of Diabetic Complications. A Unifying Mechanism. *Diabetes* 2005;54:1615-1625.
26. Hundal RS, Petersen KF, Mayerson AB, Randhawa PS, Inzucchi S, Shoelson SE. Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2002;109:1321-1326.
27. Perseghin, G, Petersen K, Shulman GI. Cellular mechanism of insulin resistance: potential links with inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27(Suppl 3):S6-S11.
28. Rui L, Yuan M, Frantz D, Shoelson S, White MF. SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *J Biol Chem* 2002;277:42394-42398.
29. Mooney RA, Senn J, Cameron S, Inamdar N, Boivin LM, Shang Y, et al. Suppressors of cytokine signaling-1 and -6 associate with and inhibit the insulin receptor. A potential mechanism for cytokine-mediated insulin resistance. *J Biol Chem* 2001;276:25889-25893.
30. Shimabukuro M, Koyama K, Lee Y, Unger RH. Role of nitric oxide in obesity-induced beta cell disease. *J Clin Invest* 1997;100:290-295.
31. Perreault M, Marette A. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle. *Nat Med* 2001;7:1138-1143.
32. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P. Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat Med* 2003;9:213-219.
33. Seo JB. Activated liver X receptors stimulate adipocyte differentiation through induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression. *Mol Cell Biol* 2004;24:3430-3444.
34. Lee C, Plutzky J. Liver X Receptor Activation and high-density lipoproteína biology. A reversal of fortune? *Circulation* 2006;113:5-8.
35. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPARgamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 1998;391:82-86.
36. Özcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Özdelen E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 2004;306:457-461.
37. Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, Yoshiuchi K, Hatazaki M, Matsuoka T, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *J Biol Chem* 2005;280:847-851.
38. Ozawa K, Miyazaki M, Natsuhisa M, Takano K, Nakatani Y, Hatazaki M, et al. The endoplasmic reticulum chaperone improves insulin resistance in type 2 diabetes. *Diabetes* 2005;54:657-663.
39. Lin Y, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, et al. The hyperglycemia-induced inflammatory response in adipocytes: the role of reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2005;280:4617-4626.
40. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 2005;307:384-387.

El incidentaloma hipofisario

Yoshua Esquenazi, Gerardo Guinto y Moisés Mercado*

Servicios de Endocrinología y Neurocirugía, Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 6 de junio de 2007

Aceptado: 8 de junio de 2007

RESUMEN

El rápido desarrollo y la gran precisión en las técnicas de imagen han fomentado el hallazgo incidental de lesiones asintomáticas de la hipófisis que imponen un reto de manejo tanto para el clínico como para el neurocirujano. Estas masas llamadas incidentalomas se encuentran en cerca de 10% de las resonancias magnéticas realizadas en individuos sanos. Hasta ahora no se conoce con exactitud la historia natural de estas lesiones. Algunas no se modifican con el tiempo, e incluso disminuyen espontáneamente de tamaño, mientras que otras tienen el riesgo de aumentar de volumen y producir síntomas por efectos de masa o hipersecreción hormonal. Esta revisión pretende dar a conocer el consenso actual en cuanto a las estrategias diagnósticas y terapéuticas en el paciente con incidentaloma hipofisario. Se hace énfasis en los factores, ya sea clínicos, bioquímico-hormonales o imagenológicos, que por sí mismos sugieren un alto riesgo de crecimiento tumoral.

Palabras clave:

Incidentaloma, hipófisis, resonancia magnética, adenoma

SUMMARY

The rapid development of highly accurate imaging techniques, has led to the discovery of asymptomatic lesions within the pituitary gland that constitute a significant challenge for clinicians and neurosurgeons. These lesions found incidentally are termed incidentalomas and can be observed in approximately 10% of MRI studies performed among healthy subjects. The natural course of these lesions has not been clearly defined. Although some of these masses do not change in size overtime and some may even shrink spontaneously, others have the potential risk to increase in volume and cause symptoms associated with mass effect or hormonal hypersecretion. This review describes the current therapeutic and diagnostic consensus in incidentaloma management, and places special emphasis on hormonal and imaging factors suggestive of high risk tumors.

Key words:

Incidentaloma, pituitary, magnetic resonance, adenoma

Introducción

El rápido avance en técnicas de imagen como la tomografía axial computarizada y la resonancia magnética han propiciado el hallazgo incidental de lesiones asintomáticas en diversos órganos,^{1,2} que implican un desafío desde el punto de vista del abordaje y tratamiento de los pacientes con este tipo de lesiones.^{3,4} Es así como surge el término *incidentaloma* para referirse a lesiones encontradas al realizar estudios rutinarios o con propósitos diferentes a la evaluación ex profeso de un órgano.^{5,6} Las glándulas endocrinas en especial las suprarrenales, la tiroides y la hipófisis son particular asiento de estas lesiones.^{1,2} Este artículo pretende revisar el abordaje del incidentaloma hipofisario haciendo énfasis en los aspectos de tratamiento y toma de decisiones.

Actualmente, el incidentaloma hipofisario representa un dilema para el clínico y para el neurocirujano en el que es necesario equilibrar aspectos de riesgo-beneficio y de costo-efectividad⁷ en cuanto al uso de métodos diagnósticos y terapéuticos. Por lo anterior, resulta imperioso conocer la historia natural de esta condición^{4,6,8} y desarrollar estrategias de manejo multidisciplinario.

Antecedentes

Alrededor de 10% de la población adulta sana presenta anomalías en estudios de resonancia magnética que son compatibles con el diagnóstico de adenomas hipofisarios asintomáticos. Hall y colaboradores⁹ estudiaron 100 voluntarios sanos de uno y otro sexo, entre 18 y 60 años de edad, con resonancia magnética de alta resolución de la glándula hipófisis antes y después de la administración de gadolinio. Encontraron que 10% de los pacientes presentaba áreas focales hipointensas después de la administración del contraste. Si bien la tomografía axial computarizada de alta resolución es menos sensible que la resonancia magnética, se ha informado hasta en 20% de incidencia de imágenes hipodensas mayores de 3 mm encontradas por este método en personas sanas.¹⁰

Se ha indicado que el hallazgo incidental de adenomas hipofisarios en material de autopsia tiene una prevalencia entre 1.5 y 27%.¹¹ Esta variabilidad se debe, en gran parte, a diversos factores como diferencias significativas en el número de autopsias realizadas entre estudios, distintos métodos para el procesamiento del tejido y análisis microscópico y

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Moisés Mercado. Aristóteles 68, Col. Polanco, 11560 México D.F., México. Tel. y fax: 5281 3085. Correo electrónico: mmercadoa@yahoo.com; moises.mercado@imss.gob.mx.

dificultad para discernir entre normalidad vs. anormalidad, al tratarse de lesiones tan pequeñas.¹¹ En forma anecdótica se han descrito adenomas gigantes de la hipófisis como hallazgo incidental durante la autopsia.¹² En este escenario, la ausencia de síntomas podría estar en relación con la laxitud que el quiasma óptico puede en ocasiones tener, lo que permite una elongación considerable por parte del tumor sin causar defectos campimétricos visuales o, bien, a la ausencia de percepción en el déficit bitemporal por el paciente.¹²

En un inicio, la mayoría de las series en material de autopsia registraba un predominio casi absoluto de microadenomas (tumores menores de 10 mm). Lo anterior se explica por el hecho de que a diferencia de los microadenomas, los macroadenomas (tumores mayores de 10 mm) tienen mayor probabilidad de dar manifestaciones clínicas y así ser detectados premortem, por lo que no se incluían en las series autopsicas. Al contrastar hallazgos autopsicos con estudios clínicos recientes,^{6,8,13,14} estos últimos evidencian un número creciente de macroincidentalomas, probablemente asociado a sesgos en el reclutamiento de los pacientes, que en general habían sido referidos específicamente al endocrinólogo o al neurocirujano,¹⁵ o a la posible sobreestimación que se hizo de microincidentalomas por la dificultad diagnóstica de lesiones tan pequeñas.¹¹

Evaluación radiológica

Durante los años 70 y la mayor parte de los 80 del siglo pasado, la tomografía axial computarizada se utilizó como el principal método radiológico para el estudio de la región selar y paraselar,^{10,16,17} hasta que fue desplazada por la resonancia

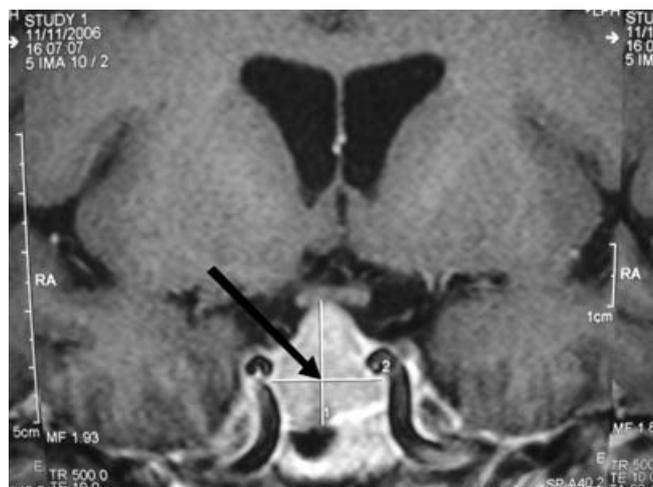


Figura 1. Resonancia magnética de la región selar, corte coronal, fase T1, posterior a la administración de contraste intravenoso. Macroincidentaloma de 17 × 20 mm (flecha negra), con extensión supraselar que toca el quiasma óptico sin compresión ni extensión a los senos cavernosos. Se observa hipointensidad característica que corresponde al adenoma hipofisario. El estudio fue realizado debido a cefalea migrañosa de difícil control.

magnética en la década de los noventa.¹⁸⁻²⁰ El protocolo estándar para el estudio de la hipófisis y la región paraselar consiste en imágenes sagitales y coronales T1, en forma simple y contrastada.²⁰ En imágenes normales T1 previas a la administración de contraste, la adenohipófisis es isointensa y la neurohipófisis, hiperintensa. Posterior a la administración de contraste hay reforzamiento homogéneo de ambos lóbulos.²¹ La presencia de un foco hipointenso antes de la administración de contraste es sugestiva de un adenoma hipofisario, y un área hipointensa focal en la glándula inmediatamente después de la administración del mismo constituye la presentación radiológica más común de un adenoma, aunque otras lesiones focales no adenomatosas de la glándula (por ejemplo, quistes de la bolsa de Rathke, meningiomas, craneofaringiomas) en ocasiones tienen una apariencia similar. Deben ser considerados otros datos como la pérdida de la convexidad superior de la glándula por abombamiento y la desviación del tallo, ya que sugieren indirectamente la presencia de un tumor hipofisario.⁹ Así mismo, es importante tener en cuenta que en 30% de los casos el adenoma puede ser hiperintenso,²¹ y que la hipófisis sufre cambios en su forma y tamaño durante las diferentes etapas de la vida.^{16,22,23} Ejemplos de lo anterior son el crecimiento de la adenohipófisis durante la pubertad y el embarazo, y la hiperplasia del tirotripo propia del hipotiroidismo primario. En todas estas situaciones, sin embargo, el crecimiento glandular es simétrico y el reforzamiento con el medio de contraste es homogéneo (Figuras 1 y 2).



Figura 2. Resonancia magnética de la región selar; corte coronal, fase T1, posterior a la administración de contraste intravenoso. Microincidentaloma de 7 × 9 mm (flecha negra) de localización intraselar izquierda, sin invasión a quiasma óptico o senos cavernosos. Se observa hipointensidad izquierda intraselar, característica que corresponde al adenoma hipofisario. Estudio realizado debido a vértigo.

Cuadro I. Historia natural del incidentaloma hipofisario bajo seguimiento conservador

Serie	N	Mac/Mic	Seguimiento	Crecimiento
Reincke ¹⁴	14	7/7	22 meses	(3) 2 macro-1 micro
Donovan ⁶	31	16/15	6 años	4 macro
Feldkamp ²⁴	50	19/31	2.7 años	(6) 5 macro-1 micro
Arita ⁸	42	37/5	5.1 años	(21) 19 macro-2 micro

Mac = Macroincidentalomas
Mic = Microincidentalomas

Historia natural del incidentaloma

Pocos son los estudios que han analizado prospectivamente la historia natural de estas lesiones. Dichos estudios han utilizado diferentes metodologías de imagen (tomografía axial computarizada, resonancia magnética con diferentes protocolos) y han seguido a los pacientes por periodos variables. Si bien la probabilidad de un microincidentaloma de aumentar de volumen con el tiempo es muy baja, más de la cuarta parte de los macroincidentalomas tienden a crecer al cabo de dos a siete años de seguimiento.^{6,14,24} Es importante hacer notar que en la mayoría de los casos estos crecimientos son asintomáticos. Llama la atención un estudio reciente⁸ en el que casi la mitad de los pacientes evaluados tenía evidencia de crecimiento tumoral al cabo de un promedio de cuatro años de seguimiento; este estudio en particular presenta un importante sesgo de selección, ya que sólo se siguieron imágenes sugestivas de adenomas clínicamente no funcionales, excluyendo aquellas con sospecha de quistes de la bolsa de Rathke, que raramente crecen y ocasionalmente disminuyen de tamaño (Cuadro I).

El estudio publicado más extenso que evalúa la historia natural de los incidentalomas hipofisarios es el de Sanno y colaboradores,^{4,25} quienes siguieron durante un periodo de casi tres años a 289 pacientes por medio de resonancia magnética. Este estudio incluyó tanto lesiones quísticas (quistes de la bolsa de Rathke y otros, n=163) como sólidas (adenomas clínicamente no funcionales, después de una evaluación hormonal completa, n=126). El hallazgo más relevante fue que más de 20% de las lesiones sólidas crecieron mientras que esto ocurrió en menos de 5% de las lesiones quísticas.

Evaluación endocrinológica y clínica

Aún es motivo de controversia cuál debe ser la evaluación hormonal idónea ante el hallazgo de un incidentaloma hipofisario. Al considerar costo-efectividad, King⁷ recomienda estudio hormonal limitado a prolactina sérica en los pacientes asintomáticos con un microincidentaloma. Investigaciones de tipo encuesta demuestran que al menos en Estados Unidos y en Inglaterra, los endocrinólogos no terminan por ponerse de acuerdo.^{26,27} Por un lado existen posiciones

como la de Molitch,^{3,28,29} quien propone una evaluación endocrinológica completa en todos los casos. Este autor argumenta que la inmensa mayoría de estas lesiones incidentales son adenomas hipofisarios y que muchos adenomas funcionantes son poco sintomáticos o totalmente silentes, probablemente porque son detectados en fases muy tempranas de su desarrollo^{21,30} (Cuadro II).

Además de investigar la posibilidad de que se trate de una lesión productora de hormonas, es fundamental establecer la integridad de los diversos sistemas hormonales hipofisarios, en especial en las lesiones grandes, pues pueden encontrarse situaciones como el hipocortisolismo o el hipotiroidismo secundarios, los cuales pueden tener consecuencias serias.

Diagnóstico y clasificación de los adenomas hipofisarios

Los adenomas hipofisarios se pueden clasificar por su tamaño en macro (mayores de 1 cm) o microadenomas (menores de 1 cm); y de acuerdo con sus características tioriales con hematoxilina y eosina, en acidófilos, basófilos y cromóforos; si producen un síndrome hormonal clínico conocido (acromegalia, Cushing), en clínicamente funcionantes o no funcionantes; y, finalmente, de acuerdo a las hormonas que sintetiza, información que se obtiene mediante inmunohistoquímica.³¹

Los tumores productores de prolactina y hormona del crecimiento son generalmente acidófilos. Los adenomas productores de hormona adrenocorticotrópica causan enfermedad de Cushing y son característicamente basófilos en tinciones de hematoxilina y eosina. Los tumores productores de hormona estimulante de la tiroides traen como consecuencia hipertiroidismo secundario con bocio y son de tipo cromóforo. Los adenomas hipofisarios clínicamente no funcionantes son por lo general tumores que sintetizan subunidades de gonadotropinas (hormona luteinizante u hormona foliculo estimulante) ya sea de la subunidad alfa o de la beta, que carecen de actividad biológica, de manera que en realidad se trata de gonadotropinomas. Los verdaderos tumores no funcionantes son los oncocitomas hipofisarios o tumores de células "nulas", los cuales no tienen para ninguna de las hormonas conocidas por inmunohistoquímica.

Cuadro II. Lesiones que se presentan en la silla turca y región paraselar

Adenomas de hipófisis	PRL, GH, ACTH, TSH, gonadotropinomas. No secretores
Tumores de células primitivas germinales	Germinoma, dermoide, teratoma, disgerminoma, meningioma, encondroma, hamartoma, hipotalámico, gangliocitoma, craneofaringioma, quiste de Rathke, colesteatoma.
Tumores de células remanentes	Cordoma, lipoma, quiste coloideo, quiasma óptico, oligodendroglioma,ependimoma, Infundibuloma, astrocitoma, microglioma.
Gliomas Tumores metastásicos Aneurismas vasculares	
Granulomatosas, infecciosas e inflamatorias	Abscesos bacterianos y micóticos, tuberculosis, sarcoidosis, granuloma de células gigantes, hipofisistis linfocítica.
Misceláneas	Quistes aracnoideos, aracnoidocele, histiocitosis X, mucocele esfenoidal, quiste equinococo

PRL=prolactina, GH=hormona de crecimiento, ACTH=hormona adrenocorticotrópica, TSH=hormona estimulante de la tiroides. Modificado de Molitch³³

Abordaje clínico y evaluación hormonal

Desde el punto de vista clínico se deben considerar los distintos síndromes de hipersecreción hormonal hipofisaria así como los datos de hipopituitarismo.

Prolactinoma

Es el tumor secretor más común de la hipófisis²¹ y corresponde a 40% de todos los tumores de esta glándula. Las manifestaciones clínicas son la galactorrea, la oligomenorrea/ amenorrea, la anovulación e infertilidad en la mujer y la disminución de la libido y la disfunción eréctil en hombres.³²⁻³⁴ La hiperprolactinemia es el marcador bioquímico del prolactinoma, sin embargo, no toda elevación de la prolactina implica la presencia de un tumor productor de esta hormona.³⁵ Muchas condiciones fisiológicas como el embarazo y el coito mismo elevan la prolactina. De igual forma, muchos medicamentos con efecto antagonista dopaminérgico pueden elevar la prolactina, como la metoclopramida, los antidepresivos tricíclicos y otros.³⁶ Condiciones como el hipotiroidismo primario también elevan la prolactina. Por lo tanto, al identificar un incidentaloma asociado a concentraciones elevadas de prolactina es indispensable descartar causas secundarias de esta alteración hormonal, antes de adjudicarla al propio tumor.³⁷ No obstante lo anterior, ninguna de las condiciones mencionadas eleva la prolactina a más de 150 o 200 ng/ml, de manera que la hiperprolactinemia de esta magnitud es casi indicativa de la presencia de un prolactinoma. Una determinación elevada de prolactina deberá repetirse por lo menos en dos ocasiones más.³⁵

Particularmente en los incidentalomas,³⁸ resulta imperativo cerciorarse que la elevación de la prolactina sea real y que corresponde a prolactina monomérica, biológicamente activa. Lo anterior es importante pues en casi 10% de los casos, la hiperprolactinemia se debe a la formación de complejos entre

la prolactina de 23 Kd y moléculas de IgG, situación conocida como macroprolactinemia,³⁹ en alusión a su elevado peso molecular. La macroprolactina tiene una reducida actividad biológica pero resulta en falsas mediciones elevadas de prolactina sérica, dado que la IgG interfiere con la técnica inmunométrica utilizada para determinar las concentraciones de prolactina. Cuando se sospecha macroprolactinemia, el suero del paciente tiene que ser tratado con polietilenglicol con el objeto de precipitar y separar los complejos IgG-prolactina, antes de la aplicación del método analítico de prolactina.⁴⁰

Somatotropinoma

Los adenomas productores de hormona de crecimiento constituyen 20% de todos los tumores hipofisarios ⁴¹ y producen acromegalia.

La evaluación clínica deberá enfocarse a la búsqueda de signos y síntomas sugestivos de esta enfermedad, como el crecimiento acral, cefalea, hiperhidrosis, acrocordones, artralgias, disestesias, alteraciones menstruales en la mujer, impotencia en el hombre, disminución de la libido, apnea del sueño, bocio y alteraciones en los campos visuales.⁴² Cerca de 30% de los pacientes con acromegalia son portadores de hipertensión arterial y diabetes, y se sabe que estas personas tienen una importante disminución en su esperanza de vida y una elevada mortalidad, generalmente por causas cardiovasculares.^{43,44} En cuanto al diagnóstico bioquímico, si el nivel de hormona de crecimiento en una muestra de sangre aleatoria es menor de 0.4 µg/l y la IGF1 se encuentra dentro del rango normal para edad y sexo, se puede excluir la enfermedad.⁴⁵ Si ninguno de estos dos parámetros se cumple, se deberá realizar una supresión de hormona de crecimiento con carga oral de glucosa de 75 g; si la hormona de crecimiento no se suprime a menos de 1 µg/l por RIA o a menos de 0.3 µg/l por inmunoensayo ultrasensible, el diagnóstico de acromegalia queda confirmado.⁴²

Corticotropinoma

El resultado clínico es la enfermedad de Cushing o hipercortisolismo de causa hipofisaria. El diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing constituye uno de los retos más grandes en la endocrinología. Si bien las manifestaciones clínicas son obvias en numerosos casos, en otros pueden ser muy sutiles. El incremento de peso con redistribución central de la grasa que afecta cara, cuello, tronco y abdomen es uno de los hallazgos clínicos más comunes.⁴⁶ Otros datos clínicos importantes son la presencia de plétora facial, hirsutismo, acné, trastornos menstruales, hipertensión, debilidad muscular proximal, estrías, intolerancia a hidratos de carbono o diabetes.³³

Dos pruebas bioquímicas han sido muy útiles como pruebas de escrutinio para la enfermedad de Cushing. Se recomienda realizar como prueba inicial el cortisol libre en orina de 24 horas y hacer la medición en dos a cuatro recolecciones de orina, ya que algunos pacientes con Cushing leve⁴⁷ y probablemente pacientes estudiados por incidentaloma de hipófisis pueden tener una o más mediciones normales. Las concentraciones normales de cortisol libre urinario varían, pero en general deberán ser menores a 100 µg en 24 horas. La otra prueba de escrutinio de uso común es la supresión con dosis baja de dexametasona. Ésta consiste en la administración de 1 mg de dexametasona a las 23:00 horas, seguida de la medición de cortisol sérico a las 8:00 o 9:00 horas de la mañana siguiente. Un nivel de cortisol menor de 1.8 µg/dl descarta la presencia de hipercortisolismo. Recientemente se ha utilizado el cortisol en saliva como prueba de escrutinio; al parecer esta prueba tiene alta sensibilidad y especificidad.⁴⁶

Una vez establecido que el paciente cursa con hipercortisolismo, se procede a definir el origen del mismo. Un nivel suprimido de hormona adrenocorticotrópica indica que el hipercortisolismo es de origen suprarrenal. El síndrome de Cushing dependiente de hormona adrenocorticotrópica puede ser eutópico (hipofisario o enfermedad de Cushing) o ectópico (secundario a tumores neuroendocrinos, como carcinoides bronquiales o tímicos).⁴⁸ La mayoría de los pacientes con enfermedad de Cushing mantiene cierto nivel de control por retroalimentación, de manera que la administración de dosis altas de dexametasona (existen varios protocolos) produce supresión significativa en los niveles de cortisol sérico.⁴⁹

Tirotropinomas

Los adenomas secretores de hormona estimulante de la tiroides son los tumores hipofisarios funcionantes más raros y representan 1 a 2.8%.^{31,33} Estos tumores causan hipertiroidismo clínico y bioquímico²⁹ y son parte del llamado "síndrome de secreción inapropiada de hormona estimulante de la tiroides", ya que se encuentra elevación de las concentraciones circulantes de hormonas tiroideas en presencia de concentraciones normales o elevadas de hormona estimulante de la tiroides. Muchos de estos pacientes son tratados por hipertiroidismo autoinmune primario durante varios años antes de que se diagnostique el adenoma hipofisario.⁴¹

Gonadotropinomas

Los avances en inmunohistoquímica, microscopía electrónica y técnicas moleculares, han demostrado que 80 a 90% de los tumores hipofisarios no funcionantes presentan células con características de diferenciación gonadotrópica y producen cantidades reducidas de hormona folículo estimulante, hormona luteinizante y de sus subunidades. Estos adenomas representan casi una tercera parte de todos los tumores de la hipófisis.^{50,51} Debido a la ausencia de un síndrome de hipersecreción hormonal, los pacientes permanecen asintomáticos hasta que el tumor ocasiona manifestaciones por efecto de masa o son detectados incidentalmente. Las concentraciones basales de hormona folículo estimulante, hormona luteinizante y subunidad α , pueden ayudar al diagnóstico del gonadotropinoma. Cualquier elevación de estas hormonas acompañada de masa intraselar en hombres es altamente sugestiva de esta entidad.

Terapéutica y seguimiento

Para los tumores funcionantes se deberá intervenir y realizar el tratamiento de elección para cada caso en particular,^{28,52,53} ya sea quirúrgico, farmacológico o radioterapéutico. Los microadenomas clínicamente no funcionantes se pueden vigilar con resonancia magnética sin intervención quirúrgica, a menos de que se presente incremento en el tamaño tumoral, aparición de sintomatología compresiva, alteraciones en la función hipofisaria normal o complicaciones como la apoplejía.⁸

Ante la ausencia de un síndrome de hipersecreción hormonal entran en consideración aspectos relacionados con el tamaño tumoral.²⁸ De acuerdo a su historia natural, la probabilidad de crecimiento tumoral en las lesiones menores de 10 mm es baja. Es por eso que la intervención quirúrgica no está indicada como primera medida.⁶ El seguimiento consiste en la repetición anual de los estudios de imagen (resonancia magnética) por dos años y posteriormente cada dos o tres años.

Las lesiones mayores de 10 mm tienen mayor probabilidad de aumentar de tamaño,^{6,14} por lo tanto será indispensable la realización de una evaluación minuciosa de los efectos de masa, incluyendo función hipofisaria y valoración de campos visuales.

Algunos autores justifican la conducta conservadora^{5,11} para macroadenomas asintomáticos, ya que no se sabe cuándo y bajo qué circunstancias ocurren las fases de crecimiento de estos tumores. Anecdóticamente se han informado adenomas gigantes asintomáticos como hallazgos de autopsia, lo que podría indicar que el tamaño de estas lesiones *per se* no implica la absoluta necesidad del tratamiento quirúrgico.¹² Por otra parte, debido al gran potencial de crecimiento de los macroadenomas y el riesgo de apoplejía hipofisaria, principalmente en adultos jóvenes (hasta 9.5% para adenomas no funcionales), la intervención quirúrgica temprana está bien indicada.⁸ Si consideramos que en manos expertas la cirugía transesfenoidal tiene buenos

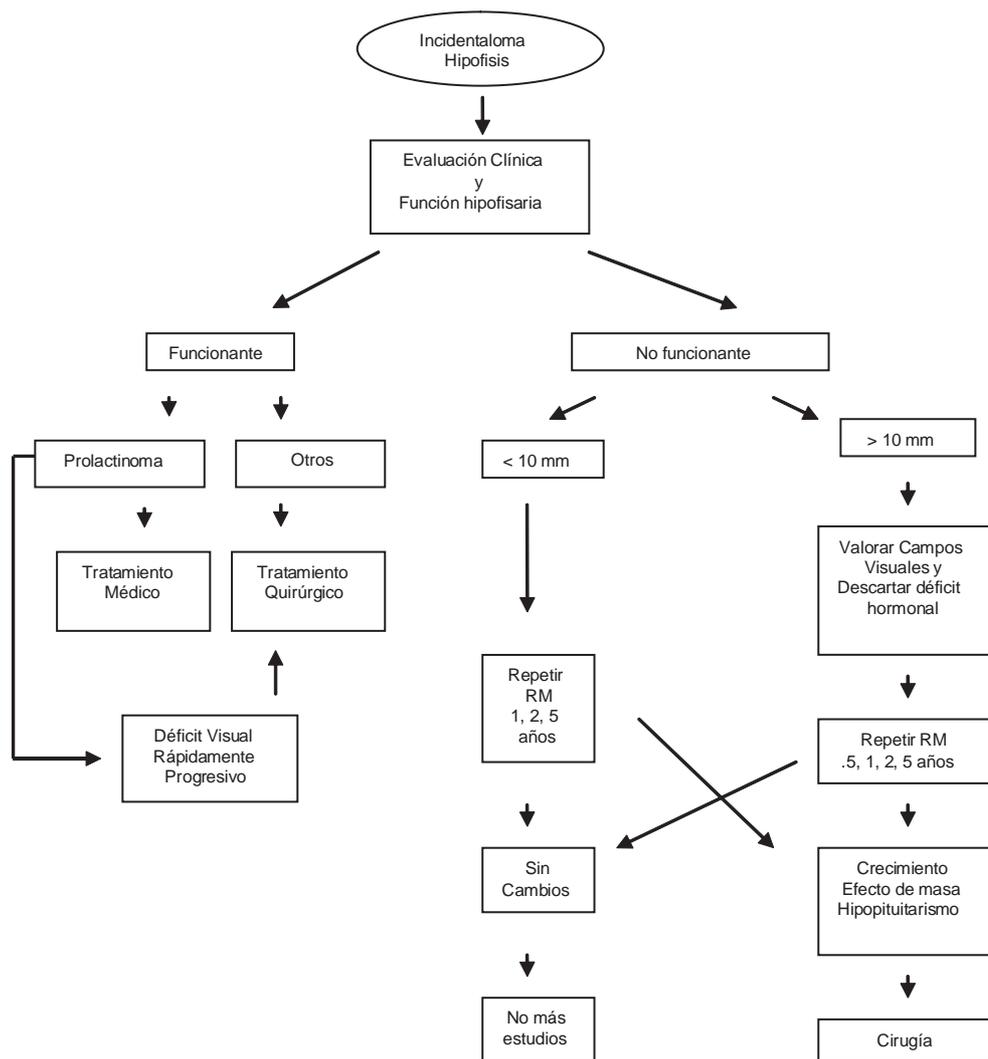


Figura 3. Diagrama de flujo propuesto para el manejo del incidentaloma hipofisario.

resultados,⁵⁴ ésta podría evitar o reducir el riesgo de esta desafortunada complicación y sus consecuencias.⁵⁵ De elegir manejo conservador para macroadenomas, se deberá repetir la resonancia magnética a los seis y 12 meses, posteriormente una vez al año, y si no se observa evidencia de crecimiento se podrá incrementar el intervalo de tiempo. En pacientes con crecimiento tumoral, alteraciones visuales, desplazamiento del quiasma óptico, hipopituitarismo o exceso hormonal, la intervención quirúrgica inmediata es el tratamiento de elección^{14,56} (Figura 3).

Referencias

1. Copeland PM The incidentally discovered adrenal mass. *Ann Intern Med* 1983;98:940-945.
2. Mirilas P, Skandalakis JE. Benign anatomical mistakes: Incidentaloma. *Am Surg* 2002;68:1026-8.
3. Molitch ME, Russell EJ. The pituitary incidentaloma. *Ann Intern Med* 1990;112:925-931.
4. Sanno N, Oyama K, Tahara S, Teramoto A, Kato Y. A survey of pituitary incidentalomas in Japan. *Eur J Endocrinol* 2003;149:123-127
5. Nishizawa S, Ohta S, Yokohama T, Uemura K. Therapeutic strategy for incidentally found pituitary tumors (pituitary incidentalomas). *Neurosurgery* 1998;43:1344-1350.
6. Donovan LE, Corenblum B. The natural history of the pituitary incidentaloma. *Arch Intern Med* 1995;155:181-183.
7. King JT, Justice AC, Aron DC. Management of incidental pituitary microadenomas: A cost-effectiveness analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3625-3632.
8. Arita K, Tominaga A, Sugiyama K, Eguchi K, Iida K, Sumida M, et al. Natural course of incidentally found nonfunctioning pituitary adenoma, with special reference to pituitary apoplexy during follow-up examination. *J Neurosurg* 2006;104:884-891.
9. Hall WA, Luciano MG, Doppman JL, Patronas NJ, Oldfield EH. Pituitary magnetic resonance imaging in normal volunteers: Occult adenomas in the general population. *Ann Intern Med* 1994;120:817-820.
10. Chambers EF, Tursky PA, LeMasters D, Newton TH. Regions of low density in the contrast-enhanced pituitary gland: Normal and pathologic processes. *Radiology* 1982;144:109-113.
11. Teramoto A, Hirakawa K, Sanno N, Osamura Y. Incidental pituitary lesions in 1000 unselected autopsy specimens. *Radiology* 1994;193:161-164.
12. Auer RN, Alakija P, Sutherland GR. Asymptomatic large pituitary adenomas discovered at autopsy. *Surg Neurol* 1996;46:28-31.
13. Feinstein Day P, Guitelman M, Artese R, Fiszledjer L, Chervin A, Vitale NM, et al. Retrospective multicentric study of pituitary incidentalomas. *Pituitary* 2004;7:145-148.

14. **Reincke M, Allolio B, Saeger W, Menzel J, Winkelmann W.** The incidentaloma of the pituitary gland. Is Neurosurgery required? *JAMA* 1990;263:2772-2776.
15. **Chanson P, Young J.** Pituitary incidentalomas. *Endocrinologist* 2003;13:124-135.
16. **Elster AD.** Modern imaging of the pituitary. *Radiology* 1993;187:1-14
17. **Brown SB, Irwin KM, Enzmann DR.** CT characteristics of the normal pituitary gland. *Neuroradiology* 1983;24:259-262.
18. **Sheppard MC, Stewart PM.** Imaging the pituitary. En: *Pituitary Disease*. Norwell Massachusetts, EUA: Kluwer Academic; 2002. pp. 207-215.
19. **Bilaniuk LT, Zimmerman RA, Wehrli FW, Snyder PJ, Goldberg HI, Grossman RI, et al.** Magnetic resonance imaging of pituitary lesions using 1.0 to 1.5 T field strength. *Radiology* 1984;153:415-418.
20. **Zee CS, Go JL, Kim PE, Mitchell D, Ahmadi J.** Imaging of the pituitary and parasellar region; *Neurosurg Clin N Am* 2003;14:55-80.
21. **Sam S, Molitch ME.** The pituitary mass: Diagnosis and management. *Rev in Endocr Metab Disord* 2005;6:55-62.
22. **Chanson P, Daujat F, Young J, Bellucci A, Kujas M, Doyon D, et al.** Normal pituitary hypertrophy as a frequent cause of pituitary incidentaloma: A follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3009-3015.
23. **Foyouzi N, Frisbaek Y, Norwitz ER.** Pituitary gland and pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2004;31:873-892.
24. **Feldkamp J, Santen R, Harms E, Aulich A, Moddeer U, Scherbaum WA.** Incidentally discovered pituitary lesions: high frequency of macroadenomas and hormone-secreting adenomas-results of a prospective study. *Clinical Endocrinol* 1999;51:109-113.
25. **Oyama K, Sanno N, Tahara S, Teramoto A.** Management of pituitary incidentalomas: according to a survey of pituitary incidentalomas in Japan. *Semin Ultrasound CT MR* 2005;26:47-50.
26. **Howlett TA, Como J, Aron DC.** Management of pituitary incidentalomas. A survey of British and American endocrinologists. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000;29:223-230.
27. **Aron DC.** Hormonal screening in the patient with an incidentally discovered pituitary mass: Current practice and factors in clinical decision making. *Endocrinologist* 1995;5:357-363.
28. **Molitch ME.** Clinical Review 65. Evaluation and treatment of the patient with a pituitary incidentaloma. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3-6.
29. **Molitch ME.** Diagnostic evaluation update. Pituitary incidentalomas. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997;26:725-740.
30. **von Werder K.** Pituitary enlargement. *Clin Endocrinol* 1996;44:299-303.
31. **Arafah BM, Nasrallah MP.** Pituitary tumors: pathophysiology, clinical manifestations and management. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:287-305.
32. **Levy A.** Pituitary disease: presentation, diagnosis, and management. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:47-52.
33. **Aron DC, Tyrrell JB, Wilson CB.** Pituitary Tumors. Current concepts in diagnosis and management. *West J Med* 1995; 162:340-352.
34. **Schlechte JA.** Clinical practice. Prolactinoma. *New Engl J Med* 2003;349:2035-2041.
35. **Casanueva FF, Molitch ME, Schlechte JA, Abs R, Bonert V, Bronstein MD, et al.** Guidelines of the pituitary society for the diagnosis and management of prolactinomas. *Clin Endocrinol* 2006;65:265-273.
36. **Pickett CA.** Diagnosis and management of pituitary tumors: recent advances. *Prim Care* 2003;30:765-789.
37. **Dombrowski RC, Romeo JH, Aron DC.** Verapamil-induced hyperprolactinemia complicated by a pituitary incidentaloma. *Ann Pharmacother* 1995;29:999-1001.
38. **Glezer A, D'Alva CB, Salgado LR, Musolino NR, Serafini P, Vieira JG.** Pitfalls in pituitary diagnosis: peculiarities of three cases. *Clin Endocrinol* 2002;57:135-139.
39. **Gibney J, Smith TP, McKenna TJ.** Clinical relevance of macroprolactin. *Clin Endocrinol* 2005;62:633-643.
40. **Gezer A, Atasu T, Hekim C, Stenman UH, Hekim N.** Hyperprolactinaemia does not always mean "hyperprolactinaemia"? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;118:206-208.
41. **Simard MF.** Pituitary tumor endocrinopathies and their endocrine evaluation. *Neurosurg Clin N Am* 2003;14:41-54.
42. **Mercado M.** Consenso Nacional de Acromegalia. Guía para su diagnóstico, tratamiento y seguimiento. *Rev Endocrinol Nutr* 2004;S2,S63-S72.
43. **Holdaway IM, Rajasoorya RC, Gamble GD.** Factors influencing mortality in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:667-674.
44. **Colao A, Ferone D, Marzullo P, Lombardi G.** Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. *Endocr Rev* 2004;25:102-152.
45. **Giustina A, Barkan A, Casanueva FF, Cavagnini F, Frohman L, Ho K, et al.** Criteria for cure of acromegaly: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:526-529.
46. **Findling JW, Raff H.** Screening and diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:385-402.
47. **Espinosa-de-los-Monteros AL.** Pruebas bioquímicas en neuroendocrinología. *Rev Endocrinol Nutr* 2005;S1:S7-S12.
48. **Hernández I, Espinosa-de-los-Monteros AL, Mendoza V, Cheng S, Molina M, Sosa E, et al.** Ectopic ACTH-secreting syndrome: a single center experience report with a high prevalence of occult tumor. *Arch Med Res* 2006;37:976-980.
49. **Lindsay JR, Nieman LK.** Differential diagnosis and imaging in Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:403-421.
50. **Chaidarun SS, Klibanski A.** Gonadotropinomas. *Semin Reprod Med* 2002;20:339-348.
51. **Greenman Y, Melmed S.** Diagnosis and management of nonfunctioning pituitary tumors. *Annu Rev Med* 1996;47:95-106.
52. **Vance ML.** Treatment of patients with a pituitary adenoma: one clinician's experience. *Neurosurg Focus* 2004;16:E1.
53. **Melmed S, Casanueva F, Cavagnini F, Chanson P, Frohman LA, Gaillard R, et al.** Consensus statement: medical management of acromegaly. *Eur J Endocrinol* 2005;153:737-740.
54. **Mortini P, Losa M, Barzaghi R, Boari N, Giovanelli M.** Results of transphenoidal surgery in a large series of patients with pituitary adenoma. *Neurosurgery* 2005;56:1222-1233.
55. **Elsässer Imboden PN, De Tribolet N, Lobrinus A, Gaillard RC, Portmann L, Pralong F, Gomez F.** Apoplexy in pituitary macroadenoma. *Medicine* 2005;84:188-196.
56. **Gnanalingham KK, Bhattacharjee S, Pennington R, Ng J, Mendoza N.** The time course of visual field recovery following transphenoidal surgery for pituitary adenomas: predictive factors for a good outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:415-419.

Interferón: 50 años después (1957-2007)

Dolores Ramos-Bello^a y Francisco Ramos-Niembro^{b*}

^aFacultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, NL, México

^bInstituto de Investigaciones Médico-Biológicas, Universidad Veracruzana, Veracruz, Ver., México

Recibido en su versión modificada: 27 de septiembre de 2007

Aceptado: 28 de septiembre de 2007

RESUMEN

Identificados inicialmente como un mecanismo de defensa contra las infecciones virales, en el transcurso de los últimos 50 años se ha definido que los interferones forman parte de la extensa familia de las citocinas, sustancias indispensables para el funcionamiento del sistema inmunológico. Debido a sus diversas funciones pleiotrópicas, los interferones fueron las primeras citocinas empleadas para el manejo de una amplia gama de padecimientos, propiedades que progresivamente los han colocado como medicamentos de primera elección para el tratamiento de la infección crónica por el virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, esclerosis múltiple, algunas leucemias, melanoma, etc. No obstante, la administración de dosis suprafisiológicas de interferones con fines terapéuticos, independientemente de su indicación primaria, se han asociado con toxicidad importante, incluyendo la inducción de autoinmunidad y más de 30 enfermedades autoinmunes diferentes.

Palabras clave:

Interferón, citocinas, función pleiotrópica

SUMMARY

Initially identified as a defense mechanism against viral infections, in the last 50 years interferons have been defined a group of substances belonging to the cytokine family indispensable for the normal functioning of the immune system. Derived from their pleiotropic functions interferons were the first biological products used to treat several diseases. Their properties have progressively placed them as the first treatment choice for chronic infection with hepatitis B virus, hepatitis C virus, multiple sclerosis, some forms of leukemia, melanoma, etc. It has been noted however that the administration of supra physiological doses of interferons with therapeutic objectives, independently of its primary indication, has been associated with significant toxicity, including autoimmunity and induction of more than thirty different autoimmune diseases.

Key words:

Interferon, cytokines, pleiotropic function

Introducción

Sospechada y sugerida inicialmente por Magrasi y Hoskins en 1935,¹ la elaboración de sustancias con actividad antiviral posterior a la invasión del huésped por dichos agentes fue reportada y documentada por primera vez hace cinco décadas por Alick Isaacs, Jean Lindenmann y Robin Valentine,^{2,3} autores que en 1957 publicaron en la edición del 12 de septiembre del *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Science*, dos trabajos seminales sobre lo que en su momento denominaron *virus interference*, proceso mediado por una sustancia denominada interferón por sus propios descubridores.

En el primero de ellos, Isaacs y Lindenmann² identificaron desde las primeras tres horas de incubación del virus de influenza A de Melbourne inactivado por calor en células de membrana coriónica, la producción de un factor que confería a otras células resistencia para ser infectadas por dicho virus. En el segundo trabajo publicado simultáneamente por Isaacs, Lindenmann y Valentine,³ se definió que dicho factor,

el interferón, era una sustancia muy pequeña, producida por las células retadas con el virus de influenza A, estable al menos por dos semanas a 2 °C, termosensible a 56 °C durante una hora, no inactivado por los anticuerpos séricos, y con capacidad de interferir en ensayos semejantes la replicación de al menos otros cuatro virus: mixovirus, virus Sendai, virus Newcastle y virus de viruela, induciendo un estado antiviral dentro de la célula del huésped, es decir, la convierte en una unidad inhóspita para la replicación viral.

A partir de entonces, progresivamente se ha definido que el interferón (IFN) representa en realidad una familia numerosa de productos, es decir, los interferones, polipéptidos producidos por diversas células y con funciones pleiotrópicas, entre las que destacan por su importancia, además de su potente propiedad antiviral, sus funciones inmunorreguladoras sobre las células encargadas de la respuesta inmune, su capacidad antiproliferativa *in vivo* y su potencial antiinflamatorio, propiedades que se han explorado y explotado con fines terapéuticos con gran éxito en las últimas tres décadas.⁴⁻¹⁰

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Francisco Ramos-Niembro. Instituto de Investigaciones Médico-Biológicas, Universidad Veracruzana, Agustín de Iturbide s/n, entre Carmen Serdán y 20 de Noviembre, Col. Centro, 91700 Veracruz, Veracruz, México. Tel.: (229) 931 8011. Fax (229) 932 2292. Correo electrónico: ramos_niembro@hotmail.com; ramos_niembro@yahoo.com.mx.

Al cumplirse en el año 2007 cincuenta años del descubrimiento de este producto biológico decidimos no dejar pasar de largo el momento histórico, mediante la realización de una revisión *à vol d'oïseau* sobre algunos de los enormes conocimientos alcanzados sobre el interferón, producto hoy en día con una literatura sumamente extensa y prácticamente imposible de resumir, no en un artículo, sino en varios libros, afirmación que es sustentada en las 106 270 citas bibliográficas capturadas en la base de datos de PubMed al día 12 de septiembre de 2007, utilizando en la búsqueda de manera aislada la palabra interferón, literatura no superada por ninguna otra citocina, y de la cual hemos seleccionado algunos hechos relevantes que se mencionan en el Cuadro I, mismos que representan el marco de esta breve revisión.^{2,3,11-41}

Los interferones

Los interferones forman parte de la familia de las citocinas (*cito*=célula, *kine*=cinético) o interleucinas (interleucinas=proteínas de comunicación entre los leucocitos), las cuales son un grupo numeroso (aproximadamente 70 a 100) y heterogéneo

de glicoproteínas (dímeros o heterodímeros), usualmente de 5 a 50 kDa, conformadas en promedio por aproximadamente 150 aminoácidos, muy activas a concentraciones bajas, y relacionadas íntimamente con el envío de señales indispensables en el proceso de comunicación intercelular de diversas células, particularmente las encargadas de la respuesta inmune.⁴² Clasificadas de diversa manera, algunas de ellas, como precisamente sucede con el interferón, se ha decidido conservar su denominación original, todo encaminado a no causar mayor confusión en un terreno de actualización permanente y de rica historia, con promedio de 5.8 artículos publicados diariamente desde su descripción, cifra derivada de dividir entre el tiempo transcurrido las citas bibliográficas capturadas en la base de datos PubMed en los últimos 50 años.

Si bien durante mucho tiempo se empleó (y de hecho algunos autores la siguen empleando) la nomenclatura propuesta en 1980, cuando el interferón se clasificó en tres grandes grupos: IFN α , IFN β e IFN γ ,²⁴ más adelante la clasificación se ha basado en las secuencias génicas, sistema en el que el interferón leucocitario se denomina IFN α e IFN ω , el producido por fibroblastos se denomina IFN β , y el interferón inmune es el IFN γ .⁴³

Cuadro I. Hallazgos históricos relacionados con el interferón (IFN), 1957-2007^{2,3,11-41}

Año	Hallazgo	Autores	Referencia
1957	Identificación del interferón	Alick Isaacs, Jean Lindenmann Robin Valentine	2,3
1964	Inducción de IFN por bacterias y endotoxinas	Monto Ho	11
1965	Identificación del IFN tipo II (IFN γ) y su inducción por fitohemaglutinina	E. Frederick Wheelock	12
1967	Inducción de IFN por ARN de doble cadena	A. Kirk Field, et al.	13
1968	IFN inhibe en animales el crecimiento tumoral	Ion Gresser, et al.	14,15
1975	Identificación de dos subtipos diferentes de IFN: IFN α e IFN β	Edward A. Havell, et al.	16
1976	Utilidad del IFN en la hepatitis B	Harry B. Greenberg, et al.	17
1978	IFN intralesional en melanoma	Julius S. Horoszewicz, et al	18
1980	Aislamiento y secuenciación del IFN β cADN	T. Taniguchi, et al.	19
	Aislamiento y secuenciación del IFN α cADN	S. Nagaata, et al.	20
	Purificación y secuenciación parcial del IFN α e IFN β	Ernest Knigh, et al.	21
	Nomenclatura actual del IFN	Kathryn C. Zoon, et al.	22
		Varios	23
1981	IFN intratecal en la esclerosis múltiple	Lawrence Jacobs, et al.	24
1982	Aislamiento y secuenciación del ADN del IFN γ humano	Patrick W. Gray y David V. Goeddel	25
1983	Utilidad del IFN en sarcoma de Kaposi	Susan E Krown, et al.	26
1984	Utilidad del IFN en leucemia de células peludas	Jorge Quesada, et al.	27
1985	Desarrollo de autoinmunidad y enfermedades autoinmunes posterior al empleo de IFN	Varios	28-30
1987-1988	Aislamiento, identificación y clonación del receptor del IFN γ	Varios	31-34
1988	IFN en la enfermedad granulomatosa crónica	R. Alan B. Ezekowitz, et al. Joan M.G. Sechler, et al.	35 36
1989	Utilidad del IFN en la hepatitis C crónica	Gary L. Davis, et al. Adrian M. Di Bisceglie, et al.	37 38
1992	Utilidad del IFN en osteopetrosis	L. Lyndon Key, et al.	39
1992	Identificación de JAK-STAT como la principal vía de activación de genes por el IFN	Laura Velásquez, et al.	40
2001	Los TLR3 reconocen ARN de doble cadena e inducen la producción de IFN tipo I	Lena Alexopoulou, et al.	41

Identificados originalmente en el contexto de la respuesta inmune innata a infecciones virales, es decir, estimulación mediada por agentes exógenos, más adelante se ha definido que la producción de algunos interferones forma parte de la respuesta inmune adaptativa del huésped. Así, su producción también puede desencadenarse posterior al contacto con bacterias, hongos, protozoarios y diversas sustancias, incluyendo la estimulación por otras citocinas, entre ellas el factor estimulador de colonias (CSF1=*colony-stimulating factor-1*), interleucina-1 (IL1), IL2, factor de necrosis tumoral alfa (FNT α), etcétera,^{4,44} e incluso, a través de estímulos endógenos.⁴⁵

Por cierto, las observaciones iniciales de Field y colaboradores,¹³ publicadas en 1967, en el sentido de que los ácidos nucleicos, polinucleóticos (poli I:C), y específicamente el ARN de doble cadena son estímulos potentes para la producción de interferón, en años más recientes han cobrado particular interés derivado de los hallazgos de Alexopoulos y colaboradores,⁴¹ quienes han informado que los TLR3 (receptores tipo *Toll* o TLR=*Toll like receptors*), moléculas que reconocen agentes patógenos a través del mecanismo denominado *patrones moleculares de reconocimiento de patógenos* o PAMP (*pathogen-associated molecular patterns*), inducen la activación del NF-kappaB (NF- κ B=*nuclear factor-kappa B*) y la producción de IFN α posterior al reconocimiento de ARN de doble cadena por dichas estructuras.

El IFN α y el IFN β comparten diversas características estructurales y funcionales: afinidad por el mismo receptor y capacidad de inducir mayor actividad antiviral que el IFN γ , y por tanto, a menudo son referidos como interferón tipo I o antivirales. En contrapartida, el IFN γ , interferón tipo II o interferón inmune, se caracteriza por tener mayor capacidad inmunorreguladora.⁶ Por cierto, cabe destacar que el tipo de interferón producido depende tanto de la naturaleza de la célula como del estímulo disparador.⁴ Así, los interferones de tipo I son producidos por casi todas las células después de la exposición a virus ARN de doble cadena, polipéptidos y algunas citocinas, en tanto que el interferón tipo II es producido fundamentalmente por linfocitos T y células asesinas naturales o NK (*natural killer*) posterior a numerosos estímulos inmunológicos, antígenos de células T, etcétera, por mencionar los más relevantes. Como se menciona más adelante, las actividades de los interferones, principalmente de los IFN α y β se sobreponen entre sí, lo que no significa que la deficiencia de uno pueda ser compensada eventualmente *ad integrum* por el otro, es decir, la pérdida de la producción de IFN β no puede ser compensada por los diferentes subtipos de IFN α , situación que predispone al organismo a ser altamente susceptible a infecciones virales.⁴⁶ Purificados por primera vez en 1978 mediante diversas técnicas y producidos en la actualidad a gran escala mediante la tecnología de ingeniería genética,⁴⁷ los interferones han sido el detonante de la terapia biológica en el tratamiento de múltiples enfermedades.

Principales mecanismos de acción

Todos los interferones poseen actividad especie-específicos, de tal suerte que muy a pesar de su gran homología entre las

diferentes especies, los mismos no pueden ser utilizados a través de ellas. Como se ha mencionado, además de su actividad antiviral intrínseca identificada desde los primeros trabajos, todos los interferones tienen numerosas funciones inmunorreguladoras, antiproliferativas y antiinflamatorias que se sobreponen entre los mismos y a los de otras citocinas.

Actividad antiviral

La potente actividad antiviral del interferón no es una característica constitutiva de los mismos, sino más bien el resultado de la inducción y expresión de numerosos genes con actividad antiviral, hecho que ha quedado manifiesto en los ratones deficientes de IFN α o IFN β , los cuales son muy susceptibles al desarrollo de infecciones virales de todo tipo.⁴⁸ Aunque definitivamente existen varias vías, uno de los principales efectos inhibitorios para muchos virus es el bloqueo de la síntesis proteínica por medio de la inducción de diversas proteínas con capacidad para segmentar tARN de una hélice, tanto celulares como víricos, impidiendo la elongación del péptido. De la misma manera, los interferones logran la inactivación de proteínas que participan en la síntesis proteínica e inducen apoptosis, inhibiendo la replicación viral en diversas etapas.^{9,10,48}

Actividad inmunorreguladora

Los numerosos efectos inmunorreguladores (pleiotrópicos) de los interferones han causado mucho interés en años recientes. Los interferones inducen la maduración y activación de células dendríticas, incrementan en las mismas la expresión de moléculas del sistema principal de histocompatibilidad (MHC=*major histocompatibility complex*) de clase I y clase II, citocinas y receptores de citocinas, así como de moléculas coestimuladoras, todo lo cual facilita la presentación de antígenos y la activación de las células inmunes.⁴⁹ De igual manera, los interferones estimulan la activación de linfocitos T citotóxicos e incrementan su sobrevivencia, en tanto que en los linfocitos B disminuyen su umbral de activación, aumentan su diferenciación, su producción de anticuerpos y favorecen el cambio de isotipo de inmunoglobulinas.⁴⁹ En la serie monocítica-macrofágica estimula la expresión de TLR1, TLR2, TLR3 y TLR7, incrementa su actividad microbicida y estimula la expresión de óxido nítrico. Por último, dada su participación inequívoca en algunos padecimientos de naturaleza autoinmune, se ha sugerido que los interferones sirven como puente entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa, y, por tanto, pueden ser calificados como "hormonas de estrés" en el sistema inmune, las cuales alertan sobre el daño y contribuyen a su activación.⁴⁹

Actividad antiproliferativa

Lejos de ser entendidas de manera apropiada, las propiedades antiproliferativas del interferón identificadas desde 1969 en modelos murinos por Gresser y colaboradores,^{14,15} derivan de mecanismos inmunológicos y no inmunológicos. Los primeros se pueden subdividir a su vez en directos y en

indirectos; de los directos se enfatiza la propiedad de inhibir el crecimiento de las células tumorales a diferentes niveles del ciclo celular, así como sus efectos proapoptóticos a través de la inducción de componentes intracelulares que promueven la muerte celular programada (caspasas). De los mecanismos indirectos se menciona que los interferones tienen la propiedad de activar linfocitos T citotóxicos, células NK y monocitos y a través de ello contribuir a la destrucción de células tumorales. Por último, de los efectos no inmunológicos se destacan su propiedad antiangiogénica mediada por la inducción de citocinas angiostáticas.^{50,51}

Actividad antiinflamatoria

La actividad antiinflamatoria de los interferones ha sido demostrada ampliamente en diversos modelos animales y en humanos.¹⁰ De los primeros cabe destacar tres situaciones: primero, las observaciones de Veldhuis y colaboradores,⁵² quienes han informado que la administración de IFN β protege a ratas de la respuesta inflamatoria inducida experimentalmente por isquemia, protección demostrada por la reducción significativa de la infiltración de leucocitos polimorfonucleares y disminución de la ruptura de la barrera hemoencefálica. Segundo, Triantaphyllopoulos y colaboradores⁵³ han informado que la administración de IFN β reduce la magnitud de la artritis inducida por colágena bovina o CIA (*collagen-induced arthritis*). Tercero, la encefalitis autoinmune mediada por células T e inducida experimentalmente en ratas, tanto de manera activa como pasiva, puede ser inhibida mediante la administración de interferón tipo I.⁵⁴ De la contraparte humana mencionaremos fundamentalmente el papel protector del IFN β en la esclerosis múltiple, efectos reportados inicialmente por Jacobs y colaboradores,²⁴ mismos que parecen estar mediados entre otros mecanismos por el incremento de los niveles de VCAM1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) soluble, lo cual interfiere la cascada de adhesión leucocitaria,^{55,56} así como disminución de los niveles séricos de MMP9 (*matrix metalloproteinase-9*)⁵⁶ e incremento de TIMP1 (*tissue inhibitor of MMP-type 1*).⁵⁷

Receptores de membrana

Fisiológicamente, de manera semejante a lo que ocurre con casi todas las citocinas conocidas, las diversas funciones biológicas de los interferones se logran a través de su interacción con receptores específicos presentes en la membrana celular, evento que posterior a su internalización —por endocitosis— va seguido entre otros eventos de la inducción de enzimas celulares, generación de señales y activación de vías de transducción, que a su vez conducen a la activación de otros genes y sistemas enzimáticos y, eventualmente, a su degradación.^{6,8,9,47,58}

Actualmente se reconocen dos tipos de receptores de membrana de los interferones, el receptor tipo I y el receptor II, cuya densidad, es decir, el número de los mismos, varía desde cientos a miles (por célula) entre las diferentes células. El receptor de interferón tipo I, utilizado y compartido

por IFN α , IFN β , IFN ω e IFN τ , tiene dos subunidades denominadas IFNAR1 e IFNAR2 (IFNR=*interferon receptor*). Por su parte, el receptor tipo II o IFNGR (*interferon- γ receptor*), al cual sólo puede unirse IFN γ , es un complejo tetramérico formado por dos cadenas alfa y dos cadenas beta.^{6,8,9,59,60}

Ambos receptores tienen dominios intracelulares que se asocian con cinasas citoplásmicas: tirosina cinasa-2 y Janus cinasa-1 con el receptor tipo I, y Janus-cinasa 2 con el receptor tipo II,^{6,9} y a la vez comparten el mecanismo del inicio de las señales de transducción,^{50,60} fosforilando las proteínas traductoras de señal y activadoras de la transcripción o STAT (*signal transducer and activator of transcription protein*), STAT113, STAT84 y STAT91 en el caso del interferón tipo I y STAT91 para IFN γ .^{6,9} Las proteínas STAT fosforiladas se transportan hacia el núcleo, donde actúan como factores de transcripción, activando un conjunto de genes llamados genes estimulados por interferón (*ISG=interferon-stimulated genes*), dando como resultado final la inducción de diversos ARN mensajeros.

Cabe destacar que las vías de transducción, así como los genes que son activados por los interferones tipo I y II, se sobreponen entre sí, por lo cual comparten algunas de sus funciones; sin embargo, los diferentes interferones también tienen funciones que no se sobreponen entre sí, hecho derivado de que son producidos en diferentes partes del organismo o por diferentes células, en respuesta a estímulos diferentes.

Interferón alfa (IFN α)

IFN α es el más antiguo de todos, tiene más de 20 subtipos diferentes y representa una familia de proteínas homólogas, cada una con capacidades únicas. En el humano los genes que lo codifican se localizan en el brazo corto del cromosoma 9, en tanto que los genes de su receptor se localizan en el brazo corto del cromosoma 21.^{7,8,61} Si bien la mayoría de las células humanas pueden producir pequeñas cantidades, el IFN α es producido principalmente por células mononucleares de sangre periférica (motivo por el cual se le denominó interferón leucocitario), linfocitos B y macrófagos. De todas ellas, una subpoblación denominada NIPC/PDC (NIPC=célula natural productora de interferón; PDC=célula dendrítica plasmocitoides inmadura), la cual representa < 1% de las células mononucleares de la sangre periférica, parece ser la más especializada para la producción de interferón, alcanzando sintetizar aproximadamente 1×10^9 moléculas en un lapso de 12 horas.⁶² Pese a ello, virtualmente todas las células somáticas pueden producirlo como consecuencia de una invasión viral (Cuadro II).^{7,8,61}

La producción del IFN α ocurre desde las primeras horas del contacto viral. Una vez producido, sus efectos biológicos *in situ* son inmediatos y algunos de ellos, como la transcripción de genes, ocurre al cabo de cinco minutos de la exposición de las células blanco con el mismo, proceso que al no requerir de la síntesis de proteínas *de novo* se considera está mediado por la modulación de factores preexistentes.^{7,8,61} Como se ha mencionado, los distintos subtipos de IFN α muestran diferencias significativas en su capacidad

Cuadro II. Características básicas de los interferones humanos^{5,7,8,61,62,71,76,78,79}

	IFN α	IFN β	IFN γ
Codificación	Cromosoma 9 (9p21-ter)	Cromosoma 9 (9p21-pter)	Cromosoma 12 (12q24.1)
Intrones	Ninguno	Ninguno	Tres
Codificación del receptor	Cromosoma 21	Cromosoma 21	Cromosoma 6
Producción	NIPC/PDC Leucocitos Linfocitos B Macrófagos Fibroblastos Ubicua	Fibroblastos Macrófagos Leucocitos Ubicua	Linfocitos T _H 1 Linfocito T CD8 ⁺ Macrófagos Células NK
Subtipos	> 20	Dos	Uno
Estructura	165-172 AA	166 AA	143 AA
Principales efectos biológicos	Antiviral ↓ del crecimiento Inmunomodulador Antitumoral Activación CD Activación células B ↑ de la expresión de moléculas del MHC ↑ de la expresión de TLR	Antiviral ↓ del crecimiento Inmunomodulador Antitumoral Activación CD Activación células B ↑ de la expresión de moléculas del MHC ↑ de la expresión de TLR	Inmunomodulador
Homología interespecies	70%	65-70%	40-65%
Actividad	Especie-específico	Especie-específico	Especie-específico

IFN α =interferón alfa; IFN β =interferón beta; IFN γ =interferón gamma; NIPC/PDC=NIPC=células naturales productoras de interferón; PDC=células dendríticas plasmocitoides inmaduras; AA=aminoácidos; CD=células dendríticas; MHC=major histocompatibility complex; TLR=Toll like receptors

para inducir actividad antiviral, lo que se sugiere que podría ser causado porque tienen diferente afinidad a la unión al receptor. Así mismo el IFN α tiene la capacidad de promover el crecimiento, diferenciación y función de diferentes células del sistema inmune, y aunado a esto puede modificar la actividad de células inmunes activadas para interactuar con células malignas o con células infectadas por virus.⁶³

Sin poder entrar en detalles sobre este tema por no corresponder a los propósitos de esta revisión, por su relevancia se enfatiza que se han informado niveles elevados de IFN α en pacientes con lupus eritematoso generalizado, los cuales correlacionan con la actividad de la enfermedad,⁶⁴⁻⁶⁶ padecimiento en el cual se ha postulado que esta citocina puede contribuir a su patogénesis a través de disminuir la tolerancia inmunológica y por tanto favorecer la autorreactividad.⁴⁹ De la misma manera se menciona que en otras enfermedades autoinmunes se han identificado evidencias de activación del IFN α , entre ellas diabetes mellitus insulino dependiente,⁶⁷ síndrome de Sjögren,⁶⁸ dermatomiositis⁶⁹ y cirrosis biliar primaria.⁷⁰

Interferón beta (IFN β)

El IFN β está relacionado y comparte muchas de las características referidas previamente para IFN α , incluyendo el cromosoma donde es codificado y su receptor, sitio por el cual

ambos compiten. Aunque el IFN β es sintetizado fundamentalmente por los fibroblastos, en condiciones y bajo estímulos apropiados, prácticamente todas las células pueden producirlo. Sus principales efectos biológicos son semejantes a los de IFN α : actividad antiviral, capacidad antiproliferativa, efectos inmunomoduladores y actividad antitumoral (Cuadro II).^{7,8,71}

De los efectos comunes de IFN α e IFN β cabe destacar su capacidad para modificar la producción de anticuerpos, la estimulación de los linfocitos T citotóxicos, incrementar la expresión de moléculas del MHC, reclutar células NK, macrófagos, etcétera, e inhibir la proliferación de numerosos tipos de células *in vitro* e *in vivo* a través de mecanismo citostáticos.^{7,71} Además de una farmacocinética diferente, las principales diferencias entre IFN β e IFN α son los mecanismos moleculares de la inducción del IFN β , incluyendo la posibilidad de su producción espontánea o autocrina.^{7,71} Por cierto, se ha informado incremento de la expresión de IFN β en fibroblastos, macrófagos y células dendríticas de la membrana sinovial de los pacientes con artritis reumatoide, hecho que se ha interpretado como mecanismo compensatorio para inhibir la inflamación en dicho proceso.⁷²

Interferón gamma (IFN γ)

El IFN γ fue identificado en 1965 por Wheelock y colaboradores⁷³ como una sustancia producida por leucocitos en cultivo

en respuesta mitógenos, específicamente fitohemaglutinina. Aislado y parcialmente caracterizado por primera vez en 1981,⁷⁴ su genoma fue clonado en el mismo año.⁷⁵ Codificado por genes localizados en el brazo largo del cromosoma 12, el IFN γ actúa fundamentalmente sobre los macrófagos, motivo por el cual inicialmente se denominó "factor activador de macrófagos".⁷⁶ Producido principalmente por linfocitos T de ayuda activados (T_H1), macrófagos y células NK en respuesta a estímulos antigénicos,^{7,77} el IFN γ , también denominado interferón inmune, estructural y funcionalmente es muy diferente de IFN α y de IFN β ;⁷⁸ por ende, no es de extrañar que se fije a un receptor de membrana diferente codificado por genes localizados en el cromosoma 6 humano (Cuadro II).

El IFN γ es producido por las células T_H1 durante la respuesta inmune adaptativa. Una vez liberado ejerce numerosos efectos sobre las células inmunocompetentes: activación de monocitos y macrófagos, inducción de moléculas del MHC de clase I y II y receptores Fc en macrófagos, inhibición del crecimiento celular y de la multiplicación intracelular de virus y otros agentes infecciosos, modulación de la síntesis de otras citocinas como FNT α e inmunoglobulinas, de las cuales facilita la producción de IgG₂ e inhibe la producción de IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgE, respetando la producción de IgM.^{5,7,77}

La estimulación de los macrófagos por parte del IFN γ les confiere incrementar su actividad antibacteriana y antitumoral de manera directa e interviene en el procesamiento y presentación de antígenos. El incremento de su capacidad microbicida deriva de la inducción de diferentes sistemas que favorecen la destrucción bacteriana, efectos que igualmente son inducidos en los neutrófilos.⁷⁶ Una característica que lo distingue de los otros interferones es la capacidad para coordinar la transición de inmunidad innata a inmunidad específica a través de diferentes mecanismos: facilitación de la producción de células T_H1 por medio del aumento en la producción de IL12 en las CPA e inducción directa del cambio de isotipo de inmunoglobulinas en células B.⁷⁶ Por último se menciona que el IFN γ también promueve el desarrollo a T_H1 al aumentar la secreción de IL12 en los macrófagos.⁷⁹

Principales aplicaciones clínicas de los interferones

Aunque el potencial terapéutico del interferón fue sugerido muy pocos años después de su identificación, no fue sino con la definición progresiva de las diversas funciones inmunomoduladoras referidas, aunadas a su producción ilimitada por diversas técnicas de ingeniería genética, particularmente de ADN recombinante, lo que ha permitido su empleo en numerosos procesos de diversa etiología.

En efecto, aunque el interferón comenzó como un agente antiviral, con el paso del tiempo se ha convertido en el primer producto biológico para el tratamiento de diferentes enfermedades como cáncer, infecciones virales crónicas, esclerosis múltiple, etcétera. Como puede apreciarse en el cuadro III, se encuentran disponibles para su empleo rutina-

rio numerosos preparados comerciales basados en diversos tipos de interferones, con los cuales se han reportado resultados alentadores en las entidades en las cuales está aprobado su empleo y en otras más, la mayoría de los cuales existen en nuestro medio.^{5,80}

En un intento de alargar la vida media del interferón, en años recientes se ha recurrido al procedimiento de pegilación, hecho que si bien logra el objetivo deseado, también se ha asociado con diversos efectos adversos.

Interferón en la infección crónica por el virus de la hepatitis B

La hepatitis B es una de las infecciones virales más comunes alrededor del mundo, estimándose que alrededor de 350 millones de individuos a nivel mundial tienen infección crónica, mismos que están en riesgo de desarrollar cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular.⁸¹ Aunque hoy en día se dispone de los interferones producidos a gran escala mediante técnica de ingeniería genética, incluso preparaciones a las cuales se le ha agregado polietilenglicol (interferón pegilado), lo cual incrementa su vida media y su tasa de respuesta, los estudios pioneros del empleo del interferón en la hepatitis B se iniciaron a mediados de la década de 1970 con preparaciones de interferón producidas en cultivos de leucocitos o fibroblastos.¹⁷

La meta del tratamiento a corto plazo es disminuir la replicación viral, lo cual clínicamente se traduciría en preven-

Cuadro III. Interferones disponibles e indicaciones terapéuticas aprobadas*

• Interferón α -2a:	hepatitis C crónica, leucemia mielocítica crónica, leucemia de células peludas, leucemia mielocítica crónica cromosoma Filadelfia positiva, sarcoma de Kaposi asociado a infección por virus de inmunodeficiencia humana, linfoma no Hodgkin
• Interferón α -1:	hepatitis C crónica
• Interferón α -2b:	hepatitis C crónica, hepatitis B crónica, condiloma acuminado, linfoma folicular de células B, leucemia de células peludas, sarcoma de Kaposi asociado a infección por virus de inmunodeficiencia humana, melanoma maligno, linfoma no Hodgkin
• Interferón α -n3:	condiloma acuminado
• Interferón β -1a:	esclerosis múltiple, recaídas y esclerosis múltiple remitente
• Interferón β -1b:	esclerosis múltiple, recaídas y esclerosis múltiple remitente
• Interferón γ -1b:	enfermedad granulomatosa crónica, osteopetrosis
• Peginterferón α -2a:	hepatitis C crónica
• Peginterferón α -2b:	hepatitis C crónica

*<http://search.medscape.com/drug-reference-search?newSearch=1&queryText=Interferon>⁸⁰

ción de la progresión hacia cirrosis o carcinoma hepatocelular y, por lo tanto, aumentaría la supervivencia. El tratamiento con IFN α fue aprobado en 1992 y actualmente representa uno de los tratamientos de primera línea para hepatitis B crónica. Los interferones inhiben la replicación viral directamente por mecanismos antivirales e indirectamente amplificando las respuestas inmunes hacia las proteínas virales. El tratamiento de la hepatitis B con interferón tiene la ventaja de ser un tratamiento que no es de por vida, y que por lo general no se asocia a resistencia al tratamiento. Actualmente se dispone de IFN α -2a e IFN α -2b pegilados, los cuales, además de haber mostrado mayor eficacia en personas con esta enfermedad, añaden la ventaja de que sólo se requiere una dosis a la semana.^{82,83}

Interferón en la infección crónica por el virus de la hepatitis C

La infección por el virus de hepatitis C ha sido comparada con una bomba viral de tiempo. Según algunas estimaciones, aproximadamente 180 millones de personas han sido infectadas a nivel mundial, de las cuales alrededor de 130 millones tienen infección crónica y por tanto se encuentran en riesgo de desarrollar cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular.⁸⁴ Aunque el empleo del interferón en este padecimiento se inició propiamente desde la segunda mitad de la década de 1980 en el contexto del tratamiento de la hepatitis no A/no B^{85,86} su empleo (aprobado en 1991) se ha generalizado a partir de los estudios^{37,38} en los cuales ya se disponía de marcadores para identificar al agente causal de la hepatitis C crónica.⁸⁷

Aunque inicialmente se intentó como monoterapia por seis meses, esquema que mostró un índice de respuesta de 10 a 15%, cifra que se elevó a 20-25% con la administración durante 12 a 18 meses, actualmente la combinación de IFN α -2b pegilado y ribavirina es el tratamiento de primera línea para pacientes con hepatitis C crónica, combinación que ha demostrado disminuir la morbilidad y mortalidad de los pacientes que reciben este tratamiento.^{83,88}

Interferón en la esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple es la enfermedad inflamatoria desmielinizante más común del sistema nervioso central, su etiología es desconocida y representa la principal causa de discapacidad física no traumática en adultos jóvenes, mismos que ven reducida su esperanza de vida hasta por 10 años.⁸⁹⁻⁹¹

Los estudios iniciales del interferón en la esclerosis múltiple datan de 1981 cuando Jacobs y colaboradores²⁴ informaron que la aplicación por vía intratecal de IFN β producido en fibroblastos humanos reducía la tasa de exacerbaciones de la enfermedad, resultados que fueron confirmados cinco años después en un estudio multicéntrico.⁹² Más adelante, el uso de IFN β -1b para el tratamiento de esclerosis múltiple fue aprobado en 1993, y a la fecha han sido aprobados al menos tres tipos diferentes de interferón: IFN β -1a e IFN β -1b por vía subcutánea, e IFN β -1a por vía intramuscular. Aunque su mecanismo íntimo de acción queda por definir, se considera

que sus efectos benéficos derivan de varios efectos, entre ellos el aumento de IL10 en el líquido cefalorraquídeo, estimulación de la producción de interferón por parte de las células linfoides, disminución de la presentación de antígenos en las células de microglia y efectos antiinflamatorios regulados por células T. El resultado final de este tratamiento es la reducción de las exacerbaciones clínicas de la esclerosis múltiple y de las discapacidades físicas, es decir, la reducción de la progresión de la enfermedad medida con imágenes de resonancia magnética.⁸⁹⁻⁹²

Interferón en las enfermedades malignas

El potencial del interferón en el manejo del cáncer fue explorado inicialmente en modelos animales de leucemia por Friend y Rauscher,^{14,15} y confirmado un año después en animales de experimentación retados con células tumorales.⁹³ Sin poder entrar en detalles por la gran extensión de la literatura, se menciona que las propiedades antiproliferativas del interferón han sido probadas —con diferente grado de éxito— en diferentes procesos malignos, en algunos de los cuales su empleo está aprobado, ya sea a manera de monoterapia o en terapia combinada, entre ellos leucemia de células peludas,^{27,94,95} melanoma,⁹⁶⁻⁹⁹ linfoma no Hodgkin,^{100,101} linfoma cutáneo de células T,^{102,103} mieloma múltiple,^{104,105} leucemia mielocítica crónica,¹⁰⁶ sarcoma de Kaposi,^{26,107-109} etcétera.

Interferón en padecimientos misceláneos

Diversos preparados de interferón se han empleado de manera tópica, intralesional o intramuscular, con éxito relativo en otros padecimientos: infección por virus de papiloma humano en diversas localizaciones,¹¹⁰⁻¹¹² condiloma acumulado,^{113,114} síndrome de Sjögren,^{115,116} síndrome de Churg-Strauss,¹¹⁷ enfermedad de Behçet.^{118,119}

Toxicidad clínica de los interferones

Derivado de sus numerosos efectos biológicos que incluyen la modulación de la expresión de poco más de 30 genes diferentes,⁴ no es de extrañar que el empleo de los interferones con fines terapéuticos está asociado con un amplio espectro de efectos adversos que se presentan de manera resumida en el cuadro IV.^{5,120-129} Aunque virtualmente todos los pacientes tratados con cualquier preparado de interferón llegan a desarrollar algún efecto adverso en las primeras 24 a 48 horas, por fortuna pocas veces dichos efectos ponen en riesgo la vida y raramente llegan a causar la muerte, situación reportada en 0.04% de 11 241 pacientes manejados con interferón.¹²⁶ En segundo término, los factores más frecuentemente asociados con el desarrollo de efectos adversos graves son edad avanzada, sexo femenino e infección por virus de hepatitis C.¹²⁶

Respecto a la toxicidad aguda, subaguda y parte de la toxicidad crónica observada durante la administración de interferón, se acepta que la misma es consecuencia de la

Cuadro IV. Espectro de la toxicidad clínica de los interferones utilizados con fines terapéuticos

- **Toxicidad aguda:** fiebre, calosfríos, mialgias, artralgias, cefalea, diaforesis, náuseas, muerte súbita, reacciones anafilácticas, etc.
- **Toxicidad subaguda o crónica:** anorexia, diarrea, fatiga, trastornos de conducta, vértigo, somnolencia, confusión, parestesias, rash, prurito, caída del cabello, etc.
- **Neurotoxicidad:** sistema nervioso central: letargia, alteraciones de conducta, trastornos diversos (memoria, atención, razonamiento), psicosis, convulsiones, depresión, intento de suicidio, corea; sistema nervioso periférico: neuropatía periférica, parestesias y disestesias
- **Complicaciones cardiovasculares:** hipotensión, taquicardia, cianosis, arritmias (taquicardia supraventricular, fibrilación ventricular, etc.), angina, etc.
- **Compromiso renal:** proteinuria, aumento de creatinina sérica, insuficiencia renal aguda, síndrome nefrótico, glomeruloesclerosis, etc.
- **Hepatotoxicidad:** elevación de aminotransferasas, exacerbación de hepatitis B, hepatitis aguda, descompensación de insuficiencia hepática, etc.
- **Toxicidad hematológica:** leucopenia, trombocitopenia, anemia, hipoplasia y aplasia medular, púrpura, alteraciones de la coagulación, sangrado, etc.
- **Toxicidad de piel y anexas:** eritema difuso, urticaria, eccema, caída del cabello, sequedad y decoloración del cabello, telangiectasias, hipertrichosis, liquen plano, escleromixedema, dermatitis por contacto, dermatitis atópica, paniculitis, necrosis cutánea, etc.
- **Alteraciones hormonales:** incremento de hormona adrenocorticotrópica, cortisol sérico, noradrenalina, prolactina, hormona de crecimiento y gastrina, disminución de progesterona y estradiol
- **Autoinmunidad y enfermedades autoinmunes (Cuadro V)**
- **Efectos misceláneos:** inducción, revelación o exacerbación de sarcoidosis, isquemia retiniana, hipertrigliceridemia, disminución de colesterol, impotencia reversible, neumonitis intersticial, etc.

inducción de otras citocinas como IL1, IL2, IL6, FNT α , IFN γ , etcétera, y sus efectos sobre macrófagos, linfocitos T y B, fibroblastos, células NK, etcétera. Así, la presencia de síntomas constitucionales como anorexia, fiebre, fatiga, mialgias, artralgias, calosfríos, cefaleas, y otros como disfunción cognitiva y depresión, pueden explicarse fundamentalmente por la inducción de IL1, IL6 y FNT α ; la hipotensión arterial por la liberación de IL2 y la toxicidad hematológica por la producción de IL1.¹³⁰

Autoinmunidad y enfermedades autoinmunes posteriores a la aplicación de interferón

La respuesta dirigida contra lo propio, acompañada o no del desarrollo simultáneo de una enfermedad autoinmune posterior a la administración de interferón, fue descrita prácticamente de manera simultánea por Fentiman y colaboradores,²⁸ Burman y colaboradores,²⁹ y Bhakri y colaboradores,³⁰ en

Cuadro V. Desarrollo de autoinmunidad y enfermedades autoinmunes reportadas durante el empleo de interferones en diversos padecimientos

- **Autoinmunidad (desarrollo de autoanticuerpos)*:** anticuerpos antinucleares, anticardiolipina (IgG e IgM), anticélulas de islotes pancreáticos, anticélulas parietales, anticitoplasma de los neutrófilos (p-ANCA y c-ANCA), antidescarboxilasa del ácido glutámico (GAD65), antiADN nativo y desnaturalizado, antien-domisio, antiepidermis, antieritrocitos, antiespermatozoides, antifactor intrínseco, antigliadina, antihistonas, antiinsulina, antiIFN α , antiIFN β , antimitocondriales, antimúsculo liso (actina), antimitocondriales, antiplaquetas, antirreceptor de acetilcolina, antiScl70, antisuপ্ররrenal, antitiroideos, anti-21-hidroxilasa, antifactor VIII, anticoagulante lúpico y factor reumatoide
- **Enfermedades autoinmunes*:** alopecia areata, anemia hemolítica autoinmune, anemia perniciosa, artritis reumatoide, artritis psoriásica, crioglobulinemia, cirrosis biliar primaria, colitis ulcerativa crónica inespecífica, dermatomiositis, diabetes tipo I, enfermedad de Behçet, enfermedad celiaca, enfermedad de Graves-Basedow, enfermedad mixta de tejido conjuntivo, esclerosis sistémica, esclerosis múltiple (con el empleo de IFN γ , fenómeno de Raynaud, hepatitis autoinmune, hiperparatiroidismo, hipopituitarismo, hipotiroidismo primario, lupus eritematoso generalizado, lupus neonatal, miastenia *gravis*, miositis por cuerpos de inclusión, nefritis intersticial, psoriasis, pénfigo buloso, poliarteritis nodosa, polimiositis, púrpura trombocitopénica, síndrome antifosfolípido, síndrome de Sjögren, tiroiditis subaguda, tiroiditis de Hashimoto, vasculitis y vitíligo

*En orden alfabético

1985, comunicaciones a la que seguirían decenas de reportes sobre el desarrollo de gran variedad de autoanticuerpos, tanto órgano-específicos como no órgano-específicos, así como numerosas enfermedades autoinmunes (Cuadro V).^{129,131-135} Si bien es cierto que no se han definido los mecanismos íntimos por los cuales la administración exógena de grandes cantidades —muy superiores a las fisiológicas— de IFN α , IFN β e IFN γ inducen autoinmunidad, todo parece indicar que el fenómeno es resultado de las funciones biológicas de estas citocinas en la respuesta inmune innata y adaptativa.

Por último, cabe destacar que las mejores respuestas a la administración de interferón en pacientes con melanoma y otras neoplasias, es decir, la sobrevida global y libre de recurrencia tumoral, así como la eliminación del tumor maligno, se observa significativamente con mayor frecuencia en los individuos que desarrollan una respuesta autoinmune durante la administración de esta citocina.^{136,137}

Conclusiones

Identificados inicialmente como un mecanismo de defensa de primera línea contra las infecciones virales, en el transcurso de las últimas cinco décadas se ha definido que los interferones forman parte de la extensa familia de citocinas, sustancias indispensables para el adecuado funcionamiento del sistema inmunológico.

Debido a sus numerosas funciones inmunológicas, los interferones fueron las primeras citocinas utilizadas para el manejo de una amplia gama de padecimientos, propiedades que progresivamente los han posicionado como medicamentos de primera elección para el tratamiento de algunas enfermedades (ya sea a manera de monoterapia o en terapia combinada), particularmente la infección crónica por el virus de hepatitis B, virus de hepatitis C, esclerosis múltiple, algunas leucemias, melanoma, etcétera, situaciones en las cuales quizás su mayor limitante es su elevado costo.

No obstante lo anterior —lo cual no representa una limitante para su empleo—, la administración de dosis supra-fisiológicas de interferones con fines terapéuticos, independientemente de su indicación primaria, se ha asociado con toxicidad importante, incluyendo la inducción de autoinmunidad y más de 30 enfermedades autoinmunes diferentes.

En suma, inicialmente asociados en el contexto de agentes antivirales y considerados en su momento como una *penicilina antiviral*, los interferones se han convertido en la primera sustancia bioterapéutica producida por tecnología recombinante, a la vez que ha contribuido a marcar la transición hacia una nueva era en la medicina: la medicina genómica.

Referencias

1. **Isaacs A, Burke DC.** Viral interference and interferon. *Br Med Bull* 1959;15:185-188.
2. **Isaacs A, Lindenmann J.** Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1957;147:258-267.
3. **Isaacs A, Lindenmann J, Valentine RC.** Virus interference. II. Some properties of interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1957;147:268-273.
4. **Kalvakolanu DV, Borden EC.** An overview of the interferon system: signal transduction and mechanism of action. *Cancer Invest* 1996;14:25-53.
5. **Jonasch E, Haluska FG.** Interferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical applications, and toxicities. *Oncologist* 2001;6:34-55.
6. **Johnson HM, Bazer FW, Szente BE, Jarpe MA.** How interferons fight disease. *Sci Am* 1994;270:68-75.
7. **Theofilopoulos AN, Baccala R, Beutler B, Kono DH.** Type I interferons (α/β) in immunity and autoimmunity. *Annu Rev Immunol* 2005;23:307-336.
8. **Decker T, Muller M, Stockinger S.** The yin and yang of type I interferon activity in bacterial infection. *Nat Rev Immunol* 2005;5:675-687.
9. **Billiau A.** Interferon: the pathways of discovery I. Molecular and cellular aspects. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17:381-409.
10. **Billiau A.** Anti-inflammatory properties of type I interferons. *Antiviral Res* 2006;71:108-116.
11. **Ho M.** Interferon-like viral inhibitor in rabbits after intravenous administration of endotoxin. *Science* 1964;146:1472-1474.
12. **Wheelock EF.** IFN-like virus inhibitor induced in human leukocytes by phytohemagglutinin. *Science* 1965;141:130-141.
13. **Field AK, Lampson GP, Tytell AA, Nemes MM, Hilleman MR.** Inducers of interferon and host resistance, IV. Double-stranded replicative form RNA (MS2-Ff-RNA) from *E. coli* infected with MS2 coliphage. USA: *Proc Natl Acad Sci* 1967;58:2102-2108.
14. **Gresser I.** The effect of interferon preparations on friend leukemia of mice. *Bibl Haematol* 1968;30:37-39.
15. **Gresser I, Berman L, De The G, Brouty-Boye D, Coppey J, Falcoff E.** Interferon and murine leukemia. V. Effect of interferon preparations on the evolution of Rauscher disease in mice. *J Natl Cancer Inst* 1968;41:505-522.
16. **Havell EA, Berman B, Ogburn CA, Berg K, Paucker K, Vilcek J.** Two antigenically distinct species of human interferon. USA: *Proc Natl Acad Sci* 1975;72:2185-187.
17. **Greenberg HB, Pollard RB, Lutwick LI, Gregory PB, Robinson WS, Merigan TC.** Effect of human leukocyte interferon on hepatitis B virus infection in patients with chronic active hepatitis. *N Engl J Med* 1976;295:517-522.
18. **Horoszewicz JS, Leong SS, Ito M, Buffett RF, Karakousis C, Holyoke E, et al.** Human fibroblast interferon in human neoplasia: clinical and laboratory study. *Cancer Treat Rep* 1978;62:1899-1906.
19. **Taniguchi T, Fujii-Kuriyama Y, Muramatsu M.** Molecular cloning of human interferon cDNA. USA: *Proc Natl Acad Sci* 1980;77:4003-4006.
20. **Nagata S, Taira H, Hall A, Johnsrud L, Streuli M, Ecsodi J, et al.** Synthesis in *E. coli* of a polypeptide with human leukocyte interferon activity. *Nature* 1980;284:316-320.
21. **Knight E Jr, Hunkapiller MW, Korant BD, Hardy RW, Hood LE.** Human fibroblast interferon: amino acid analysis and amino terminal amino acid sequence. *Science* 1980;207:525-526.
22. **Zoon KC, Smith ME, Bridgen PJ, Anfinsen CB, Hunkapiller MW, Hood LE.** Amino terminal sequence of the major component of human lymphoblastoid interferon. *Science* 1980;207:527-528.
23. **Anonymous.** Interferon nomenclature. *Nature* 1980;286:110.
24. **Jacobs L, O'Malley J, Freeman A, Ekes R.** Intrathecal interferon reduces exacerbations of multiple sclerosis. *Science* 1981;214:1026-1028.
25. **Gray PW, Goeddel DV.** Structure of the human immune interferon gene. *Nature* 1982;298:859-863.
26. **Krown SE, Real FX, Cunningham-Rundles S, et al.** Preliminary observations on the effect of recombinant leukocyte A interferon in homosexual men with Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med* 1983;308:1071-1076.
27. **Quesada JR, Reuben J, Manning JT, Hersh EM, Gutterman JU.** Alpha interferon for induction of remission in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 1984;310:15-18.
28. **Fentiman IS, Thomas BS, Balkwill FR, Rubens RD, Hayward JL.** Primary hypothyroidism associated with interferon therapy of breast cancer. *Lancet* 1985;1:1166.
29. **Burman P, Karison A, Öberg K.** Autoimmune thyroid disease in interferon treated patients. *Lancet* 1985;2:100-101.
30. **Bhakri H, Srisikandan K, Davis T, Pettingale K, Tee D.** Recombinant gamma interferon and autoimmune thyroid disease. *Lancet* 1985;2:457.
31. **Novick D, Orchansky P, Revel M, Rubinstein M.** The human IFN- γ receptor. Purification, characterization and preparation of antibodies. *J Biol Chem* 1987;262:8483-8487.
32. **Aguet M, Merlin G.** Purification of human IFN- γ receptors by sequential affinity chromatography on immobilized monoclonal antireceptor antibodies and human IFN- γ . *J Exp Med* 1987;165:988-999.
33. **Aguet M, Dembic Z, Merlin G.** Molecular cloning and expression of the human IFN- γ receptor. *Cell* 1988;55:273-280.
34. **Calderon J, Sheehan KCK, Chance C, Thomas ML, Schreiber RD.** Purification and characterization of the human IFN- γ receptor from placenta. USA: *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85:4837-4841.
35. **Ezekowitz RA, Dinauer MC, Jaffe HS, Orkin SH, Newburger PE.** Partial correction of the phagocyte defect in patients with X-linked chronic granulomatous disease by subcutaneous interferon gamma. *N Engl J Med* 1988;319:146-151.
36. **Sechler JM, Malech HL, White CJ, Gallin JI.** Recombinant human interferon-gamma reconstitutes defective phagocyte function in patients with chronic granulomatous disease of childhood. USA: *Proc Natl Acad Sci* 1988;85:4874-4878.
37. **Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C, Lisker-Melman M, Murray L, Waggoner J, et al.** Recombinant interferon alfa therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1989;321:1506-510.
38. **Davis GL, Balart LA, Schiff ER, Lindsay K, Bodenheimer HC Jr, Perrillo RP, et al.** Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1989;321:1501-1506.
39. **Key LL Jr, Ries WL, Rodriguez RM, Hatcher HC.** Recombinant human interferon gamma therapy for osteopetrosis. *J Pediatr* 1992;121:119-124.
40. **Velazquez L, Fellous M, Stark GR, Pellegrini S.** A protein tyrosine kinase in the interferon alpha/beta signaling pathway. *Cell* 1992;70:313-322.
41. **Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA.** Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001;413:732-738.
42. **Villader-Palacin A.** Las citocinas en las enfermedades autoinmunes. Madrid, España: IDEPSA; 1998.
43. **Diaz MO, Bohlander S, Allen G.** Nomenclature of human interferon genes. *J Interferon Res* 1993;13:443.
44. **Sen G, Ransohoff RM.** Interferon-induced antiviral actions and their regulation. *Adv Virus Res* 1993;42:57-101.
45. **Baccala R, Hoebbe K, Kono DH, Beutler B, Theofilopoulos AN.** TLR-dependent and TLR-independent pathways of type I interferon induction in systemic autoimmunity. *Nat Med* 2007;13:543-551.
46. **Samuel CE.** Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:778-809.
47. **Pestka S, Krause CD, Walter MR.** Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev* 2004;202:8-32.
48. **Thomas H, Foster G, Platis D.** Mechanisms of action of interferon and nucleoside analogues. *J Hepatol* 2003;39:S93-S98.
49. **Rönblom L, Eloranta ML, Alm GW.** The type I interferon system in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:408-420.
50. **Grandér D.** How does interferon-alpha exert its antitumor activity in multiple myeloma? *Acta Oncologica* 2000;39:801-805.

51. Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFN gamma in protection against tumor development and cancer immunoeediting. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002;13:95-109.
52. Veldhuis WB, Floris S, van der Meide PH, Vos IM, de Vries HE, Dijkstra CD, et al. Interferon-beta prevents cytokine-induced neutrophil infiltration and attenuates blood-brain barrier disruption. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:1060-1069.
53. Triantaphyllopoulos KA, Williams RO, Taylor H, Chernajovsky Y. Amelioration of collagen-induced arthritis and suppression of interferon-gamma, interleukin-12, and tumor necrosis factor alpha production by interferon-beta gene therapy. *Arthritis Rheum* 1999;42:90-99.
54. Abreu SL. Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by interferon. *Immunol Commun* 1982;11:1-7.
55. Calabresi PA, Tranquill LR, Dambrosia JM, Stone LA, Maloni H, Bash CN, et al. Increases in soluble VCAM-1 correlate with a decrease in MRI lesions in multiple sclerosis treated with interferon beta-1b. *Ann Neurol* 1997;41:669-674.
56. Trojan M, Avolio C, Liuzzi GM, Ruggieri M, Defazio G, Liguori M, et al. Changes of serum sICAM-1 and MMP-9 induced by rIFNbeta-1b treatment in relapsing-remitting MS. *Neurology* 1999;53:1402-1408.
57. Waubant E, Goodkin DE, Gee L, Bacchetti P, Sloan R, Stewart T, et al. Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 1999;53:1397-1401.
58. Branca AA, Faltynek CR, D'Alessandro SB, Baglioni C. Interaction of interferon with cellular receptors. Internalization and degradation of cell-bound interferon. *J Biol Chem* 1982;257:13291-1326.
59. Stark GR, Kerr IM, Williams RB, Silverman RH, Schreiber R. How cells responds to interferons. *Annu Rev Biochem* 1998;67:227-264.
60. Levy DE, Darnell JE Jr. STATs: transcriptional control and biological impact. *Nature Rev Cell Biol* 2002;3:651-662.
61. Zwarthoff EC. Interferon- α . In: Roitt IM, Delves PJ. Eds. *Encyclopedia of immunology*. London: Academic Press; 1992. pp. 886-888.
62. Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol* 2004;5:1219-1226.
63. Pfeffer LM, Dinarello CA, Herberman RB, Williams BR, Borden EC, Borden R, et al. Biological properties of recombinant alpha-interferons: 40th anniversary of the discovery of interferons. *Cancer Res* 1998;58:2489-2499.
64. Hooks JJ, Moutsopoulos HM, Geis SA, Stahl NI, Decker JL, Notkins AL. Immune interferon in the circulation of patients with autoimmune disease. *N Engl J Med* 1979;301:5-8.
65. Bengtsson AA, Sturfelt G, Truedsson L, Blomberg J, Alm G, Vallin H, et al. Activation of type I interferon system in systemic lupus erythematosus correlates with disease activity but not with antiretroviral antibodies. *Lupus* 2000;9:664-671.
66. Dall'era MC, Cardarelli PM, Preston BY, Witte A, Davis JC Jr. Type I interferon correlates with clinical and serologic manifestations of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1692-1697.
67. Stewart TA. Neutralizing interferon as a therapeutic approach to autoimmune disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:139-154.
68. Bave U, Nordmark G, Lovgren T, Ronnelid J, Cajander S, Eloranta ML, et al. Activation of the type I interferon system in primary Sjogren's syndrome: a possible etiopathogenic mechanism. *Arthritis Rheum* 2005;52:1185-1195.
69. Greenberg SA, Pinkus JL, Pinkus GS, Burleson T, Sanoudou D, Tawil R, et al. Interferon-alpha/beta-mediated innate immune mechanisms in dermatomyositis. *Ann Neurol* 2005;57:664-678.
70. Takii Y, Nakamura M, Ito M, Yokoyama T, Komori A, Shimizu-Yoshida Y, et al. Enhanced expression of type I interferon and toll-like receptor-3 in primary biliary cirrhosis. *Lab Invest* 2005;85:908-920.
71. Jacobsen H. Interferon- β . In: Roitt IM, Delves PJ, editors. *Encyclopedia of immunology*. London: Academic Press; 1992. p. 889-1.
72. van Holten J, Smeets TJ, Blankert P, Tak PP. Expression of interferon beta in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis: comparison with patients with osteoarthritis and reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1780-1782.
73. Wheelock EF, Sibley WA. Circulating virus, interferon and antibody after vaccination with the 17-D strain of yellow-fever virus. *N Engl J Med* 1965;22:273:194-198.
74. Yip YK, Pang RH, Urban C, Vilcek J. Partial purification and characterization of human gamma (immune) interferon. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1981;78:1601-1605.
75. Lawn RM, Gross M, Houck CM, Franke AE, Gray PV, Goedel DV. DNA sequence of a major human leukocyte interferon gene. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1981;78:5435-5439.
76. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 2004;75:163-189.
77. Vilcek J. Interferon- γ . In: Roitt IM, Delves PJ. Eds. *Encyclopedia of immunology*. London: Academic Press; 1992. pp 889-881.
78. Young HA, Hardy KJ. Role of interferon-gamma in immune cell regulation. *J Leukoc Biol* 1995;58:373-381.
79. Vilcek J, Feldmann M. Historical review: Cytokines as therapeutics and targets of therapeutics. *Trends Pharmacol Sci* 2004;25:201-209.
80. <http://search.medscape.com/drug-reference-search?newSearch=1&queryText=Interferon>
81. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>
82. Hui AY, Chan HL, Cheung AY, Cooksley G, Sung JJ. Systematic review: treatment of chronic hepatitis B virus infection by pegylated interferon. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:519-528.
83. Lin OS, Keefe EB. Current treatment strategies for chronic hepatitis B and C. *Annu Rev Med* 2001;52:29-49.
84. http://www.who.int/immunization/topics/hepatitis_c/en/index.html
85. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, et al. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *N Engl J Med* 1986;315:1575-1578.
86. Kiyosawa K, Sodeyama T, Nakano Y, Yoda H, Tanaka E, Hayata T, et al. Treatment of chronic non-A non-B hepatitis with human interferon beta: a preliminary study. *Antiviral Res* 1989;12:151-1261.
87. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989;321:1494-1500.
88. Ward RP, Kugelmas M. Using pegylated interferon and ribavirin to treat patients with chronic hepatitis C. *Am Fam Physician* 2005;72:655-662.
89. Contessa G, Durelli L. Interferon-beta-1a for the treatment of multiple sclerosis. *Expert Opin Biol Ther* 2007;7:535-542.
90. Keegan BM, Noseworthy JH. Multiple sclerosis. *Annu Rev Med* 2002;53:285-302.
91. Buttman M, Rieckmann P. Interferon-beta1b in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 2007;7:227-239.
92. Jacobs L, Salazar AM, Herndon R, Reese PA, Freeman A, Josefowicz R, et al. Multicentre double-blind study of effect of intrathecally administered natural human fibroblast interferon on exacerbations of multiple sclerosis. *Lancet* 1986;2:1411-1413.
93. Gresser I, Bourali C, Levy JP, Fontaine-Brouty-Boye D, Thomas MT. Increased survival in mice inoculated with tumor cells and treated with interferon preparations. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1969;63:51-57.
94. Goodman GR, Bethel KJ, Saven A. Hairy cell leukemia: an update. *Curr Opin Hematol* 2003;10:258-266.
95. Robak T. Current treatment options in hairy cell leukemia and hairy cell leukemia variant. *Cancer Treat Rev* 2006;32:365-376.
96. Hurlay KE, Chapman PB. Helping melanoma patients decide whether to choose adjuvant high-dose interferon-alpha2b. *Oncologist* 2005;10:739-742.
97. Sabel MS, Sondak VK. Is there a role for adjuvant high-dose interferon-alpha-2b in the management of melanoma? *Drugs* 2003;63:1053-1058.
98. Kirkwood JM, Resnick GD, Cole BF. Efficacy, safety, and risk-benefit analysis of adjuvant interferon alfa-2b in melanoma. *Semin Oncol* 1997;24 (1 Suppl 4):S16-S23.
99. Gray RJ, Pockaj BA, Kirkwood JM. An update on adjuvant interferon for melanoma. *Cancer Control* 2002;9:16-21.
100. Reiser M, Diehl V. Current treatment of follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Cancer* 2002;38:1167-1172.
101. Solal-Celigny P. Increasing treatment options in indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 2002;29(2 Suppl 6):2-6.
102. Olsen EA. Interferon in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *Dermatol Ther* 2003;16:311-321.
103. Dummer R, Kempf W, Hess Schmid M, Haffner A, Burg G. Therapy of cutaneous lymphoma-current practice and future developments. *Onkologie* 2003;26:366-372.
104. Mellstedt H, Osterborg A, Bjorkholm M, Bjoreman M, Brenning G, Gahrton G, et al. Treatment of multiple myeloma with interferon alpha: the Scandinavian experience. *Br J Haematol* 1991;79(Suppl 1):21-25.
105. Anonymous. Interferon-alpha 2b added to melphalan-prednisone for initial and maintenance therapy in multiple myeloma. A randomized, controlled trial. The Nordic Myeloma Study Group. *Ann Intern Med* 1996;124:212-222.
106. Guilhot F, Roy L, Martineau G, Guilhot J, Millot F. Immunotherapy in chronic myelogenous leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma* 2007;7(Suppl 2):S64-S70.
107. Fischl MA, Finkelstein DM, He W, Powderly WG, Triozzi PL, Steigbigel RT. A phase II study of recombinant human interferon-alpha 2a and zidovudine in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma. *AIDS Clinical Trials Group. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovir* 1996;11:379-384.
108. Crown SE, Li P, Von Roenn JH, Paredes J, Huang J, Testa MA. Efficacy of low-dose interferon with antiretroviral therapy in Kaposi's sarcoma: a randomized phase II AIDS clinical trials group study. *J Interferon Cytokine Res* 2002;22:295-303.
109. Aversa SM, Cattelan AM, Salvagno L, Crivellari G, Banna G, Trevenzoli M, et al. Treatments of AIDS-related Kaposi's sarcoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005;53:253-265.
110. De Aloysio D, Miliffi L, Iannicelli T, Penacchioni P, Bottiglioni F. Intramuscular interferon-beta treatment of cervical intraepithelial neoplasia II associated with human papillomavirus infection. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994;73:420-424.
111. Levine LA, Elterman L, Rukstalis DB. Treatment of subclinical intraurethral human papilloma virus infection with interferon alfa-2b. *Urology* 1996;47:553-557.

112. Gerein V, Rastorguev E, Gerein J, Jecker P, Pfister H. Use of interferon-alpha in recurrent respiratory papillomatosis: 20-year follow-up. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;114:463-471.
113. Fallani MG, Penna C, Sonni L, Gordigiani R, Cioffi M, Cesario L, et al. Treatment of female genital condylomatosis with intramuscular beta interferon. *Minerva Ginecol* 1991;43:595-599.
114. Zarcone R, Bellini P, Cardone G, Cardone A. Treatment of cervix condylomata with alpha-IFN leucocytar. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1995;22:326-329.
115. Ship JA, Fox PC, Michalek JE, Cummins MJ, Richards AB. Treatment of primary Sjogren's syndrome with low-dose natural human interferon-alpha administered by the oral mucosal route: a phase II clinical trial. IFN Protocol Study Group. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:943-951.
116. Cummins MJ, Papas A, Kammer GM, Fox PC. Treatment of primary Sjögren's syndrome with low-dose human interferon alfa administered by the oromucosal route: combined phase III results. *Arthritis Rheum* 2003;49:585-593.
117. Tatsis E, Schnabel A, Gross WL. Interferon-alpha treatment of four patients with the Churg-Strauss syndrome. *Ann Intern Med* 1998;129:370-374.
118. Kötter I, Günaydin I, Zierhut M, Stubiger N. The use of interferon alpha in Behçet's disease: Review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 2004;33:320-335.
119. Çalgüneri M, Öztürk MA, Ertenli I, Kiraz İ, Özbalkan Z. Effects of interferon alpha treatment on the clinical course of refractory Behçet's disease: an open study. *Ann Rheum Dis* 2003;62:492-493.
120. Quesada JR, Talpaz M, Rios A, Kurzrock R, Guterman JU. Clinical toxicity of interferons in cancer patients: a review. *J Clin Oncol* 1986;4:234-243.
121. Ault BH. Acute renal failure during therapy with recombinant human gamma interferon. *N Engl J Med* 1988;319:1397-1413.
122. Vial T, Descotes J. Clinical toxicity of the interferons. *Drug Safety*. 1994;10:115-150.
123. Kausman D, Isenberg DA. Role of biologics in autoimmunity. *Lupus* 1994;3:461-466.
124. Vial T, Descotes J. Clinical toxicity of cytokines used as haemopoietic growth factors. *Drug Saf* 1995;13:371-406.
125. Vial T, Descotes J. Immune-mediated side-effects of cytokines in humans. *Toxicology* 1995;105:31-57.
126. Fattovich G, Giustina G, Favarato S, Ruol A. A survey of adverse events in 11, 241 patients with chronic hepatitis treated with alfa interferon. *J Hepatol* 1996;24:38-47.
127. Dusheiko G. Side effects of alpha interferon in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1997;26 (Suppl 1):112S-121S.
128. Merigan TC. Human interferon as a therapeutic agent. *N Engl J Med* 1988;318:1458-1460.
129. Ramos Niembro F. Autoinmunidad y enfermedades autoinmunes asociadas con el empleo de interferones. En: Ramos Niembro F, Orozco Alcalá, Eds. *Terapia biológica en las enfermedades reumáticas*. México: Elsevier-Masson-Doyma; 2006. pp. 345-368.
130. Kirkwood JM, Bender C, Agarwala S, Tarhini A, Shipe-Spotloe J, Smelko B, et al. Mechanisms and management of toxicities associated with high-dose interferon alfa-2b therapy. *J Clin Oncol* 2002;20:3703-3718.
131. Rönnblom LE, Alm GV, Öberg KE. Autoimmunity after alpha-interferon therapy for malignant carcinoid tumors. *Ann Intern Med* 1991;115:178-183.
132. Sacchi S, Kantarjian H, O'Brien S, Cohen PR, Pierce S, Talpaz M. Immune-mediated and unusual complications during interferon-alpha therapy in chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 1995;13:2401-2407.
133. Papo T. Interferón alpha et auto-immunité. *Rev Med Int (Paris)*. 2002;24(Suppl 4):501s-510s.
134. Ioannou Y, Isenberg DA. Current evidence for the induction of autoimmune rheumatic manifestations by cytokine therapy. *Arthritis Rheum* 2000;43:1431-1442.
135. Gota C, Calabrese L. Induction of clinical autoimmune disease by therapeutic interferon- α . *Autoimmunity* 2003;36:511-518.
136. Gogas H, Ioannovich J, Dafni U, Stavropoulou-Giokas C, Frangia K, Tsoutsos D, et al. Prognostic significance of autoimmunity during treatment of melanoma with interferon. *N Engl J Med* 2006;354:709-718.
137. Koon H, Atkins M. Autoimmunity and immunotherapy for cancer. *N Engl J Med* 2006;354:758-760.

Papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud.

Un caso con excelente respuesta a minociclina

Alma Angélica Rodríguez-Carreón,* Roberto Arenas-Guzmán, Verónica Fonte-Ávalos, Daniela Gutiérrez-Mendoza, María Elisa Vega-Memije y Judith Domínguez-Cherit

Departamento de Dermatología, Hospital General "Manuel Gea González", SSA, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 3 de noviembre de 2007

— Aceptado: 16 de noviembre de 2007

RESUMEN

La papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud es una dermatosis poco frecuente que por lo general afecta a individuos jóvenes, especialmente a mujeres de fototipos oscuros. Es asintomática y se presenta como placas pigmentadas con textura papilomatosa que confluyen formando placas reticuladas de mayor tamaño en el cuello y zonas intertriginosas. La causa es desconocida, aunque se ha implicado una queratinización anormal, y en ocasiones se puede asociar a *Malassezia* sp. Su evolución es crónica con remisiones y exacerbaciones. Por el momento no se dispone de un tratamiento específico. Se presenta un caso tratado de manera efectiva con minociclina que no presentó recidiva tras seis meses de seguimiento.

Palabras clave:

Papilomatosis reticulada y confluyente, Gougerot-Carteaud, minociclina

SUMMARY

Confluent and reticulated Gougerot-Carteaud papillomatosis is an uncommon dermatological condition that affects adolescents, especially young women with dark skin types. It presents itself as asymptomatic pigmented patches with a papillomatous texture that coalesce to form reticular plaques localized in the neck and intertriginous areas. The cause of this disease is unknown, although an abnormal keratinization has been implicated and sometimes has been associated with *Malassezia* sp. It has a chronic course with remissions and exacerbations. Several therapies have been used unsuccessfully to eradicate it but nowadays there is no specific treatment. We report a case treated efficiently with minocycline without recurrence at 6 months follow-up.

Key words:

Confluent and reticulated papillomatosis, Gougerot and Carteaud, minocycline

Introducción

La papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud (PRCGC) fue descrita por primera vez en 1927 por Gougerot y Carteaud bajo el nombre de *papillomatose pigmentée innominée*; después fue renombrada *papillomatose pigmentée confluyente et réticulée*. Es una dermatosis crónica de etiología desconocida en la que se ha propuesto la influencia de factores genéticos, endocrinos, fotosensibilizantes e infecciosos como *Malassezia* sp. Este agente ha creado confusión, ya que se ha encontrado también en otras dermatosis que histológicamente tienen hiperqueratosis y papilomatosis, como la acantosis *nigricans* y la queratosis seborreica. El hallazgo de un trastorno de queratinización es el mecanismo fisiopatogénico más aceptado.

Se han descrito pocos casos en la literatura mundial. Esta entidad se presenta por lo general entre los 18 y 25 años, sobre todo en mujeres con fototipos oscuros (IV-VI de Fitzpatrick). La evolución es crónica con remisiones y exacerbaciones, asintomática o con prurito leve.¹

Existen variantes clínicas como la papilomatosis punctata y verrugosa, la papilomatosis reticulada y confluyente, y la papilomatosis numular confluyente, siendo más frecuente la papilomatosis reticulada y confluyente. Se localiza preferentemente en cara anterior de tórax, sobre la línea media esternal, interescapular, epigástrica, espalda y con menor frecuencia en cuello, proximidad de extremidades y cara. Los tres elementos clave de esta entidad, referidos por Lee, incluyen criterios clínicos, microbiológicos e histológicos (Cuadro I).²

El diagnóstico diferencial se hace principalmente con pitiriasis versicolor y acantosis *nigricans*. La pitiriasis versicolor es centrípeta, en sus variantes hipo o hiperpigmentada, con escama fina en la superficie y en el examen directo con hidróxido de potasio se observan hifas cortas, gruesas y esporas, también evidentes histológicamente con hematoxilina y eosina. La acantosis *nigricans* se localiza por lo general en cuello y axilas, con lesiones hiperpigmentadas confluentes de aspecto aterciopelado; histológicamente no se distingue de la papilomatosis reticulada y confluyente de

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Alma Angélica Rodríguez-Carreón. Calzada de Tlalpan 4800, Col. Toriello Guerra, 14080 Tlalpan, México D.F., México. Tel.: 5665 3511, extensión 241. Correo electrónico: alanroca80@hotmail.com.

Cuadro I. Elementos clave en papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud²

1. Clínicos:	Lesiones papilomatosas marrón claro, confluentes al centro y reticuladas en la periferia
2. Microbiológicos:	Examen directo y biopsia sin evidencia de elementos fúngicos
3. Histológicos:	Hiperqueratosis, papilomatosis, acantosis, ocasionalmente hipogranulosis y escaso infiltrado inflamatorio perivascular superficial

Gougerot-Carteaud y con frecuencia se asocia con trastornos metabólicos como resistencia a insulina.

Respecto al tratamiento se ha informado el uso tópico de peróxido de benzoilo, lactato de amonio a 12%, urea, tretinoína en crema a 0.1%, clindamicina, hiposulfito de sodio a 20%, disulfuro de selenio shampoo y análogos de vitamina D, así como el uso sistémico de minociclina, etretinato e isotretinoína a dosis de 2 mg/kg/día. Otros autores consideran el uso de antimicóticos tópicos o sistémicos como miconazol, itraconazol o ketoconazol. Se han reportado buenos resultados con cualquiera de estos tratamientos, desafortunadamente con recidiva tras su suspensión.



Figura 1. Aspecto clínico inicial con lesiones papilomatosas confluentes de aspecto reticulado en la periferia.

Presentación del caso

Hombre de 18 años de edad, originario y residente del Distrito Federal, quien acudió al Departamento Dermatología, Hospital General "Manuel Gea González", por dermatosis diseminada a cuello y tronco, afectando sus caras anterior y posterior, caracterizada por lesiones ligeramente elevadas marrón oscuro, que confluían al centro formando placas de aspecto reticulado en la periferia, de un año de evolución, asintomático. Inició con manchas cafés que de manera progresiva aumentaron de número y espesor hasta percibirse elevadas respecto a la superficie cutánea (Figura 1). Había utilizado pasta lassar y ketoconazol tópico por 15 días y 100 mg/día de itraconazol, vía oral, por 1.5 meses, sin observar mejoría. El examen directo para elementos fúngicos fue negativo. El estudio histológico demostró hiperortokeratosis, papilomatosis, acantosis irregular, hiperpigmentación de la capa basal y dilatación de capilares en dermis papilar, sin evidencia de hifas ni esporas (Figura 2). Se integró el diagnóstico de papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud, y se indicó tratamiento con licor de Hoffman salicilado a 4% en espalda y 100 mg/día de minociclina. Las lesiones desaparecieron totalmente al mes de tratamiento y a seis meses de seguimiento no presentaba recidiva (Figura 3).

Discusión

Este caso apoya lo informado previamente por nuestro servicio en 1995, donde se concluyó que esta entidad no es

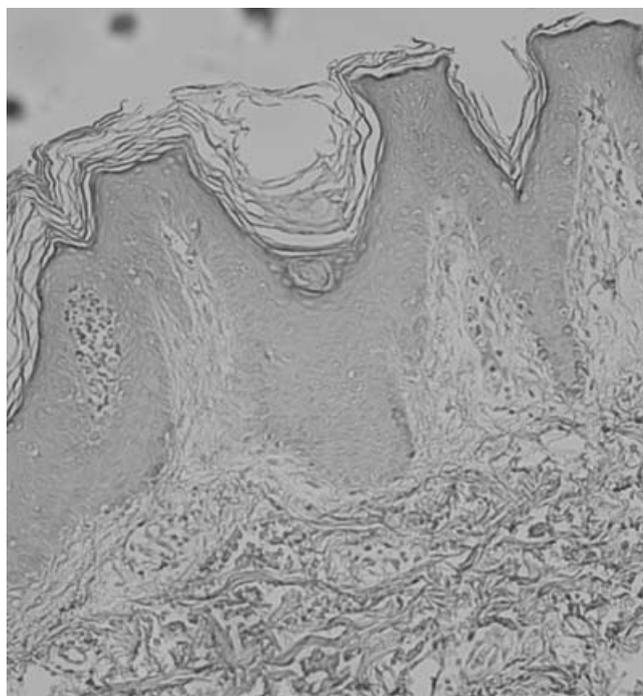


Figura 2. Estudio histológico (10x) donde se evidencia acantosis irregular y papilomatosis.



Figura 3. Aspecto clínico después del tratamiento con minociclina.

de origen fúngico a pesar del hallazgo casi constante de levaduras en el estrato córneo y de los reportes de mejoría tras tratamiento antimicótico.³ Cabe señalar que la mayor parte de los casos que respondieron a antimicóticos también recibieron minociclina o tazaroteno.^{4,5} Por otro lado, se han reseñado casos sin mejoría tras uso de antimicóticos con erradicación de la levadura, por lo que no se puede concluir que la mejoría se deba al tratamiento antimicótico.⁶⁻⁸

Se ha señalado a *Malassezia sp.* como agente causal de papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud, sin embargo, no todos los pacientes son portadores de este agente, tal como el presente caso donde el examen directo, el cultivo y el estudio histopatológico fueron negativos para elementos fúngicos. La presencia de *Malassezia sp.* parece estar más relacionada con la existencia de surcos y prominencias muy pronunciados en la superficie cutánea, de lesiones que histológicamente presentan papilomatosis, como las queratosis seborreicas o la PRCGC, e incluso puede encontrarse hasta en 90% de la población general, por lo que es definitivo que *Malassezia furfur* no es un factor indispensable para el desarrollo de PRCGC. Aún no existen investigaciones que comparen la presencia y cantidad de *Malassezia sp.* tras la aplicación de antimicóticos tópicos contra el simple aseo de las áreas afectadas, puesto que la topografía

involucrada es francamente seborreica y puede favorecer la proliferación.

Consideramos que un factor importante en la fisiopatología de la enfermedad es la queratinización, por la excelente respuesta a queratolíticos u otros moduladores de la queratinización. Así mismo, el aislamiento del actinomiceto *Dietzia sp.* y la excelente respuesta a antibióticos sugiere que se debe investigar más a fondo la influencia de este organismo.^{9,10}

Por otro lado, es bien conocido el efecto antiinflamatorio de las tetraciclinas al disminuir la quimiotaxis y modificar la activación del complemento, además de su efecto antimicrobiano y antiseborreico; sin embargo, aún no está claro el mecanismo mediante el cual los pacientes con papilomatosis reticulada y confluyente mejoran con la administración de minociclina, por lo que deberá plantearse la posibilidad de que participe como modificador o modulador de la queratinización.

Miescher fue el primero en proponer que la papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud se debía a un trastorno en la queratinización.¹¹ Por microscopía electrónica se ha observado aumento de gránulos de queratohialina y células transicionales entre el estrato córneo y la granulosa, hallazgo también presente en condiciones de alto recambio celular y descamación, como la psoriasis.¹² Mediante inmunohistoquímica se ha observado que las lesiones de PRCGC expresan más involucrina, citoqueratina 16 y Ki67, este último, también marcador de proliferación celular.¹³

A pesar de que la papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot-Carteaud es una enfermedad crónica que no confiere morbilidad, es frecuente la búsqueda de atención con la finalidad de mejorar el aspecto físico. El uso de antibióticos como azitromicina o minociclina, queratolíticos y modificadores de la queratinización, debe considerarse dentro de la primera línea de tratamiento, siendo la minociclina la que ha demostrado mejores resultados. De considerar queratolíticos, la vía de administración deberá elegirse de acuerdo con la extensión de las lesiones. Finalmente, los antimicóticos deberán indicarse sólo ante un examen directo y cultivo positivos para *Malassezia sp.*, preferentemente por vía tópica en shampoo, loción o crema.

Referencias

1. Arenas R. Atlas de diagnóstico y tratamiento. México: McGraw Hill; 1996. pp. 399-400.
2. Lee MW. Syringoma resembling confluent and reticulated papillomatosis of Gougerot & Carteaud. *Cutis* 1998;61:227-228.
3. Carbajosa J, Vega-Memije E, Álvarez-Paque, et al. ¿Cuál es la relación del *Pityrosporum ovale* con la papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot y Carteaud? *Dermatología Rev Mex* 1995;39:265-267.
4. Miescher G. Erythrokeratoderma papillaris et reticularis. *Dermatologica* 1954;108:303-309.
5. Jimbow M, Talpash O, Jimbow K. Confluent and reticulated papillomatosis: clinical, light and electron microscopic studies. *Int J Dermatol* 1992;31:480-483.
6. Kanitakis J, Zambruno G, Viac J, Thivolet J. Involucrin expression in keratinization disorders of the skin-a preliminary study. *Br J Dermatol* 1987;117:479-486.
7. Shimizu S, Han-Yaku H. Confluent and reticulated papillomatosis responsive to minocycline. *Dermatology* 1997;194:59-61.
8. Thompson K. Confluent and reticulated papillomatosis (Gougerot-Carteaud). *Acta Derm Venereol Suppl* 1979;59:185-187.

9. **Natarajan S, Mitre D, Jones AL, Goodfellow M, Perry J, Koerner RJ.** Dietzia strain X: A newly described Actinomycete isolated from confluent and reticulated papillomatosis. *Br J Dermatol* 2005;153:825-827.
10. **Scheinfeld N.** Confluent and reticulated papillomatosis: A review of the literature. *Am J Clin Dermatol.* 2006;7:305-313.
11. **Rodríguez M, Cervantes AM.** Papilomatosis reticulada y confluyente de Gougerot y Carteaud. Presentación de un caso. *Rev Cent Dermatol Pascua* 2002;11:49-52.
12. **Villarreal I, Fajardo D, Amiela G.** Papilomatosis confluyente y reticulada de Gougerot-Carteaud: Variedad numular. *Dermatología Rev Mex* 2004;48:219-221.
13. **Ginarte M, Fabeiro JM, Toribio JJ.** Confluent and reticulated papillomatosis (Gougerot-Carteaud) successfully treated with tacalcitol. *Dermatol Treat* 2002;13:27-30.

Coordinador: Dr. Manuel de la Llata-Romero
Colaboradores: Dr. Juan Urrusti-Sanz
Dr. Jesús Aguirre-García
Dr. Adalberto Poblano-Ordóñez

Hombre de 74 años de edad con rinorrea y epistaxis recurrentes

Isabel Alvarado-Cabrero,^{a*} Jazmín De Anda-González,^a Gonzalo Valdez-Duarte^b

^aJefatura del Departamento de Patología del Hospital de Oncología, CMN Siglo XXI, IMSS

^bDepartamento de Anatomía Patológica, Hospital de Pemex, Picacho
México, D.F., México

Presentación del caso

V arón de 74 años de edad originario de Morelos y de oficio carpintero se presentó a consulta con antecedentes de apendicetomía e hipertensión arterial esencial.

Padecimiento: se inició en marzo de 2003 con síntomas inespecíficos como sensación de obstrucción nasal, secreción de narina izquierda en principio hialina, posteriormente fétida y purulenta. Acudió con facultativo quien diagnosticó sinusitis crónica, por lo cual recibió tratamiento con antibióticos y antiinflamatorios, con ligera mejoría de sus síntomas. Dos semanas después se agregó epistaxis, cefalea y sensación de cuerpo extraño. En esta ocasión se dio tratamiento con vasoconstrictores. A pesar del tratamiento, la epistaxis fue cada vez más frecuente y profusa, por lo que en la tercera visita del paciente al médico se le indicó tomografía axial computarizada helicoidal de senos paranasales.

La tomografía axial computarizada helicoidal de senos paranasales mostró una neoplasia sólida, originada en nasofaringe y que ocupaba en su totalidad los senos paranasales, con destrucción ósea de la cavidad nasal, septo y celdillas etmoidales, por lo cual se programó para cirugía.

La biometría hemática, química sanguínea y pruebas de coagulación fueron normales.

En mayo de 2003, el tumor fue resecado en su mayor parte a través de un abordaje craneo facial. Posterior a la cirugía el paciente recibió radioterapia.

Anatomía patológica

En patología se recibió una lesión polipoide, gelatinosa, con áreas hemorrágicas, que midió 6 × 4 cm de eje mayor. En el estudio histológico se observó neoplasia epitelial formada por glándulas de contornos irregulares, revestidas por células

cilíndricas y caliciformes, estratificadas, con núcleos grandes y vesiculosos (Figura 1). En varias áreas, las glándulas estaban inmersas en un material mucoide, basófilo (Figura 2). El diagnóstico fue de adenocarcinoma moderadamente diferenciado de tipo intestinal de senos paranasales.

En enero de 2004, el paciente presentó nuevamente epistaxis, la tomografía axial computarizada mostró masa nodular en seno paranasal izquierdo, por lo que se realizó nueva resección de la lesión. En patología se recibieron múltiples fragmentos de tejido de forma irregular, blanquecinos, de aspecto mucoide, que variaban en diámetro de 0.8 a 1.5 cm. En el estudio microscópico, la neoplasia tenía el mismo aspecto que la inicial, pero con áreas más sólidas y con necrosis (Figuras 3 y 4). El diagnóstico fue de adenocarcinoma tipo intestinal moderadamente diferenciado recidivante.

Discusión

El caso presentado muestra adenocarcinoma tipo intestinal de senos paranasales cuya sintomatología es inespecífica e incluye síntomas obstructivos, epistaxis y dolor; en la mayoría de los casos estos síntomas son secundarios a sinusitis crónica, más que a un proceso neoplásico. En los tumores nasofaríngeos, la sintomatología puede durar desde meses hasta años antes de que se descubra la neoplasia.^{1,2} Cuando aparecen datos más alarmantes como epistaxis repetitiva y profusa, o parálisis facial, se deben realizar estudios de imagen de la región para descartar un proceso neoplásico.

Este tipo de adenocarcinoma se origina de los senos etmoidales en 40% de los casos, de cavidad nasal en 28% y antro maxilar en 23%. Se ha vinculado con exposición a polvos industriales, por lo que predomina en hombres y es esporádico en mujeres.^{3,4}

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Isabel Alvarado-Cabrero. Jefatura del Departamento de Patología, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, 06725 México, D.F., México. Tel.: 5627 6957. Correo electrónico: isa98@prodigy.net.mx



Figura 1. Adenocarcinoma sinonasal. Vista panorámica, glándulas tipo vellosa, alternando con focos de necrosis.

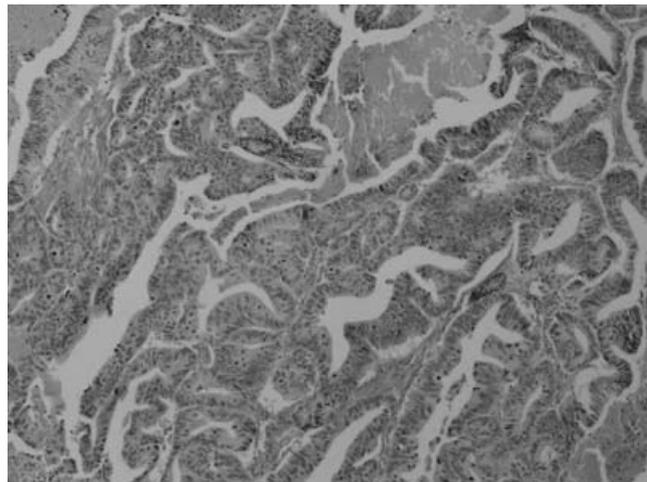


Figura 2. Adenocarcinoma sinonasal. Proliferación de glándulas tipo entérico.

El paciente referido mostró síntomas inespecíficos que progresaron de intensidad, además del antecedente ocupacional de carpintería.^{2,5-8}

Los adenocarcinomas de la región sinusal se originan en el epitelio respiratorio o en las glándulas mucoseras hasta en 60% de los casos, en el senomaxilar. Se clasifican histológicamente como tipo glándula salival y no glándula salival. Los adenocarcinomas tipo no glándula salival se subdividen en tipo intestinal y no intestinal. Los tipo intestinal se subclasifican en papilares, colónicos, sólidos y mucinosos. Batsakis y colaboradores los clasifican como papilar, sésil y alveolar.⁹ El aspecto macroscópico es similar al adenocarcinoma tipo colónico: son tumores polipoides, de aspecto gelatinoso.

Por el patrón morfológico es necesario realizar varios diagnósticos diferenciales, tanto de lesiones benignas (papi-

loma schneideriano) como neoplásicas (carcinoma colónico metastásico, carcinoma de alto grado, linfomas e incluso neuroblastoma olfatorio). Para esto, en múltiples ocasiones es necesario complementar el diagnóstico morfológico con reacciones de inmunohistoquímica; el adenocarcinoma tipo intestinal muestra positividad para citoqueratinas, en especial citoqueratina 7, 20 y cromogranina.¹⁰

La sobrevida del adenocarcinoma tipo glándula salival es de 40 a 60% a 10 años. A diferencia del adenocarcinoma tipo intestinal, el pronóstico depende del grado de diferenciación, su historia natural es de múltiples recurrencias, con mejor sobrevida en pacientes que cuentan con historia de exposición a polvos, ya que se detecta en estadios tempranos. En el paciente reseñado se han documentado dos recurrencias sin metástasis a ganglios linfáticos regionales. Ha recibido radioterapia y continúa en vigilancia.

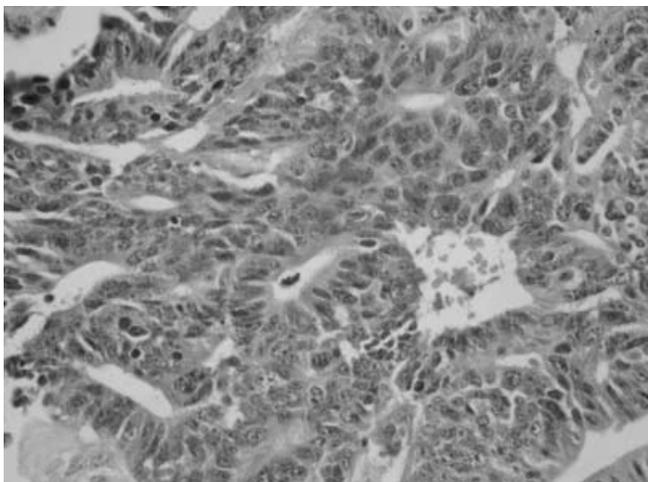


Figura 3. Adenocarcinoma sinonasal. Proliferación glandular con áreas sólidas.

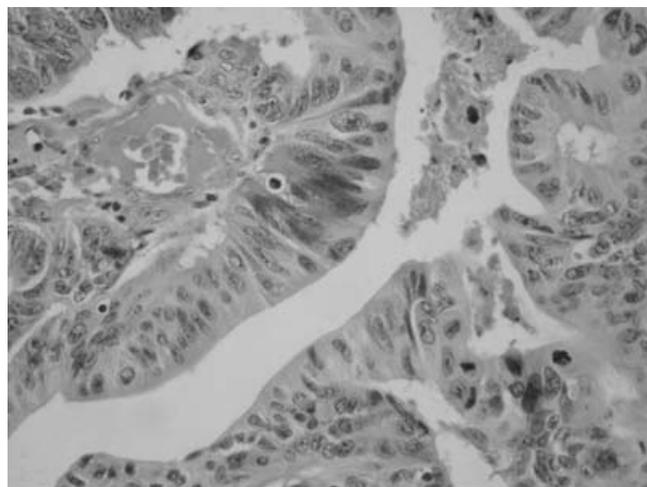


Figura 4. Adenocarcinoma sinonasal. Glándulas revestidas por epitelio cilíndrico estratificado, con células de núcleos pleomórficos.

El tratamiento de elección es la resección total del tumor, con márgenes quirúrgicos adecuados, además, de radioterapia locorregional, como en este paciente.

De forma independiente al grado de diferenciación, todas las formas de adenocarcinoma tipo intestinal son localmente agresivas y suelen ser fatales.

Referencias

1. **Andersen HC, Andersen I, Solgaard J.** Nasal cancers, symptoms and upper airway function in woodworkers. *Br J Ind Med* 1977;34:201-207.
2. **Barnes L.** Intestinal-type adenocarcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses. *Am J Surg Pathol* 1986;10:192-202.
3. **Mills SE, Fechner RE, Cantrel RW.** Aggressive sinonasal lesion resembling normal intestinal mucosa. *Am J Surg Pathol* 1982;6:803-809.
4. **Wenig BM, Hyams VJ, Heffner DK.** Nasopharyngeal papillary adenocarcinoma. A clinicopathologic study of a low-grade carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1988;12:946-953.
5. **Batsakis NJG, Mackay B, Ordoñez NG.** Enteric-type adenocarcinoma of the nasal cavity. An electron microscopic and immunocytochemical study. *Cancer* 1984;54:855-860.
6. **Bernstein JM, Montgomery WW, Balogh K Jr.** Metastatic tumors to the maxilla, nose and paranasal sinuses. *Laryngoscope* 1966;76:621-650.
7. **Heffner DK, Hyams VJ, Hauck KW, Lingeman C.** Low grade adenocarcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses. *Cancer* 1982;50:312-322.
8. **McKinney CD, Mills SE, Franquemont DW.** Sinonasal intestinal type adenocarcinoma. Immunohistochemical profile and comparison with colonic adenocarcinoma. *Mod Pathol* 1995;8:421-426.
9. **Sánchez-Casis G, Devine KD, Weiland LH.** Nasal adenocarcinomas that closely simulate colonic carcinomas. *Cancer* 1971;28:714-772.
10. **Kleinsasser O, Schroeder HG.** Adenocarcinoma of the inner nose alter exposure to Wood dust: morphological findings and relationships between histopathology and clinical behavior in 79 cases. *Arch Otorhinolaryngol* 1988;245:1-15.

¿Una nueva vía terapéutica para controlar el VIH? La molécula PD1 en la inhibición de la respuesta inmune celular

María Candela Iglesias-Chiesa,* Brenda Crabtree-Ramírez y Gustavo Reyes-Terán

Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, SSA., México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 5 de noviembre de 2007

Aceptado: 9 de noviembre de 2007

RESUMEN

Los linfocitos T CD8⁺ protegen contra infecciones virales mediante la secreción de sustancias antivirales y lisis de células infectadas. La pérdida de estas funciones es notoria en algunas infecciones virales crónicas. En la infección crónica por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), los linfocitos T CD8⁺ adquieren este fenotipo "agotado" y su protección disminuye. Recientemente se ha demostrado que la molécula co-inhibitoria PD1 desempeña un papel en este fenotipo "agotado". Dichos hallazgos, abren las puertas a posibilidades de investigación e intervención terapéutica, para lograr restaurar la función de los T CD8⁺ en la infección por VIH.

Palabras clave:

Virus de la inmunodeficiencia humana, molécula co-inhibitoria PD1, linfocitos T CD8⁺, inmunoterapia

SUMMARY

CD8⁺ T cells are crucial in protecting against viral infections by secreting antiviral factors and lysing infected cells. The loss of these functions is a hallmark of various chronic viral infections. In HIV chronic infection, CD8⁺ T cells develop this exhausted phenotype and their protection capacities diminish. Recently, it has been shown that a co-inhibitory molecule called PD-1 plays an important role on this exhausted phenotype. These findings open up the possibility of research targeted to develop therapeutic interventions that may restore CD8⁺ T cell function in chronic HIV infection.

Key words:

Human immunodeficiency virus, co-inhibitory molecule PD1, CD8⁺ T lymphocytes, immunotherapy

La respuesta inmune celular y en particular los linfocitos T CD8⁺ desempeña un papel vital en la protección contra un gran número de infecciones virales. Sin embargo, muchos virus causantes de infecciones crónicas han logrado desarrollar estrategias para evadir esta respuesta. Una de estas estrategias es la inducción de un estado de "agotamiento" en los linfocitos T CD8⁺, caracterizado por la pérdida de funcionalidad de estas células.

La importancia de la respuesta inmune celular y de los linfocitos T CD8⁺ en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha sido claramente establecida. Durante la fase aguda de la infección, la aparición de los linfocitos T CD8⁺ específicos contra el VIH coincide con la disminución temporal de la carga viral posterior al pico de replicación.¹⁻³ En la infección crónica, a pesar de la depleción continua de linfocitos T CD4⁺, se logra mantener una respuesta T CD8⁺ que controla de forma parcial al virus mediante la secreción de sustancias antivirales (citocinas y quimioquinas) y la lisis de células infectadas. Sin embargo, a medida que avanza la infección crónica, la protección conferida por

la respuesta T CD8⁺ disminuye.^{4,5} Los linfocitos T CD8⁺ van perdiendo sus capacidades de secreción de citocinas y de proliferación, es decir, adquieren un fenotipo "agotado", y finalmente pierden la batalla contra el virus.

Artículos recientes han mostrado la importancia de la molécula PD1 (*programmed cell death*, también conocida como CD279) en este fenotipo "agotado" de los linfocitos T en pacientes con infección crónica por VIH.⁶⁻⁸ La molécula PD1 pertenece a la familia de B7/CD28, compuesta por glicoproteínas de superficie que desempeñan un papel en la regulación de la respuesta inmune celular.⁹ Esta molécula puede ser inducida en células T, B y células mieloides *in vitro*.¹⁰ La evidencia experimental acumulada y descrita en la literatura sugiere que PD1 está involucrada en la tolerancia inmune, ya que actúa como regulador negativo de las respuestas de las células T (Figura 1).⁹ La deficiencia de PD1 en ratones favorece la aparición de enfermedades autoinmunes^{11,12} Por otro lado, PD1 también participa en la inducción de la tolerancia de células T contra antígenos virales en ciertos órganos periféricos, en particular el hígado.^{13,14} Los

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: María Candela Iglesias-Chiesa. Calzada de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, Deleg. Tlalpan, 14080 México D.F., México. Tel. y fax: (55) 5666 7985. Correo electrónico: candela.iglesias@cieni.org.mx; candela@iner.gob.mx.

ligandos de PD1 conocidos hasta la fecha son PDL1 (también llamado B7H1 o CD274) y PDL2 (también llamado B7DC o CD273). La expresión de PDL2 se restringe a células dendríticas y algunos macrófagos estimulados,¹⁵⁻¹⁷ mientras que PDL1 tiene una distribución más amplia, expresándose en múltiples células en varios tejidos periféricos^{15,18}. Lo anterior sugiere que PDL1, a través de su interacción con PD1, tendría un papel preponderante en el establecimiento de la tolerancia en los tejidos periféricos.⁹

El interés por estudiar la molécula PD1 en las infecciones virales crónicas, en particular la infección por VIH, vino de un artículo publicado a principios de 2006.¹⁹ En este estudio, los autores utilizan el modelo de infección con el LCMV (virus de la coriomeningitis linfocítica) en ratones, del cual existen cepas que causan una infección aguda y cepas que estable-

cen una infección crónica. Los autores mostraron que la expresión de PD1 en los linfocitos T específicos contra el LCMV, aumentaba y se mantenía elevada durante la infección crónica, a diferencia de su expresión temporal en la infección aguda, la cual mostró ser controlada y resuelta por el sistema inmune del ratón.

El hallazgo más espectacular de este estudio fue la reversión del fenotipo "agotado" de los linfocitos T al inyectar a los ratones un anticuerpo antiPD1 para bloquear la interacción de PD1 con su ligando. Los linfocitos T de los ratones recuperaron sus funciones de secreción de citocinas y proliferación, y lo más importante: se observó drástica disminución de la carga viral en los animales.¹⁹

En seguimiento a este estudio, tres grupos de investigadores diferentes evaluaron si PD1 estaba involucrada en el

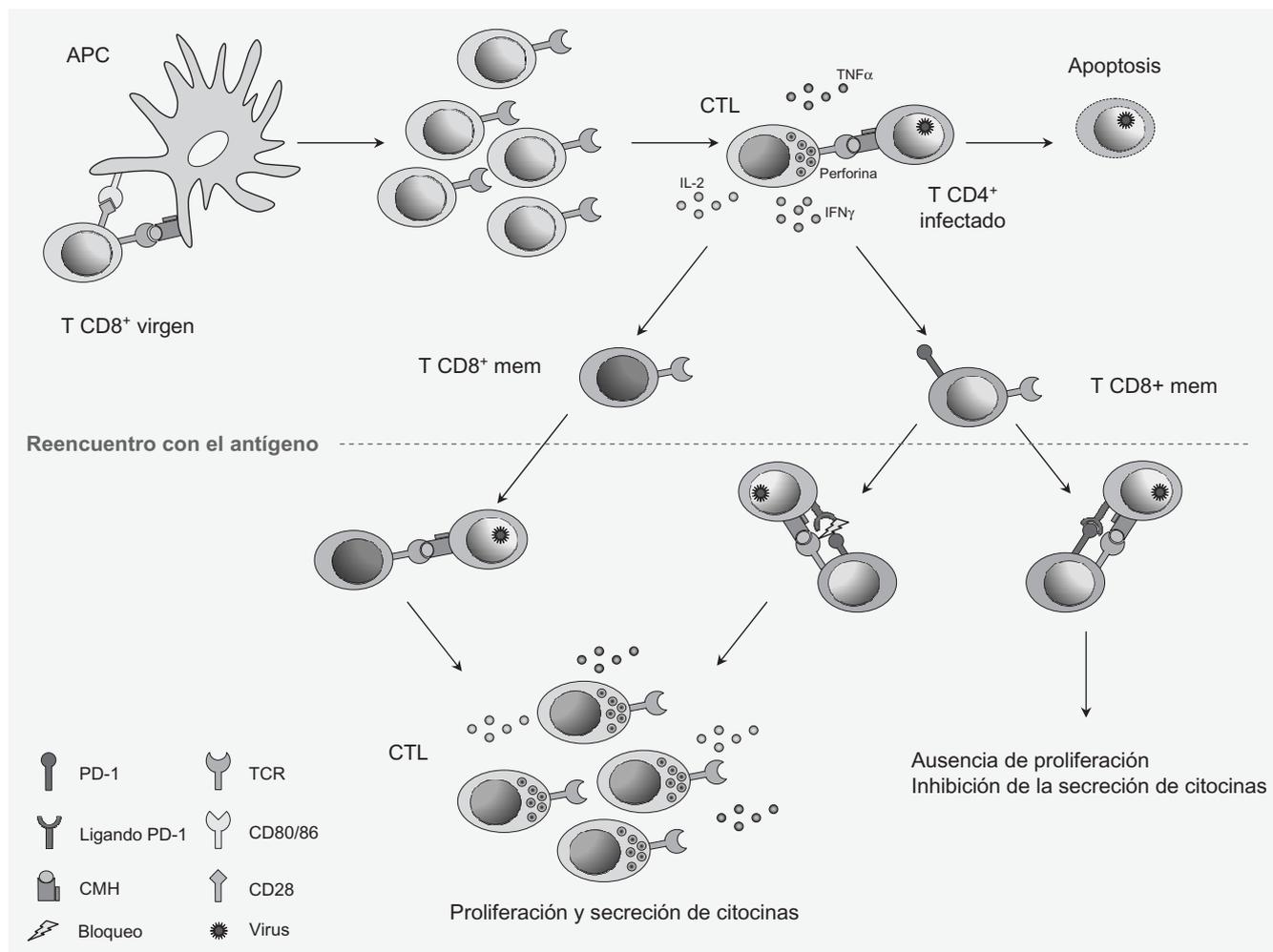


Figura 1. Papel de la molécula PD1 en la pérdida de funcionalidad de los linfocitos T CD8+. Un linfocito T CD8+ virgen se activa al encontrar por primera vez su antígeno en una célula presentadora de antígenos (APC). El linfocito prolifera y se diferencia en un linfocito T citotóxico (CTL) capaz de secretar citocinas y lisar células blancas (en este caso un linfocito T CD4+ infectado por el VIH). Los CTL darán lugar a linfocitos T CD8+ de memoria (mem), capaces de responder rápidamente ante un nuevo estímulo por el mismo antígeno. En las infecciones virales crónicas estos T CD8+ de memoria expresan PD1 y al reencontrarse al antígeno, su proliferación y capacidad de secreción de citocinas se ve inhibida. Estas funciones parecen recuperarse al bloquear la interacción entre PD1 y su ligando.

fenotipo "agotado" de los linfocitos T en pacientes infectados con VIH.⁶⁻⁸ En estudios *in vitro*, los autores encontraron que la expresión de PD1 estaba aumentada en linfocitos T CD8⁺ antiVIH, así como en linfocitos T CD8⁺ y T CD4⁺ totales en personas en la fase crónica de la infección que no tenían tratamiento antirretroviral. Dos de los grupos de investigación encontraron, además, que la expresión de PD1 se asoció con el fenotipo "agotado" de los linfocitos T CD8⁺ y con los marcadores clásicos de progresión de la enfermedad (asociación positiva con carga viral e inversa con el número de linfocitos T CD4⁺). Por otra parte, los pacientes que iniciaron tratamiento antirretroviral y disminuyeron la carga viral a concentraciones indetectables, también disminuyeron la expresión de PD1.^{6,8}

Al agregar *in vitro* un anticuerpo antiPDL1 para bloquear la interacción de PD1 con su ligando, dos de los estudios mostraron recuperación en la capacidad de proliferación de los linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ y de secreción de citocinas de los T CD8⁺, aunque ésta no fue tan impresionante como en el modelo murino.^{6,8} En el tercer estudio no se encontró que la expresión de PD1 estuviera directamente asociada con una incapacidad de producción de citocinas, sino que la presencia de esta molécula aumentaba la sensibilidad a la apoptosis de los linfocitos T CD8⁺ antiVIH.⁷ A pesar de estas discrepancias, estos estudios muestran que PD1 puede influir de forma importante en las funciones efectoras de los linfocitos T CD8⁺ en la infección por el VIH y, sobre todo, muestran que el fenotipo "agotado" es reversible.

Los estudios mencionados abren las puertas a nuevas posibilidades de investigación para una posible intervención terapéutica, utilizando, por ejemplo, un anticuerpo antiPDL1 para restaurar la capacidad de los linfocitos T CD8⁺ de controlar el VIH. Sin embargo, quedan aún muchas preguntas por contestar. Necesitamos aclarar si la expresión de PD1 es sólo un marcador del "agotamiento" de estas células o si su presencia desempeña un papel en el establecimiento del fenotipo "agotado". Además, es necesario determinar si el desenlace de la señalización a través de PD1 es la supresión de la producción de citocinas y de la proliferación o la apoptosis. Es posible imaginar la pérdida progresiva de las funciones de los linfocitos T a medida que aumenta el nivel de expresión de PD1, culminando en la apoptosis para los linfocitos con una mayor expresión de la molécula.

Otro aspecto importante que concierne a una de las funciones principales de los linfocitos T CD8⁺ es la lisis de células infectadas. Si bien los estudios muestran la influencia de PD1 en la proliferación, secreción de citocinas y apoptosis, ninguno abordó si la expresión de PD1 afecta la capacidad citolítica de las células.

Así mismo, es necesario investigar con mayor precisión hasta qué punto es reversible el fenotipo "agotado" de estas células y si una funcionalidad suficiente como para controlar al virus puede ser obtenida a través del bloqueo de la vía de señalización de PD1. Cabe imaginar que una recuperación sustancial de las funciones de los linfocitos T sea únicamente posible en la infección temprana, más no en una infección crónica avanzada, por lo que se requiere estudiar los efectos de PD1 en etapas tempranas de la infección por VIH.

En cuanto a la promisorio utilización terapéutica de un anticuerpo para bloquear PDL1 con el objetivo de mejorar la respuesta inmune celular, es necesario avanzar con cautela. En estudios clínicos recientes donde se ha estudiado la administración de anticuerpos contra otras moléculas de la familia B7/CD28 para ayudar a controlar el melanoma, no sólo no lograron los resultados esperados sino que se estimularon reacciones de tipo autoinmune en algunos de los pacientes evaluados.^{20,21} Recientemente la compañía Medarex en conjunción con Ono Pharmaceuticals, anunció el comienzo de un ensayo clínico con un anticuerpo bloqueador de PD1 en pacientes con enfermedades malignas, puesto que múltiples estudios han mostrado que la expresión de PDL1 en células tumorales es un marcador de mal pronóstico y que el bloqueo de PD1 y su ligando aumenta, al menos *in vitro*, las respuestas de linfocitos T antitumorales.²² Este estudio mostrará si la interrupción temporal de la señalización por PD1 en humanos puede realizarse de forma segura, además de que abrirá el camino a un posible ensayo clínico para evaluar la utilización inmunoterapéutica de un anticuerpo antiPD1 o antiPDL1 en pacientes con infección por VIH.

Referencias

1. Borrow P, Lewicki H, Hahn BH, Shaw GM and Oldstone MB. Virus-specific CD8⁺ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 1994;68: 6103-6110.
2. Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowsky W, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol* 1994;68:4650-4655.
3. Lyles RH, Munoz A, Yamashita TE, Bazmi H, Detels R, Rinaldo CR, et al. Natural history of human immunodeficiency virus type 1 viremia after seroconversion and proximal to AIDS in a large cohort of homosexual men. Multicenter AIDS Cohort Study. *J Infect Dis* 2000;181:872-880.
4. Hoffenbach A, Langlade-Demoyen P, Dadaglio G, Vilmer E, Michel F, Mayaud C, et al. Unusually high frequencies of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in humans. *J Immunol* 1989;142:452-462.
5. Joly P, Guillon JM, Mayaud C, Plata F, Theodorou I, Denis M, et al. Cell-mediated suppression of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 1989;143:2193-2201.
6. Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, Brown JA, Moodley ES, Reddy S, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 2006;443:350-354.
7. Petrovas C, Casazza JP, Brenchley JM, Price DA, Gostick E, Adams WC, et al. PD-1 is a regulator of virus-specific CD8⁺ T cell survival in HIV infection. *J Exp Med* 2006;203:2281-2292.
8. Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, Said EA, Wang G, Gimmig S, et al. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8⁺ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat Med* 2006;12:1198-1202.
9. Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol* 2004;4:336-347.
10. Agata Y, Kawasaki A, Nishimura H, Ishida Y, Tsubata T, Yagita H, et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int Immunol* 1996;8:765-772.
11. Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 1999;11:141-151.
12. Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science* 2001;291:319-322.
13. Isogawa M, Furuichi Y, Chisari FV. Oscillating CD8(+) T cell effector functions after antigen recognition in the liver. *Immunity* 2005;23:53-63.
14. Iwai Y, Terawaki S, Ikegawa M, Okazaki T, Honjo T. PD-1 inhibits antiviral immunity at the effector phase in the liver. *J Exp Med* 2003;198:39-50.
15. Ishida M, Iwai Y, Tanaka Y, Okazaki T, Freeman GJ, Minato N, et al. Differential expression of PD-L1 and PD-L2, ligands for an inhibitory receptor PD-1, in the cells of lymphohematopoietic tissues. *Immunol Lett* 2002;84:57-62.

16. **Loke P, Allison JP.** PD-L1 and PD-L2 are differentially regulated by Th1 and Th2 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5336-5341.
17. **Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, Matsuda H, Aoki M, Tanno Y, et al.** Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J Immunol* 2002;169:5538-5545.
18. **Liang SC, Latchman YE, Buhlmann JE, Tomczak MF, Horwitz BH, Freeman GJ, et al.** Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses. *Eur J Immunol* 2003;33:2706-2716.
19. **Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, et al.** Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006;439:682-687.
20. **Phan GQ, Yang JC, Sherry RM, Hwu P, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, et al.** Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8372-8377.
21. **Wadman M.** London's disastrous drug trial has serious side effects for research. *Nature* 2006;440:388-389.
22. **Blank C, Kuball J, Voelkl S, Wiendl H, Becker B, Walter B, et al.** Blockade of PD-L1 (B7-H1) augments human tumor-specific T cell responses in vitro. *Int J Cancer* 2006;119:317-327.