Volumen 12
Número 2
Año 2019

REVISTA DE
FARMACOLOGÍA DE CHILE

www.sofarchi.cl

Órgano oficial de la Sociedad de Farmacología de Chile

¡BIENVENIDOS AL CONGRESO ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE!

CONCEPCIÓN 2019

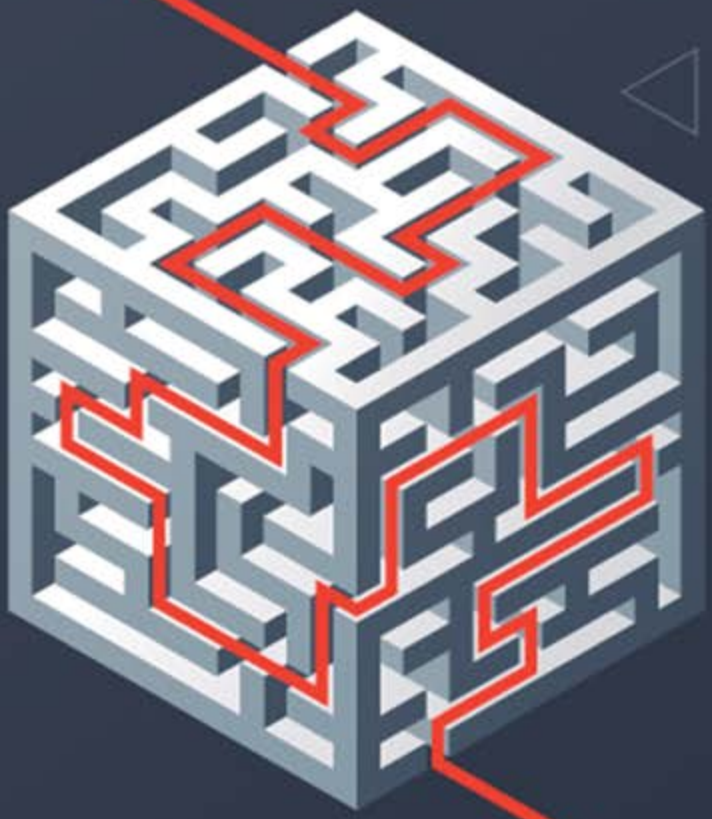
EL EVENTO CIENTÍFICO CONTARÁ CON LA PARTICIPACIÓN DE 5 CONFERENCISTAS INTERNACIONALES, 70 EXPOSITORES EN SIMPOSIOS Y MINI SIMPOSIOS, JUNTO A CERCA DE 200 JÓVENES CIENTÍFICOS QUE EXHIBIRÁN LOS AVANCES OBTENIDOS EN SUS DIFERENTES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.

SOFARCHI
SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

Ver más, hacer más

FOUNDATION MEDICINE®

Roche



EL CAMINO HACIA LA MEDICINA PERSONALIZADA

Descubre el camino a seguir para el tratamiento de sus pacientes con cáncer, utilizando la detallada información del perfilamiento genómico integral de Foundation Medicine[1-6]

Directiva

Presidente:
Dr. Jorge Fuentealba A.
Universidad de Concepción
jorgefuentealba@udec.cl

Vicepresidente:
Dr. Javier Bravo V.
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
javier.bravo@pucv.cl

Secretario General:
Dr. Claudio Coddou A.
Universidad Católica del Norte
ccoddou@ucn.cl

Tesorero:
Dr. Ramón Sotomayor Z.
Universidad de Valparaíso
ramon.sotomayor@uv.cl

Past-presidente:
Dr. Edgar Pastene N.
Universidad de Concepción
edgar.pastene@gmail.com

Directores:
Dra. Georgina Renard D.
Universidad de Santiago
geormrenard@gmail.com

Dr. Gustavo Moraga C.
Universidad de Concepción
gumoraga@gmail.com

Dra. Viviana Noriega S.
Universidad de Chile
viviananoriega@gmail.com

Dr. Gonzalo Cruz N.
Universidad Valparaíso
gonzalo.cruz@uv.cl

SOFARCHI
SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

La Revista de Farmacología de Chile tiene un panel de editores conformado por connotados farmacólogos nacionales que son miembros de la Sociedad de Farmacología de Chile y académicos de las principales universidades chilenas.

Comité Editorial

Dr. Ramón Sotomayor Z., Editor en Jefe
(Universidad de Valparaíso, Chile)

Dra. Georgina Renard C., Co-Editor, Psicofarmacología
(Universidad de Santiago de Chile, Chile)

Dr. Mario Rivera M., Psicofarmacología
(Universidad de Chile, Chile)

Dr. Jorge Fuentealba A., Neurofarmacología
(Universidad de Concepción, Chile)

Dra. Viviana Noriega S., Farmacología Clínica
(Universidad de Chile, Chile)

Dr. Miguel Reyes P., Química Médica
(Universidad de Santiago de Chile, Chile)

Dra. María Angélica Rivarola, Neuroendocrinología
(Universidad Nacional de Córdova, Argentina)

Dr. Juan Pablo García Huidobro T., Farmacodinamia
(Universidad de Santiago de Chile, Chile)

Dra. Marcela Julio-Pieper, Farmacología Gastrointestinal
(P. Universidad Católica de Valparaíso, Chile)

Dra. Gonzalo Cruz N., Farmacología Endocrina
(Universidad de Valparaíso, Chile)

Dra. Carolina Gómez G., Ciencias Farmacéuticas
(Universidad de Concepción, Chile)

Dr. Edgar Pastene N., Fitofarmacología
(Universidad de Concepción, Chile)

Dr. Rodrigo Castillo P., Farmacología Cardiovascular
(Universidad de Chile, Chile)

Dr. Patricio Iturriaga V., Química Médica
(Universidad de La Frontera, Chile)

Dr. Mauricio Dorfman P., Metabolismo y Diabetes
(University of Washington, Seattle-USA)

Dr. Javier Bravo V., Neurofarmacología
(P. Universidad Católica de Valparaíso, Chile)

Revista de Farmacología de Chile es publicada por la Sociedad de Farmacología de Chile Derechos Reservados a la Sociedad de Farmacología de Chile. ISSN 0718-8811 versión impresa ISSN 0718-882X versión digital Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida por otro medio -electrónico, mecánico, fotocopiador, registrador, etcétera- sin permiso previo por escrito del comité editorial.
IMPRESO EN TRAMA IMPRESORES.

Indice

Volumen 12
Número 2
Año 2019

Página 6:
Editorial.

Página 8:
La sociedad y Sofarchi: un vínculo que se expande.

Página 10:
Sociedades Científicas se reúnen con Ministro Andrés Couve para conocer lineamientos para promover investigación.

Página 12:
Directiva de Sofarchi visita Coquimbo para promover la participación de socios.

Página 14:
Delegación de Sofarchi participó en el Congreso de la Sociedad Española de Farmacología

Página 16:
Cien años de Química y Farmacia UdeC

Página 18:
Formando profesionales en las grandes líneas de desarrollo científico básico y clínico de la farmacología.

Página 22:
Magíster en Neurobiología: Formando especialistas en investigación experimental.

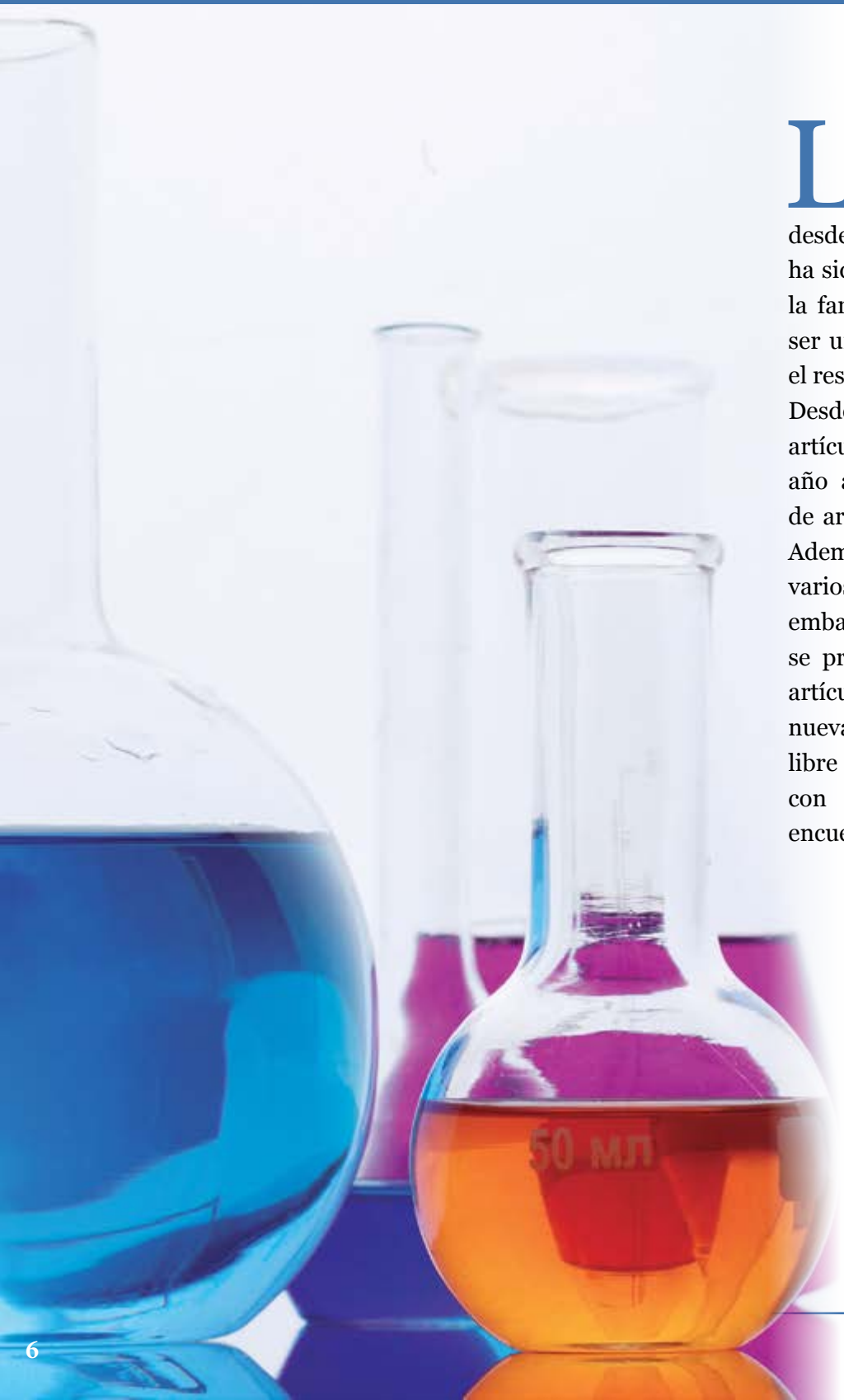
Página 26:
La formación de doctores: Nuevas tendencias y oportunidades de internacionalización.

Página 30:
Efectos del ozono médico sobre la Peroxidación Lipídica y la actividad de la Aldehído Deshidrogenasa 2 cerebral en ratas alcohólicas en abstinencia.

Página 42:
Función fisiológica y fisiopatológica de las membranas asociadas a mitocondrias (MAMs): Posible rol en el procesamiento de APP y en la disfunción mitocondrial en la Enfermedad de Alzheimer.

Página 50:
Caracterización del daño articular en pacientes hemofílicos adultos del Servicio de Salud Viña del Mar - Quillota (SSVQ)

SOFARCHI
SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE



La Revista de Farmacología de Chile es una revista de información científica vigente desde el año 2008. Su objetivo inicial ha sido ser un órgano de difusión de la farmacología en Chile para luego ser una plataforma de difusión para el resto de Latinoamérica.

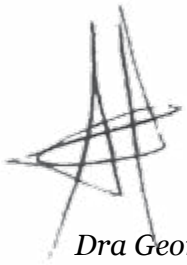
Desde sus comienzos, la recepción de artículos científicos fue aumentando año a año, llegando a un máximo de artículos publicados el año 2014. Además, hemos logrado contar con varios artículos internacionales. Sin embargo, desde esa fecha en adelante se produjo una disminución en los artículos recibidos que coincidió con nuevas revistas de la disciplina de libre acceso y una gran competencia con revistas del área que ya se encuentran indexadas.

Editorial

En este sentido, se nos ha planteado un gran desafío para los próximos años en pro de revertir esta tendencia. Por un lado, debemos aumentar la difusión y distribución de la revista a nivel latinoamericano y, asimismo, estamos evaluando la posibilidad de asociarnos a una casa editorial internacional y cambiar el idioma de publicación de nuestra Revista.

En el volumen de este año, hemos logrado volver a aumentar el número de Revistas publicadas con respecto al año anterior. En este número de la Revista se publican dos artículos originales internacionales (Cuba y España) y dos artículos nacionales. Además, teniendo en cuenta que este número corresponde al XLI Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología, se publican los resúmenes correspondientes a las conferencias, simposios y paneles que serán presentados del 4 al 8 de noviembre en la sede del congreso, Universidad de Concepción.

Nuevamente invitamos a todos a ser parte del crecimiento de la Revista de Farmacología de Chile y lograr difundir información científica del área a nivel internacional.



Dra Georgina Renard
Co - Editora

Directora por Santiago Sociedad de Farmacología de Chile

"Por un lado, debemos aumentar la difusión y distribución de la revista a nivel Latinoamericano y, asimismo, estamos evaluando la posibilidad de asociarnos a una casa editorial internacional y cambiar el idioma de publicación de nuestra Revista".

La sociedad y Sofarchi: un vínculo que se expande

Estimadas socias y socios:

Estimadas socias y socios, junto con extenderles un cordial saludo desde nuestra directiva, les invitamos a leer nuestro nuevo número de la revista, Editado con el incansable trabajo del Dr. Ramón Sotomayor como editor en jefe, Dra. Georgina Renard como co-Editora, Fabiola Valdebenito, nuestra periodista, y todos quienes de una u otra forma colaboran para que la revista siga activamente siendo un canal de comunicación con ustedes y la sociedad. En este número podrán encontrar el informe de algunas de las más recientes actividades donde nuestra sociedad ha estado presente, actualidad científica, artículos científicos originales y revisiones, entre otros.

Respecto a la actualidad científica nacional, durante el primer semestre, hemos participado en una interesante reunión con el Ministro de Ciencia Dr. Andres Couve, quien nos contó los avances que su ministerio ha experimentado, y las metas de mediano y largo plazo que se han impuesto, como el acercar la actividad científica al centro de atención de la sociedad. En esta conversación, le expresamos al Ministro la total disposición de la SOFARCHI para ser un modulador positivo en esta tarea, y pusimos a su disposición los diferentes canales de comunicación de nuestra sociedad para ayudar en ese objetivo.

En este plan de acercar la ciencia a la sociedad, la SOFARCHI realizó la pasada reunión de la Directiva en la ciudad de Coquimbo. Esta reunión fue realizada en la Facultad de Medicina de la Universidad Católica del Norte, reuniéndose con nosotros el decano de la facultad con quien discutimos nuevas oportunidades de integración. Además, como actividad de divulgación a la sociedad se realizó una charla científica a alumnos del Colegio Alemán de La Serena.

A nivel internacional, 4 miembros de nuestra sociedad nos representaron en la Reunión Anual de la Sociedad Española de Farmacología, realizada en el pasado mes de Julio en La Palma de Gran Canaria, España. En este congreso, donde además participaron representantes de las sociedades de farmacología de Alemania y Holanda, pudimos compartir e intercambiar experiencias y generar colaboraciones entre nuestras sociedades que esperamos den sus frutos en el mediano plazo.

Por último, estamos trabajando sin pausa, y con nuestros mejores esfuerzos, para organizar nuestra próxima reunión en Noviembre, la que contará con importantes expositores nacionales e internacionales en 7 conferencias plenarias, 10 simposios, comunicaciones orales, comunicaciones en póster y actividades satélites que complementaran una intensa jornada científica de 5 días.

A nivel personal, tengo el secreto anhelo que puedan re-descubrir la belleza del Campus Concepción, en el centenario de la Universidad de Concepción, y sus alrededores, y les reitero mi más ferviente invitación para que nos acompañen en esta jornada científica que nos prepara varias sorpresas.

Un atento saludo a todos Uds. y disfruten de este nuevo número de nuestra nueva revista

Dr. Jorge Fuentealba Arcos
Presidente SOFARCHI

"En esta conversación, le expresamos al Ministro la total disposición de la Sofarchi para ser un modulador positivo en esta tarea, y pusimos a su disposición los diferentes canales de comunicación de nuestra sociedad para ayudar en ese objetivo".

PRESIDENTE

Dr. Jorge Fuentealba A.,
Universidad de Concepción
jorgefuentealba@udec.cl

VICE-PRESIDENTE

Dr. Javier Bravo V.,
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
javier.bravo@pucv.cl

SECRETARIO GENERAL

Dr. Claudio Coddou,
Universidad Católica del Norte
ccoddou@ucn.cl

TESORERO

Dr. Ramón Sotomayor-Zárate,
Universidad de Valparaíso
ramon.sotomayor@uv.cl

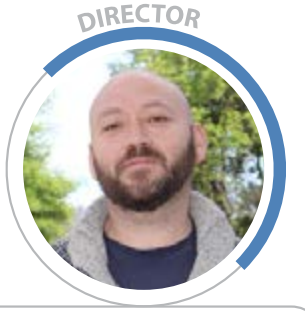
PAST-PRESIDENT

Dr. Edgar Pastene,
Universidad del Biobío
edgar.pastene@gmail.com

DIRECTOR

Dra. Georgina M. Renard,
Universidad de Santiago
geormrenard@gmail.com

DIRECTOR



Dr. Gustavo Moraga,
Universidad de Concepción
gumoraga@gmail.com

DIRECTOR

Dra. Viviana Noriega,
Universidad de Chile
viviananoriega@gmail.com

DIRECTOR

Dr. Gonzalo Cruz,
Universidad de Valparaíso
gonzalo.cruz@uv.cl

SOFARCHI
SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

"El encuentro, realizado en el Palacio de La Moneda, contó con la participación de cerca de 25 organizaciones dedicadas a la investigación y promoción de diversas áreas del saber, entre ellas, la Sociedad de Farmacología de Chile".

Sociedades científicas se reúnen con Ministro Andrés Couve para conocer lineamientos para promover investigación

Con el objetivo de entregar detalles sobre el estado de avance de la instalación del Ministerio de Ciencias, Tecnología e Innovación, además de exponer sobre las directrices que se van a implementar para el desarrollo de investigación, se realizó una reunión entre el jefe de la cartera, Andrés Couve, y los representantes de las principales sociedades científicas del país.

El encuentro, realizado en el Palacio de La Moneda, contó con la participación de cerca de 25 organizaciones dedicadas a la investigación y promoción de diversas áreas del saber, entre ellas la Sociedad de Farmacología de Chile Sofarchi. Su presidente, Jorge Fuentealba, indicó que "la actividad ha sido muy productiva, en el sentido de poder avizorar cuáles son las etapas que ha cumplido el Ministerio y cuáles son las que quedan dentro de la instalación de esta importante repartición del estado que va a potenciar la investigación científica".

Uno de los ejes de la reunión giró en torno a las estrategias que las organizaciones podrían desarrollar en conjunto para contribuir a potenciar el desarrollo de la ciencia en Chile. En este sentido, Fuentealba agregó que "la principal preocupación que manifesté al ministro dice en relación a cómo las 20 o 25 sociedades que estábamos en la mesa podíamos contribuir a potenciar el desarrollo de la ciencia en términos de darle difusión, de demostrar la calidad de la investigación que se hace en los distintos ámbitos, desde las ciencias sociales hasta las ciencias naturales y exactas", expuso.

El líder de la Sofarchi añadió que "el ministro dijo que confía plenamente en que vamos a ser actores activos y relevantes en la difusión y fortalecimiento de los conceptos de ciencia y de generación de conocimientos", puntualizó.

"La principal preocupación que manifesté al ministro dice en relación a cómo las 20 o 25 sociedades que estábamos en la mesa podíamos contribuir a potenciar el desarrollo de la ciencia en términos de darle difusión, de demostrar la calidad de la investigación que se hace en los distintos ámbitos, desde las ciencias sociales hasta las ciencias naturales y exactas", Jorge Fuentealba A.

Hasta La Serena, en la región de Coquimbo, se trasladó la directiva de la Sociedad de Farmacología de Chile, con el objeto de realizar diversas actividades orientadas a fortalecer el desarrollo de este organismo científico en regiones y a motivar la incorporación de nuevos socios.

La visita estuvo encabezada por su presidente, Jorge Fuentealba, acompañado por el Vicepresidente de la entidad, Ramón Sotomayor, junto al académico de la UCN y Secretario General de Sofarchi, Claudio Coddou y las directoras del organismo, Georgina Renard y Viviana Noriega.

El equipo sostuvo un encuentro con el Decano de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica del Norte, Osvaldo Iribarren, quien pudo conocer detalles sobre las principales líneas de trabajo que está desarrollando la organización durante este año, lo que permitió sentar las bases para próximas acciones conjuntas.

"La idea de reunirnos en Coquimbo es potenciar las actividades en regiones y fortalecer el interés de los científicos de esta zona del país para integrarse a Sofarchi y colaborar, de esta forma, al desarrollo de la disciplina", señaló Jorge Fuentealba. Agregó que "actividades como estas refuerzan nuestro rol social, dando a conocer la ciencia y la farmacología. Por eso, estamos muy contentos con la recepción que hemos tenido de parte del Decano, ya que es importante contar con ese entusiasmo y creo firmemente que será un motor de empuje para esta iniciativa en la región".

En este sentido, el decano de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica del Norte, Osvaldo Iribarren, comentó que "la UCN sustenta su funcionamiento y su desarrollo en tres pilares: la docencia, la investigación y

Directiva de Sofarchi visita Coquimbo para promover la participación de socios

la vinculación. Para nosotros, como Facultad de Medicina, tenemos que ir empujando la frontera del conocimiento cada vez mas y una sociedad científica como Sofarchi representa exactamente está construcción de vínculos"
En este sentido, agregó que esta asociación "nos permite ir abriendo otros lazos sutiles, pero muy firmes, con el resto de las universidades, porque la Sofarchi está en la Universidad de Concepción, en la de Valparaíso, en la de Santiago, etcétera; así es que para nosotros no puede ser mejor y más bienvenida", manifestó.
Respecto a las actividades a realizar en conjunto, Irribarren indicó que "me invitaron a la inauguración del Congreso de Sofarchi que se realizará en noviembre próximo en Concepción, lo cual me parece muy bien porque está en perfecta sintonía con la vinculación cada vez más fuerte que pretendo hacer con el ambiente académico", expuso.

El presidente de Sofarchi, Jorge Fuentealba, se reunió con el Decano de la Universidad Católica del Norte, Doctor Osvaldo Iribarren; para exponer sobre los principales lineamientos de trabajo de la organización farmacológica. Con ello, se busca sentar las bases de futuras acciones conjuntas.

Ciencia más cerca

Otra de las actividades en las que participó la directiva se desarrolló en el Colegio Alemán de La Serena, donde cerca de 70 escolares de octavo básico a segundo medio asistieron a la charla "Mirando la naturaleza, el laboratorio maestro".
"Tuvimos una grata jornada con niños y jóvenes que nos dieron una muy buena recepción, fueron muy interactivos, hicieron muchas preguntas. Fue muy grato sentir que en Coquimbo hay un sustrato para poder desarrollar y potenciar esta área, que permitiría favorecer el desarrollo de la biomedicina en la región", explicó Fuentealba.
A través de la exposición, los escolares aprendieron sobre el valor de la observación como mecanismo para entender diversos procesos de la naturaleza, desde donde la humanidad ha extraído fármacos desde tiempos inmemoriales. El investigador agregó que "hoy en día esos principios farmacológicos son estudiados científicamente y aplicados a la biomedicina, para transformarlos en medicamentos que permiten mejorar la calidad de vida de millones de personas en todo el mundo y que tienen su origen en este laboratorio maestro que es la naturaleza".
Otro de los presentes en la jornada fue el secretario de la organización científica, Claudio Coddou, quien comentó que "es muy importante tener estos espacios, porque gracias al link con la Sociedad de Farmacología estamos promoviendo la Universidad y generando interés de los estudiantes hacia este mundo de la ciencia".

Delegación de Sofarchi participó en el Congreso de la Sociedad Española de Farmacología

Con la colaboración internacional de las asociaciones farmacológicas alemana, holandesa, irlandesa y chilena, se efectuó el 39° Congreso Anual de la Sociedad Española de Farmacología (Socesfa), realizado por primera vez en Las Palmas de Gran Canaria. Más de 60 expositores de diversas partes de globo divididos en 13 sesiones de simposios, compartieron sus conocimientos con farmacólogos, científicos, médicos, profesionales de área de la salud, pacientes y representantes de la industria farmacéutica, convirtiendo a este encuentro en uno de los más relevantes del planeta en su tipo.

La delegación de la Sofarchi estuvo integrada por los doctores Jorge Fuentealba y Leonardo Guzmán, de la Universidad de Concepción; junto a Ramón Sotomayor, de la Universidad Católica de Valparaíso y Guillermo Díaz, de la Universidad de Chile.

Respecto a esta participación, el presidente de la Sofarchi, Jorge Fuentealba, indicó que "como directiva nos parece muy relevante que una Sociedad tan grande como la española nos reconozca y nos trate como pares, invitándonos a participar en su Congreso". El directivo agregó que "fue una actividad muy interesante, científicamente de alto nivel y con bastantes oportunidades para el intercambio, para la vinculación y para el desarrollo de articulaciones de estudiantes y de trabajos de investigación", expuso.

Los representantes nacionales realizaron cuatro exposiciones plenarias dentro de los simposios, la primera a cargo del doctor Guillermo Díaz, quien se refirió al rol del fibroblasto cardíaco en procesos inflamatorios y la interacción con células inmunes.

En tanto, el doctor Ramón Sotomayor abordó la programación de neuronas dopaminérgicas por exposición temprana a hormonas sexuales y su posible efecto en la vulnerabilidad ante la drogadicción. Además, valoró la posibilidad que otorgan estos eventos internacionales para potenciar el intercambio de experiencias en nuestro país, "nos contactamos con Michael Spedding, secretario gene-

ral de la International Union of Basic & Clinical Pharmacology para invitar a la representante de la UPHAR el próximo año a Chile. Además, logramos confirmar la participación de la Doctora Concha Peiró, de la Universidad Autónoma de Madrid y miembro de la directiva de la Socesfar a nuestro próximo Congreso Anual de Sofarchi que se realizará en Concepción durante este año", detalló el doctor Sotomayor.

Aporte científico

La farmacología es entendida como una ciencia necesariamente interdisciplinaria, por lo que en el Congreso se trataron temáticas tan diversas como cáncer, receptores, diseño de drogas, farmacogenética, farmacología clínica en áreas de endocrinología, gastroenterología y respiratorios; además de farmacología del dolor y la inflamación, entre otros.

El equipo de académicos de la Universidad de Concepción presente en este 39° Congreso de la Socesfar, participó tanto en el área de envejecimiento, considerando desde los mecanismos hasta las perspectivas farmacológicas; como en nuevos avances en neurofarmacología.

En el desarrollo de este último tema, abordado en un simposio en el que expusieron otros tres investigadores; participó el Doctor Leonardo Guzmán con su charla titulada "efectos de los dendrímeros PAMAM en la funcionalidad neuronal In Vitro". El investigador detalló que en la ocasión "se mostraron avances en neurofármacos que se están desarrollando para ayudar en procesos de adicciones; también se mostraron investigaciones sobre intervenciones para la liberación de neurotransmisiones y, por mi parte, mostré cómo los nanotransportadores podrían ayudar a la entrega de fármacos en sitios sinápticos", detalló.

En tanto, Jorge Fuentealba presentó "Sobreexpresión de P2xr contribuye a la toxicidad por Beta Amiloides: nuevo blanco farmacológico para la AD", en la que expone parte de su investigación orientada al análisis de los mecanismos celulares y moleculares que inducen el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, especialmente la Enfermedad de Alzheimer.

Cuatro representantes de la organización científica chilena fueron invitados por la Socesfar para exponer parte de sus investigaciones. En la actividad también participaron sociedades farmacológicas de Holanda, Irlanda y Alemania.

Cien años de Química

"Hace exactamente 100 años tenía lugar la primera clase del curso de Farmacia, dictada por don Salvador Gálvez Rojas a 28 estudiantes, todas ellas mujeres, constituyéndose en una de las primeras carreras universitarias en el sur de Chile que ofrecía una opción de educación superior para las mujeres del país".

La conmemoración de los 100 años de la Carrera de Química y Farmacia, de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción en este año 2019, constituye uno de los más importantes hitos en la historia de la también centenaria Universidad de Concepción y es especialmente significativa para todos quienes hemos tenido el privilegio de realizar nuestros estudios universitarios en esta Alma Mater.

Hace exactamente 100 años tenía lugar la primera clase del curso de Farmacia, dictada por don Salvador Gálvez Rojas a 28 estudiantes, todas ellas mujeres, constituyéndose en una de las primeras carreras universitarias en el sur de Chile que ofrecía una opción de educación superior para las mujeres del país.

Cien años desde aquel sencillo pero visionario comienzo en que nacía la carrera de Química y Farmacia y al mismo tiempo, la entonces, Escuela de Farmacia, cuando la creación de la carrera - la segunda históricamente en el país - fue promovida con decisión por los fundadores desde el momento en que el Comité Pro Universidad y Hospital Clínico creado en 1917 empieza a definir la forma en que la novel Casa de Estudios iniciaría sus actividades.

y Farmacia UdeC

Respondiendo a una sentida necesidad, no sólo de la región sino del país, pues con su creación se buscaba el mejoramiento sanitario de la población.

Cien años después, la Facultad de Farmacia ha formado más de 2.800 profesionales Químicos Farmacéuticos, que se desempeñan en los distintos ámbitos del ejercicio profesional, representando un importante aporte al desarrollo del país, particularmente en el sector sanitario, el sector productivo, la academia y también en la política universitaria y ciudadana.

En este contexto es relevante destacar la figura de Ligia Gargallo González, químico farmacéutica, académica e investigadora, Premio Nacional de Ciencias Naturales 2014 y Premio L'Oreal UNESCO 2007 para Mujeres en Ciencias. Del mismo modo, reconocer el esfuerzo, compromiso, dedicación y liderazgo de recordados maestros y profesores.

Durante estos 100 años son muchísimos los hitos que marcan la historia de la Carrera de Química y Farmacia: la Farmacia Modelo en 1920, un centro de práctica, único e innovador para la época, con un fuerte sentido social; la estructura y organización definitiva como Facultad en 1927; el surgimiento de nuevas iniciativas de formación profesional como la creación de las carreras de Bioquímica en 1957 y de Nutrición y Dietética en 1975; las fiestas universitarias, juegos florales y carnavales de antaño; la difícil y anhelada Autorización Ministerial para que la Universidad de Concepción pudiera otorgar los títulos de Químico Farmacéutico y de Bioquímico hacia fines de 1974; la ampliación del actual edificio y el surgimiento del Postgrado. En este ámbito, la Facultad de Farmacia ofrece actualmente, un programa de doctorado, 3 programas de magíster y el recientemente creado programa de Especialización en Farmacia Clínica. Sumando también Cursos, Diplomas y Diplomados.

La investigación como pilar para la generación de nuevo conocimiento también ha sido un área destacada en el quehacer de la Facultad de Farmacia, reflejado en publicaciones en revistas de corriente principal y adjudicación de proyectos de investigación con financiamiento externo (Fondecyt, Fondef, entre otros). Desde 2015 a la fecha, la Facultad ha adjudicado 4 iniciativas Fondequip para la adquisición de equipamiento mediano que ha significado para la Universidad de Concepción la atracción de más de 1.000 millones de pesos para investigación, permitiendo el desarrollo y crecimiento de la Facultad y la institución, además de mayores posibilidades de formación terminal para estudiantes de pre y postgrado.

Muchos desafíos y tareas se proyectan para la Facultad, sin embargo, es necesario destacar nuevamente el perenne sello UdeC del profesional químico farmacéutico, esa característica tan propia que permite reconocernos con nuestros pares cualquiera que sea el área laboral y lugar en que nos encontremos, haciendo que nuestros profesionales sean preferidos y respetados.

La invitación es a seguir construyendo y nutriendo con orgullo, respeto, empatía, comportamiento ético y dedicación esta hermosa profesión farmacéutica, para proyectarla exitosa hacia el futuro.

Dr. Ricardo Godoy Ramos
Decano Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

"Cien años después, la Facultad de Farmacia ha formado más de 2.800 profesionales Químicos Farmacéuticos, que se desempeñan en los distintos ámbitos del ejercicio profesional, representando un importante aporte al desarrollo del país, particularmente en el sector sanitario, el sector productivo, la academia y también en la política universitaria y ciudadana".

Formando profesionales en las grandes líneas de desarrollo científico básico y clínico de la farmacología

La necesidad de contar con especialistas que comprendieran en profundidad las bases modernas de la farmacología del Sistema Nervioso y que, además, adoptaran conceptos biomédicos relacionados con la farmacología molecular y clínica, motivó en 2012 a un equipo de académicos de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso a generar nuevas instancias de formación continua.

Fue así como el Doctor Ramón Sotomayor, académico del Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias de esta casa de estudios, encabezó la idea de promover el desarrollo de un programa de postgrado en Neurofarmacología. El investigador, quien actualmente es el coordinador de esta instancia, comentó que "este curso se realiza todos los años en la Universidad de Valparaíso y ha sido muy bien evaluado en cuanto a los contenidos que se imparten, así como también por las habilidades experimentales que adquieren los estudiantes durante el transcurso del programa"

Agregó que el curso está orientado tanto a profesionales del área clínica, como neurólogos, neurocirujanos, psiquiatras y psicólogos, entre otros; como a especialistas en neurociencia, farmacología y biomedicina.

Según indicó el Doctor Sotomayor, esta séptima versión "cuenta con estudiantes del Doctorado en Ciencias, mención Neurociencias y del Magíster en Ciencias Biológicas, mención Neurociencias de la Universidad de Valparaíso. Además, hay estudiantes profesionales, incluso, en esta oportunidad contamos con un estudiante polaco que es médico".

El Doctor Sotomayor destacó también la amplia presencia de la Sociedad Chilena de Farmacología en esta instancia, "este curso ha sido patrocinado desde su origen por la Sofarchi, lo que nos ha permitido contar con la participación de profesores de alto nivel provenientes de destacadas Universidades del país".

En este sentido, indicó que "gracias a esta alianza hoy contamos con una decena de académicos que son socios titulares de la Sofarchi, quienes integran del staff de docentes de este curso". Entre ellos, se cuentan los doctores Jorge Fuentealba (Universidad de Concepción), Javier Bravo (Pontificia Universidad Católica de Valparaíso), Claudio Coddou (Universidad Católica del Norte) y Georgina Renard (Universidad de Santiago), entre otros.

Alumnos exitosos

Diversas son las habilidades y conocimientos que los alumnos de este curso de Neurofarmacología han obtenido generación tras generación. A través de una metodología que incluye clases magistrales y seminarios de discusión, se han formado profesionales con pensamiento crítico, capaces de analizar las grandes líneas de desarrollo científico básico y clínico

INSTITUTO DE Fisiología
Facultad de Ciencias Universidad de Valparaíso

Desde hace siete años, este programa prepara con conocimiento teórico y habilidades experimentales tanto a profesionales del área clínica, como a especialistas en neurociencia, farmacología y biomedicina.

que han permitido tanto la generación de los tratamientos farmacológicos actuales, como su evolución y proyecciones futuras.

Junto a ello, la propuesta académica de este programa permite a los alumnos desarrollar trabajos experimentales originales que contribuyen a la generación y desarrollo de tratamientos farmacológicos del sistema nervioso.

Estos y otros conocimientos teóricos y prácticos entregados en el programa de Neurofarmacología, le han entregado herramientas para avanzar en sus investigaciones a la estudiante de segundo año del Magíster en Ciencias Biológicas, mención Neurociencias de la Universidad de Valparaíso, Victoria Collio,

"Estoy haciendo mi tesis sobre el efecto del consumo de dieta alta en grasa en algunos núcleos, como el septum lateral cerebral, en ratas, para evaluar el impacto en el control de la comida, del hambre y de la saciedad", indicó la pedagoga en biología de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Hasta ahora, los resultados obtenidos por Victoria Collio han determinado que "aquellas ratas que ingirieron dietas altas en grasa durante gran parte de su vida, a diferencia de las control, siguen prefiriendo esta dieta en grandes proporciones. Hay una diferencia bien importante"

Respecto al aporte que ha sido el programa de Neurofarmacología en el desarrollo de su investigación, sostuvo que "el curso entrega una base neurobiológica en todos los ámbitos, que van desde las adicciones, el movimiento, la fisiología, lo molecular, etcétera. El ramo de Estructura y Función del Sistema Nervioso, por ejemplo, es súper importante y exigente".

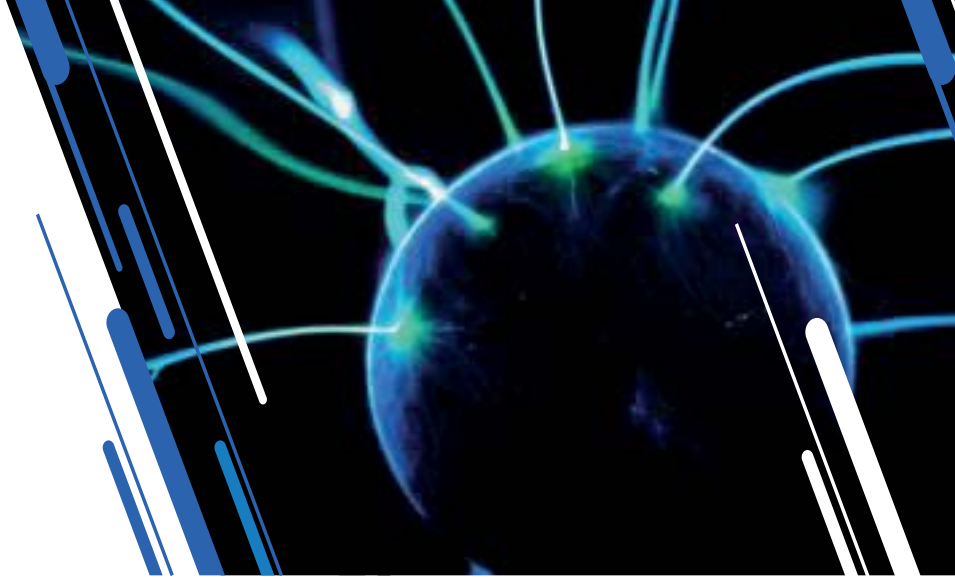
La séptima versión del curso de Neurofarmacología tiene una duración de 18 semanas y considera un total de 162 horas semestrales.

Mayor información:

Sra. Francisca Ramírez Coordinación de Postgrado, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso Avda. Gran Bretaña #1111, Playa Ancha, Valparaíso. Fono +56 32 2508000 francisca.ramirez@uv.cl ; postgrado.ciencias@uv.cl

MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

MENCIÓN NEUROCIENCIAS



Comisión Nacional de Acreditación
CNA-Chile
MAGÍSTER ACREDITADO
POR 7 AÑOS HASTA JUNIO DE 2026.
COMISIÓN NACIONAL DE ACREDITACIÓN.

Información General

El Programa tiene una duración de 2 años y considera una dedicación de media jornada (22 horas semanales), en modalidad teórico-práctico. Primer año: Actividades y Cursos Obligatorios y Electivos, tales como, Organización General y Desarrollo del Sistema Nervioso, Fisiología Neuronal y Transmisión Sináptica, Fisiología Sensorial, Movimiento y Control Motor, Neuropatología, Metodología Experimental en Neurociencia, Microscopía, Biofísica, Bioestadística, Neurociencia Computacional, Unidades de Investigación, Elaboración del Proyecto de Tesis. Segundo Año: destinado al desarrollo de la Tesis de Grado. El programa podría realizarse en un año, sí el alumno realiza su tesis en los laboratorios del claustro académico interno, demuestra dedicación exclusiva y jornada completa, y si cumple con los requisitos académicos de aprobación de cursos y proyecto de tesis en los tiempos establecidos.

Postulaciones en:

http://postgrados.uv.cl/index.php/magister/neurociencias.

Convocatoria: **Abierta**

Fecha de Cierre **30 de Noviembre 2019**

Horario de Clases

Primer año:

Jueves y Viernes de 10:00 a 17:30 horas

Segundo año:

Desarrollo de Tesis, se acuerdan horarios con el Profesor Tutor.

Línea de investigación

- Estructura y Función de Canales de Iones
- Neurosecreción y Comunicación Celular
- Transmisión y Plasticidad Sináptica
- Neurofisiología Sensorial
- Genética y Desarrollo del Sistema Nervioso
- Neurociencia de Sistemas y Comportamiento
- Bioinformática y Biomatemática en Neurociencia

Información e inscripciones

Mayor información y entrega de antecedentes, dirigirse a secretaria del programa:

postgrado.ciencias@uv.cl
32-2508400 / 32-2508402

Prof. Agustín Martínez C.
director: agustin.martinez@uv.cl

Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Gran Bretaña 1111, Playa Ancha, Valparaíso.

Magíster en Neurobiología:
Formando especialistas en

El programa de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UdeC proporciona un contenido académico orientado a la formación de especialistas en esta área, poniendo énfasis en el aprendizaje práctico de técnicas, protocolos, procedimientos de experimentación en neurobiología celular y molecular, además de estudio de comportamiento animal.

investigación experimental

Las bondades del ajo han sido ampliamente valoradas desde tiempos remotos. Es considerado uno de los productos alimenticios más completos en la naturaleza gracias a la larga lista de vitaminas y minerales que posee, que le otorgan comprobadas propiedades cardioprotectoras, hipoglicemiantes y antioxidantes.

A este listado de beneficios se agrega una nueva cualidad descubierta recientemente por un equipo de investigadores de la Universidad de Concepción, quienes analizaron las capacidades neuroprotectoras de una variedad fermentada del Allium ampeloprasum o ajo chilote, una especie endémica de la Isla Grande. Según la bióloga que encabeza el estudio, Javiera Gavilán, este alimento cambia tras de ser sometido a condiciones específicas de calor y humedad, lo que le otorga su característico color oscuro y potencia sus propiedades. "Nos dimos cuenta de que su composición química es distinta al ajo que comemos normalmente, porque adquiere nuevos compuestos sulfurados. Desde ahí partió el interés de probar su efecto neuroprotector en modelos de Alzheimer".

Los datos que obtuvo en modelos de ratón comprobaron que el ajo contiene una serie de compuestos bioactivos que proporcionan un blindaje a las neuronas, haciéndolas más resistentes ante agentes tóxicos que están presentes en patologías neurodegenerativas. Es por ello que, a largo plazo, este estudio "apunta a desarrollar un nutracéutico, porque hemos visto que este extracto tiene efectos preventivos en la Enfermedad de Alzheimer", señaló la bióloga UdeC.

Los resultados de esta investigación, que por su impacto ya fue destacada en varios medios de comunicación; están contenidos en la tesis titulada "Efectos neuroprotectores del extracto de ajo negro chilote sobre la toxicidad del péptido beta amiloide", que Javiera Gavilán desarrolla en el marco del Magíster en Neurobiología impartido por la Facultad de Ciencias Biológicas de la UdeC.

Ella es parte de la primera generación de estudiantes que ingresó a este programa de postgrado, el cual también ha impulsado líneas de investigación en torno a enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Creutzfeld Jacob, además de estudios sobre receptores de glicina y niveles fisiológicos de nutrientes, entre otros.

"Cuando este magíster se abrió fue como una luz, fue súper bueno porque era específicamente lo que yo quería aprender y lo que me hacía falta también en mi carrera como bióloga", señaló Gavilán.

Este es, precisamente, el principal enfoque del Magíster en Neurobiología que imparte la Facultad de Ciencias Biológicas de la UdeC, programa que apunta a formar científicos especialistas en neurobiología, con una base teórica y práctica sólida en estudios relacionados al sistema nervioso y con una fuerte orientación hacia lo experimental, donde se encuentra el sello distintivo de este programa. Este se fundamenta en la calidad de los grupos de investigación vinculados al claustro académico del programa, en la disponibilidad de equipamiento de primera línea para la investigación de frontera en neurobiología y en la vigencia de proyectos con financiamiento externo.

Enfoque hacia lo experimental

El Magister en Neurobiología de la FCB busca formar profesionales especializados en la comprensión científica profunda de problemáticas neurobiológicas relevantes en nuestra sociedad actual, como por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas, adicción, dolor crónico, desórdenes alimenticios, y depresión, entre otros.

Gracias a este enfoque, el programa ha desarrollado líneas de investigación en enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson y Creutzfeld Jacob; compuestos naturales, además de estudios sobre receptores de glicina y niveles fisiológicos de nutrientes, entre otros.

Uno de los creadores del programa fue el doctor Leonardo Guzmán, quien comentó que este "pretende ser un magíster con parámetros modernos, con mucho énfasis en generar nuevo conocimiento a través de los proyectos de tesis, por lo que está pensado para quienes estén motivados en aprender técnicas, protocolos, procedimientos de experimentación en neurobiología celular y molecular y comportamiento animal"

El académico detalló que este programa está orientado a "estudiantes que hayan tenido una base de fisiología y bioquímica más o menos importante, por lo tanto, alumnos de Bioquímica, de Bioingeniería, Química y Farmacia, Biología, Biología Marina; también para las carreras del área de la salud, como Kinesiología, Medicina, Tecnología Médica, Obstetricia, Odontología", entre otras.

A través de su programa académico, que considera asignaturas básicas, de especialidad, complementarias y seminarios; el alumno egresado será especialista en neurobiología experimental y contará con competencias científicas que permitan el inicio de una carrera asociada a la investigación y a la divulgación de la disciplina. Además, tendrá la capacidad de comunicar, integrar y analizar críticamente y generar nuevos conocimientos en el área de la neurobiología en un contexto bioético.

Mayor información:

Paula Veloso Aguilera
Secretaría de Magíster, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
Fono: (56-41) 2204159
E-mail: pauveloso@udec.cl

MAGÍSTER
EN NEUROBIOLOGÍA

PRIMER INGRESO AÑO 2018

- **3** Alumnos regulares
- **14** Profesores acreditados

Universidad de Concepción

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Universidad de Concepción

DESCRIPCIÓN

Nuestro programa se fundamenta en la necesidad de formar profesionales especializados en la comprensión científica de problemáticas neurobiológicas relevantes en nuestra sociedad, como, por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas, adicción, desórdenes alimentarios, entre otras. De manera convergente a esta creciente necesidad, nuestra Facultad cuenta con grupos de investigación en neurobiología de alta visibilidad internacional, los cuales desarrollan sus proyectos de investigación con financiamiento externo y equipamiento de primera línea. El sello distintivo de nuestro programa es la formación de especialistas capaces de desarrollar neurobiología experimental a través de una visión integrativa de elementos moleculares, celulares y neurofisiológicos, en un marco bioético.

PLAN DE ESTUDIOS

Durante el primer año, el plan de estudios del programa está conformado por cuatro asignaturas básicas y una asignatura de especialización. Junto con ellas, se deberá realizar la defensa del proyecto de tesis. Durante el segundo año se deberá ejecutar y presentar la tesis de grado, en la cual se desarrollarán temáticas de neurobiología experimental en los laboratorios de investigación de nuestra Facultad.

LINEAS DE INVESTIGACIÓN

- Aspectos Celulares y Moleculares de la Neurodegeneración
- Bases Celulares y Moleculares de la Función Neuronal y Glial
- Neurofarmacología Molecular y Celular

MALLA CURRICULAR

1er Semestre
Fisiología del Sistema Nervioso (5 créditos)
Neurociencia Avanzada I (3 créditos)
Formulación de Proyecto (1 créditos)
Elección de una asignatura de especialización (2 créditos)

2do Semestre
Experimentación Básica en Neurobiología (7 créditos)
Proyecto de Tesis

3er Semestre
Tesis

4to Semestre
Tesis

CONTACTO:
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
Facultad de Ciencias Biológicas
Concepción - Chile
pauveloso@udec.cl
56 41 2204 159
www.csbiol.udec.cl/postgrado/neurobiologia
postgradocsbioludec
postcsbioludec

La formación de Doctores: Nuevas tendencias y oportunidades de internacionalización

Concepción Peiró Vallejo
Profesora Titular, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina
Coordinadora del Programa de Doctorado en Farmacología y Fisiología
Subdirectora de la Escuela de Doctorado (EDUAM)
Universidad Autónoma de Madrid, España
Email: concha.peiro@uam.es

Significado de los estudios de Doctorado

El título de Doctor es el máximo grado académico que puede otorgar la institución universitaria. En Europa, tras el proceso de armonización del Espacio Europeo de Educación Superior (EEES), los estudios universitarios se ordenan en los niveles sucesivos de Grado, Máster y Doctorado, coincidiendo con la mayoría de las instituciones académicas a nivel global. La finalidad primordial de los estudios de Doctorado es la formación de profesionales de la investigación, que representan piezas clave de una sociedad basada en el conocimiento, como es la actual. Por otra parte, no hay que olvidar que el término "doctor" deriva del verbo latín "docere", es decir, enseñar. No en vano el título de Doctor es un requisito imprescindible para el desarrollo completo de una carrera académica universitaria.

Educación doctoral: más allá de la tesis doctoral

Durante muchos años, el eje central de los estudios de Doctorado ha sido la realización de la tesis doctoral, consistente en un trabajo de investigación original desarrollado por el candidato a recibir el título de Doctor. Hoy en día, la tesis doctoral sigue siendo sin duda el elemento principal de los estudios de Doctorado, si bien se hace cada vez más hincapié en una formación más amplia e integral del doctorando que le permita adquirir una serie de competencias y habilidades, relacionadas con la investigación, pero también con otros aspectos más transversales y de utilidad más allá de la carrera investigadora (Figura 1).

Efectivamente, uno de los objetivos actuales de los programas de doctorado es poner a disposición de sus estudiantes actividades formativas que les permitan manejar mejor aspectos generales directamente asociados con la labor investigadora, como cursos de conducta responsable en investigación, de análisis de datos, de manejo de bibliografía, de escritura de trabajos científicos o de proyectos de investigación, o de pensamiento crítico, entre otros.

Pero más allá de los aspectos específicos relacionados con la actividad puramente investigadora, se busca también hoy en día proveer a los estudiantes de doctorado con una serie de capacidades de carácter transversal e intersectorial, que les puedan ser útiles en áreas que no sean las puramente académicas o investigadoras. Hablamos, por ejemplo, de habilidades de comunicación oral y escrita, de habilidades interpersonales, de manejo de conflictos y negociación, de desarrollo de carrera profesional (Figura 1). En efecto, hay que tener en cuenta que cada vez más instituciones no académicas y empresas demandan doctores, que puedan ejercer de líderes de su sector. Por otra parte, es una realidad que en la actualidad un gran número de los doctores egresados ya no permanecen en la academia, por lo que conviene dotarles de este tipo de herramientas profesionales que puedan serles de utilidad tanto dentro como fuera de la institución universitaria.

Internacionalización y movilidad en el Doctorado, ¿cuáles son sus ventajas?

Uno de los principales aspectos transversales que se busca desarrollar hoy en día durante los estudios de Doctorado es la internacionalización y la movilidad de estudiantes. Pero, ¿qué ventajas puede ofrecer al candidato a Doctor el realizar una estancia de investigación en el extranjero que puedan compensarle del esfuerzo personal, logístico y económico que supone ese desplazamiento? Si el grupo receptor y el momento de realización de la estancia se eligen bien, sin duda las ventajas son múltiples y abarcan diferentes planos de interés.

En primer lugar, la movilidad puede, y debería, suponer una expansión del horizonte técnico y científico del estudiante, con oportunidades para intercambiar conceptos, ideas y experiencias en entornos diferentes del ha-

"La educación doctoral hoy en día tiene como meta, junto con la realización de la tesis doctoral, ayudar a que el futuro Doctor adquiera una serie de conocimientos y habilidades, relacionadas o no con la investigación, que le proporcionen una preparación más completa e integral de cara al mundo profesional".

bitual. Esto además favorece la creación de redes de contactos, lo que en inglés se conoce como "networking", que pueden ser de gran utilidad para la empleabilidad y el desarrollo de la carrera profesional futura del candidato a Doctor.

Por otra parte, la movilidad puede suponer un claro beneficio en cuanto a competencias idiomáticas y de comunicación, especialmente si la estancia se realiza en países que no comparten la lengua materna del estudiante de Doctorado. En cualquier caso, e independientemente del idioma hablado, el estudiante tendrá que desarrollar más que nunca su capacidad organizativa y sus habilidades de comunicación y de relaciones interpersonales, al salir de su zona de confort en el centro de origen.

Por otra parte y más allá del beneficio profesional, durante la movilidad el estudiante toma consciencia de otros usos y costumbres, de otros ámbitos culturales y amplía su círculo relacional, lo que puede contribuir muy positivamente a su capacidad de adaptación y crecimiento personal. De hecho, la superación de los retos encontrados durante la estancia de movilidad puede también fomentar y afianzar la confianza en sí mismo del candidato a Doctor.

Por último, no olvidemos que, más allá del beneficio para los propios estudiantes de Doctorado, la movilidad puede resultar altamente provechosa para los propios grupos de investigación e instituciones implicados, que pueden beneficiarse mutuamente de su respectiva visión investigadora y educativa. De hecho, no cabe duda de que la movilidad de los estudiantes de Doctorado se verá claramente favorecida si se fomentan acuerdos y alianzas formales entre instituciones académicas investigadoras de diferentes países, ya sea a nivel global de la propia institución, ó de manera más particular entre los programas de Doctorado y grupos de investigación implicados. En este sentido, no sólo la Universidad como institución, sino también otras agencias de investigación y financiación, adquieren un rol de responsabili-

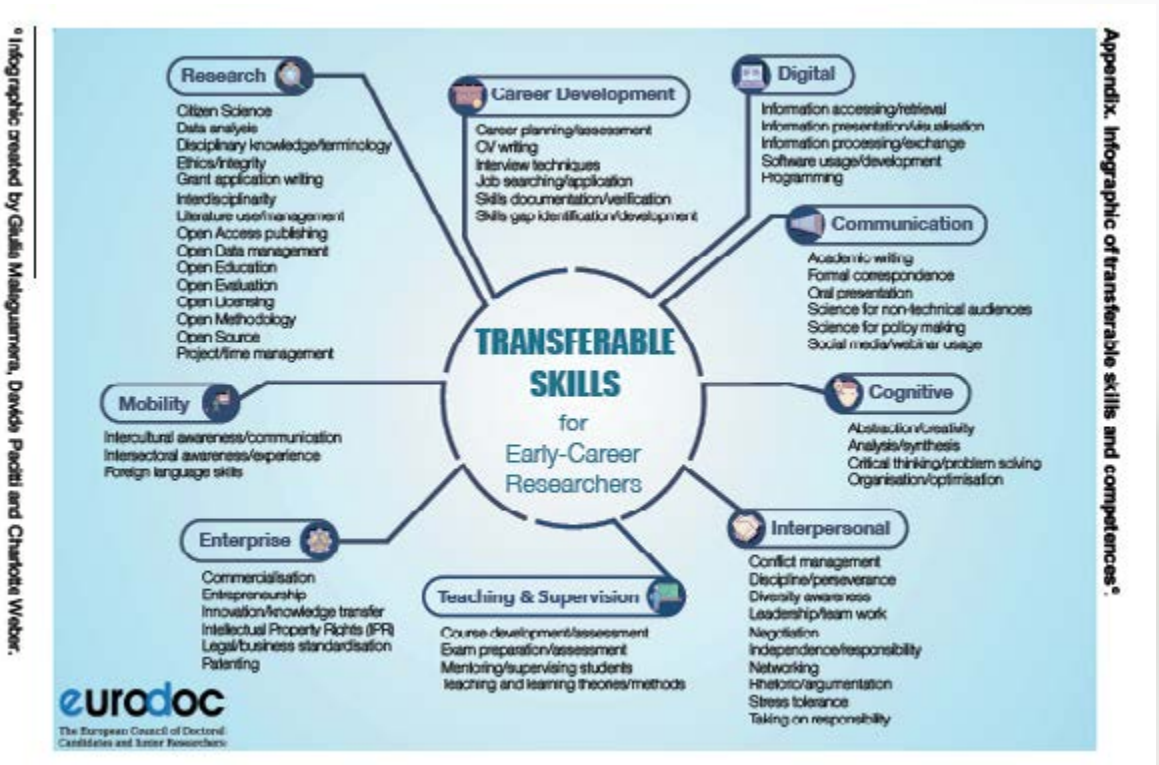


Figura 1. Esquema gráfico de habilidades y competencias transferibles de interés para la mejor empleabilidad y competitividad de slos estudiantes de Doctorado. Fuente: "The European Council for Doctoral Candidates and Junior Researchers (EURODOC)". http://eurodoc.net/skills-report-2018.pdf

dad en la facilitación de la movilidad y en la supresión de barreras económicas y logísticas que permitan a los doctorandos desarrollar una experiencia internacional beneficiosa para su desarrollo profesional y personal.

Conclusión y perspectivas

En resumen, la educación doctoral hoy en día tiene como meta, junto con la realización de la tesis doctoral, ayudar a que el futuro Doctor adquiera una serie de conocimientos y habilidades, relacionadas o no con la investigación, que le proporcionen una preparación más completa e integral de cara al mundo profesional y que fomenten su empleabilidad en un mercado cada vez más competitivo. Es por tanto una obligación y un reto actual de los Programas de Doctorado y de los agentes responsables de la educación doctoral velar por facilitar, en la medida de posible, la mejor formación investigadora y transversal, para que los egresados puedan constituirse en profesionales de referencia que contribuyan al avance de sus respectivos sectores.

Referencias

The European Council of Doctoral Candidates and Junior Researchers. “Identifying transferable skills and competences to enchance early-career researchers employability and competitiveness” (2018). http://eurodoc.net/skills-report-2018.pfd (consultado el 20 de marzo de 2019).

Siemers, O. “Skills for here or to take away? Outcomes of academic mobility for expatriate researchers”. (2016). Journal of International Mobility: 4, 149-170.

Universities UK International focus group on PhD mobility. “PhD student outward mobility: perceived barriers and benefits”. (2016). https://www.universitiesuk.ac.uk/policy-and-analysis/reports/Documents/International/Phd-student-outward-mobility-December-2016.pdf (consultado el 1 de junio de 2019).

Efectos del ozono médico sobre la Peroxidación Lipídica y la actividad de la Aldehído Deshidrogenasa 2 cerebral en ratas alcohólicas en abstinencia

María Teresa Díaz-Soto1* (Dra. Farmacéuticas, Profesora Auxiliar), Ángela Fraga Pérez (MC Toxicología), Jacqueline Dranguet Vaillant1 (MC Farmacología), Erik Jerez (Lic. Cs. Farmacéuticas), María de los Angeles Bécquer (MC Farmacología), Mayté Casanova (MC Toxicología), Maikel Arteaga Cruz (MC Farmacología), Olga Sonia León Fernández (Dra. Ciencias Farmacológicas, Profesora Consultante),

Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana .San Lázaro y L .Habana 10 400, Cuba

. Tel.: +53 54978238
E-mail: teresads@ifal.uh.cu
ietd@elacm.sld.cu (M .T Díaz).

RESUMEN:
El consumo crónico de etanol provoca aumento en la acumulación de acetaldehído y formación de Especies Reactivas de Oxígeno, lo que provoca daño a nivel cerebral, esto se prolonga durante el estado de abstinencia. Actualmente el tratamiento utilizado para contrarrestar las afectaciones provocadas por el alcoholismo y que se manifiestan durante la abstinencia alcohólica es extremadamente limitado.
Objetivos: Este estudio se propuso determinar los efectos protectores del Post-condicionamiento Oxidativo con Ozono sobre la actividad de la enzima Aldehído Deshidrogenasa 2 cerebral y las concentraciones de malonildialdehído sistémica y cerebral después de 2 semanas de abstinencia alcohólica en ratas Lewis machos
Método: La administración de etanol por vía oral fue "ad libitum" .Las ratas se distribuyeron en cuatro grupos: (I) Control, recibió agua durante todo el experimento, (II) Etanol (ET-OH), (III) Etanol + Ozono, como el grupo II pero después de la abstinencia alcohólica fueron sometidas a postcondicionamiento oxidativo con ozono a concentración de 20 µg/mL, dosis de 1 mg/kg, 15 tratamientos por l insuflación rectal y (IV) Etanol + Oxígeno, como el grupo III pero tratado con oxígeno (26 mg/kg). . Se les fue introduciendo gradualmente el consumo de etanol en soluciones de 10, 20, 30, y 40 % (56 días). Sesenta ml de agua o solución de etanol fueron colocados en cada caja diariamente por 8 semanas. Cada 24 horas fueron medidos los volúmenes de etanol o agua consumidos. Fue evaluada la tolerancia farmacológica. Se determinó las concentraciones en suero de MDA antes y después de la aplicación de ozono Finalmente los cerebros fueron removidos para estudiar el estado redox mediante Aldehído deshidrogenasa 2 mitocondrial y malonildialdehído.
Resultados: Fueron significativos los efectos del ozono sobre los niveles de MDA. La aplicación de Ozono restableció los niveles de MDA y la actividad dela ALDH2 mitocondrial, enzima que transforma el Acetaldehído en acetato inactivo
Conclusiones: El tratamiento con Ozono disminuyó el estrés oxidativo sistémico durante la abstinencia alcohólica a nivel de Sistema Nervioso Central. Estos resultados demuestran el papel que juega el Ozono como protector del daño a este nivel en la abstinencia alcohólica. Estos resultados demostraron que el ozono ejerció un efecto protector contra el daño oxidativo en el cerebro, preservando funciones importantes del Sistema Nervioso Central(SNC)
Abstract: Ethanol withdrawal (EW) increases acetaldehyde accumulation and reactive

"El consumo crónico de etanol puede provocar daño mitocondrial lo que conlleva a disfunción de la ALDH y por tanto aumento de las concentraciones de acetaldehído al cual se le ha adjudicado un papel importante en el daño cerebral característico del alcoholismo y del Síndrome de Abstinencia Alcohólica"

oxygen species formation that promote damage to the brain. It is necessary to emphasize that while EtOH abuse and dependence are widespread, treatment options are extremely limited.

Purpose: This study aimed at investigating the protective effects of Ozone Oxidative Postconditioning (Ozone OxPost) on mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) and MDA concentrations induced by oxidative stress after 2 weeks of EW in rats.

Method: Oral "ad libitum" administration of ethanol was used. Rats were divided into 4 groups. The groups were (I) Control, received tap water during the entire duration of the experiment, (II) Ethanol (ET-OH), (III) Ethanol + Ozone, as group II, but at the beginning of EW, rats were submitted to Ozone OxPost at a concentration of 20 µg/mL, dose 1 mg/kg, 15 treatments by rectal insufflation was used and (IV) Ethanol + Oxygen, as group III but rather than ozone, rats were treated with oxygen (26 mg/kg).The rats were gradually introduced to ethanol consumption through ET-OH solutions from 10, 20, 30, and 40% (56 days). The determination systemic concentrations of MDA was before and after the application
of ozone. Afterwards, brains were promptly removed for oxidative stress studies. (Mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) and MDA concentrations)

Results: Of special note were ozone´s effects on MDA levels. Ozone therapy re-established MDA and mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2), the same enzyme that transforms acetaldehyde into inactive acetate.

Conclusions: Ozone treatment improved the systemic oxidative stress during EW. These results demonstrated that Ozone protected the brain against oxidative injury, improving important functions of the Central Nervous Systems (CNS).

Keywords Ozone, Ethanol Withdrawal, Oxidative Stress, Central Nervous System

Introducción

El alcoholismo es una enfermedad crónica caracterizada por la ingesta compulsiva y excesiva de bebidas alcohólicas a un nivel que interfiere con la salud física y mental, al igual que con las responsabilidades sociales, familiares, económicos o laborales. El alcoholismo es un tipo de drogadicción, en la cual hay tanto dependencia física como mental (1, 2). Produce una fuerte dependencia al consumo de alcohol etílico, manifestándose el Síndrome de Abstinencia Alcohólica cuando no es posible su ingesta (3).

El alcoholismo es incompatible con la vida (4), existen dos factores que afectan de forma significativa la calidad de vida del paciente alcohólico: Por una parte, los efectos directos del etanol sobre diferentes sistemas de neurotransmisión a nivel de Sistema Nervioso Central (SNC) como son la transmisión GABAérgica, dopaminérgica y la glutamatérgica, al provocar desequilibrio neuronal y con ello alteraciones conductuales que se prolongan durante el Síndrome de Abstinencia Alcohólica (SAA). Otro factor que afecta la calidad de vida del paciente alcohólico está relacionado con el metabolismo del etanol, que ocurre por vías enzimáticas y vías no enzimáticas. Las enzimas que metabolizan al etanol son la Citocromo P4502E1 que se localiza en los microsomas, la Catalasa localizada en peroxisoma y la Alcohol Deshidrogenasa citosólica, el metabolito formado es el acetaldehído que es degradado por la enzima Aldehído Deshidrogenasa mitocondrial (ALDH2) (5). El consumo crónico de etanol puede provocar daño mitocondrial lo que conlleva a disfunción de la ALDH y por tanto aumento de las concentraciones de acetaldehído al cual se le ha adjudicado un papel importante en el daño cerebral característico del alcoholismo y del Síndrome de Abstinencia Alcohólica (6, 7, 8). Por otra parte, las vías no enzimáticas por las que se metaboliza el etanol provocan la formación de Especies Reactivas de Oxigeno favoreciéndose la Peroxidación Lipídica (POL) generándose malonildialdehído (MDA) (cuyo metabolismo también ocurre por la ALDH). Se ha evidenciado la formación de aductos entre el acetaldehído y el MDA. Ambos pueden provocar afectaciones en el Sistema Nervioso tanto Autónomo como Central (9)

Numerosos estudios han demostrado que la aplicación del Ozono médico constituye una conducta beneficiosa para muchas enfermedades degenerativas y afecciones orgánicas (Diabetes Mellitus, Artritis Reumatoide, hernia discal, presencia de convulsiones). Trabajos experimentales y clínicos confirman sus acciones terapéuticas. En estudios realizados en modelos de hepatotoxicidad por CCl_4 y en modelos de isquemia/reperfusión hepática, se han evidenciado los efectos pleiotrópicos del ozono, el cual ha restablecido el balance redox y preservado la integridad mitocondrial lo que se relaciona con la protección de la actividad de la enzima Superóxido Dismutasa a nivel hepático.

A partir de los objetivos de este trabajo se realizó un estudio después de dos semanas de abstinencia alcohólica sobre la influencia del ozono sobre el metabolismo del etanol y la ocurrencia de peroxidación lipídica a nivel cerebral mediante la determinación de la actividad cerebral de la enzima Aldehído deshidrogenasa mitocondrial y las concentraciones de MDA respectivamente.

"A los grupos que fueron tratados con ozono se le administró por insuflación rectal 1mg/kg, es decir, 5 cc durante 14 días de abstinencia. Los grupos que fueron tratados con oxígeno se le administraron 5 cc por insuflación rectal durante los 14 días de la abstinencia"

Materiales y Métodos

Se utilizaron 20 ratas Lewis (250-300g) provenientes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio de (CENPALAB; Mayabeque, Cuba). Las ratas fueron alimentadas con alimento proveniente del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB; Mayabeque, Cuba) y agua/etanol "ad libitum" (45 g y 60 mL) en cajas hogar bajo ciclos de luz y oscuridad de 12 horas a una temperatura de 20+2°C. Para medir el peso y el consumo de alimentos se empleó una balanza analítica (Denver Instrument XP-3000). Todos los procedimientos con los animales se realizaron según lo establecido por la unidad de gestión de la calidad (UGC) del Centro de Investigaciones y Ensayos Biológicos del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana en concordancia con la regulación de la Unión Europea para el tratamiento de animales de experimentación (Bethesda, MD, USA)(10)
El estudio fue dividido en diferentes etapas las cuales se muestran a continuación:

A- Etapa administración de etanol (Inducción del alcoholismo)
Etapa cuyo objetivo es inducir y estimular el desarrollo de conductas reforzadoras a través del consumo exploratorio, recompensa y adicción al etanol. Se desarrolla con una escalada de consumo in crescendo para generar dependencia física al etanol (11).

B- Etapa Tolerancia Farmacológica
Etapa cuyo objetivo es la determinación de conductas compulsivas al consumo del etanol propias de los alcohólicos. La preferencia de mayores concentraciones del etanol (entre 10% y 40% durante 2 semanas) permite establecer el grado de tolerabilidad y adaptación en el SNC.

C- Etapa de Abstinencia
Etapa cuyo objetivo es analizar los resultados de la deprivación del consumo de etanol característicos de los alcohólicos en Abstinencia Alcohólica. Al grupo tratado con etanol se le retiró abruptamente el suministro de etanol durante 2 semanas. El comportamiento de los grupos experimentales en esta etapa demuestra la necesidad o no que presenten de consumir etanol lo cual es evaluado mediante test conductuales.

Determinación del consumo de líquido

Se estableció dos grupos iniciales: Grupo Control de 5 ratas y Grupo tratado con etanol de 15 ratas. El Grupo tratado con alcohol se le administró dosis ascendentes cada 14 días de experimentación (5% día 1, 10% día 15, 20% día 29, 30% día 43 y 40% día 57). Los animales tenían acceso solamente a la botella con solución de etanol. A partir del día 70 hasta el día 84 el grupo tratado con etanol se sometió a una etapa de Tolerancia Farmacológica suministrándole "ad libitum" etanol a las dos concentraciones (10% y 40%) para evaluar el biomodelo de alcoholismo desarrollado. Se realizó control del peso corporal, consumo de comida y líquido durante las distintas etapas de inducción y tolerancia al consumo crónico del etanol (84 días) y al final de los 14 días siguientes de Abstinencia Alcohólica.

Distribución de los grupos experimentales

Al terminar el día 84 del experimento el grupo tratado con etanol fue dividido en 3 grupos de 5 ratas formando un total de 4 grupos de ratas con 5 ratas cada uno:
Grupo 1: AGUA
Grupo 2: ETANOL
Grupo 3: ETANOL+OXÍGENO
Grupo 4: ETANOL+OZONO

Aplicación de la Ozonoterapia y Oxígeno.

El Ozono (O3/O2) se generó mediante el OZOMED (equipo producido por el Centro Nacional de Investigaciones Clínicas de Cuba, CNIC) a partir del oxígeno clínico, el cual constituyó alrededor del 3% de la mezcla O3/O2 + O2. A los grupos que fueron tratados con ozono se le administró por insuflación rectal 1mg/kg, es decir, 5 cc durante 14 días de abstinencia. Los grupos que fueron tratados con oxígeno se le administraron 5 cc por insuflación rectal durante los 14 días de la abstinencia.

Obtención del Suero

Las ratas de estudio fueron sedadas en una campana de cristal con éter dietílico. Después de haber corroborado el efecto, se procedió a la extracción de 5ml de sangre por el plexo ocular. La sangre extraída se depositó en via-

les para centrifugar, debidamente rotulados y se mantuvo en reposo a temperatura ambiente durante 10 min para la retracción del coágulo. Posteriormente el coágulo fue separado cuidadosamente de las paredes del vial con un capilar y se centrifugó a 3 600 rmin-1 durante 15 min para la obtención del suero. El suero obtenido se congeló a -20˚C para luego ser empleado en una serie de determinaciones bioquímicas. La extracción de sangre se realizó en 3 etapas: al inicio (día 0), después de consumir el 20% de alcohol (día 29) y al finalizar la abstinencia (día 98) (12).

Preparación de Homogenado de cerebro.

Los homogenados se obtuvieron en el día 99 del experimento empleando el homogenizador de cuchillas (Edmund Bühler HO4, Alemania) para lo cual se utilizó 2 g de tejido en 20 ml de buffer sucrosa-tris-HCl pH=7,4 0,2M según se describe en el PNO/TEC/0303. Posteriormente se centrifugó 10 min, 3000 rpm a 4oC (Sigma Centrifuge 2K15, Reino Unido). El sobrenadante se guardó para la obtención de las fracciones subcelulares y para la determinación de los marcadores de estrés oxidativo (13)

Determinación de Malonildialdehído (MDA)

El MDA se midió como indicador de la POL utilizando el método colorimétrico que emplea el 1-metil-2-fenil indol como cromógeno reportado por Esterbauer, H en 1990. La condensación de una molécula de MDA con dos moléculas de 1-metil-2-fenil indol, bajo condiciones de acidez da como resultado la formación de un cromóforo con una absorbancia máxima de 586 nm. Una solución de 7,6 mM de 1-metil-2-fenil indol en metanol al 33% en acetonitrilo se preparó inmediatamente antes de ser utilizada. Una alícuota de 325 µL de este reactivo se hizo reaccionar con 200 µL de muestra se agitó y se añadió 75 µL de ácido clorhídrico 37 %. Tras una nueva agitación de microtubos de ensayo se incubaron 40 min a 45 ºC. Posteriormente, cuando alcanzaron la temperatura ambiente, se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min y se leyó la absorbancia a 586nm contra blanco reactivo. Se utilizó una curva patrón de 1,1,3,3-tetraetoxipropano para calcular las concentraciones finales (14).

Determinación de la actividad de ALDH

Fraccionamiento celular. Obtención de mitocondria.

Para la obtención de la fracción mitocondrial de células cerebrales en la medición de la actividad de ALDH, el homogenado se centrifugó a 900 g por 15 minutos obteniéndose el pellet. El pellet obtenido de este paso se hizo resuspender con 10 ml de buffer sucrosa-tris-HCl pH=7,4 0,2M. Posteriormente se rehomogenizó a 340 rpm y se centrifugó a 9000g por 10 minutos. El sobrenadante obtenido se volvió a centrifugar a 104.000 g por 60 min y el precipitado mitocondrial se lavó dos veces y se re suspendió en 10 ml de la solución tampón, que se utilizó para la determinación de la ALDH mitocondrial de cerebro. Se comprobó la pureza de la fracción mitocondrial aislada mediante la determinación de la enzima Alcohol Deshidrogenasa. La enzima alcohol deshidrogenasa fue utilizada, como enzima marcadora de la fracción microsomal. Menos del 5% de la actividad alcohol deshidrogenasa se encontró en la fracción microsomal, indicando una contaminación mínima de enzimas citosólicas (15).

Determinación de proteínas totales

La concentración de proteínas totales en el homogenado de cerebro fue determinada por el método descrito por Bradford (1976). Este método se basa en la coloración de las proteínas presentes en el medio con el reactivo azul de Coomassie (Sigma), detectable a 595 nm. La cuantificación se llevó a cabo mediante una curva de calibración con albúmina sérica bovina (BSA) (Sigma) como patrón de referencia (16).

Determinación de aldehído deshidrogenasa cerebral.

La actividad de la ALDH2 se midió por el aumento de la producción de NADH a 340 nm. La mezcla de reacción contenía: 60 mM de tampón de fosfato de sodio (pH 8,5), 1 mM de NAD+ + EDTA 1 mM y las proteínas mitocondriales (0,5 mg / ensayo). La reacción se mantuvo durante 2 min a temperatura ambiente, la reacción enzimática se inició mediante la adición del sustrato (10 mM propionil aldehído). El cambio de absorbancia se controló durante 30 segundos, 1, 2, 3 y 4 minutos para calcular la tasa de producción de NADH. La actividad específica de ALDH2 se calculó uti-

"Los resultados de la etapa de tolerancia farmacológica en la que se expone al animal a dos concentraciones de etanol, una baja 10% y otra alta 40%, para que consuma la que prefiera se observó que hubo un incremento significativo ($p < 0.05$) en el consumo de la solución etílica más concentrada lo cual indica la preferencia de las ratas en estudio por el etanol".

Figura 1

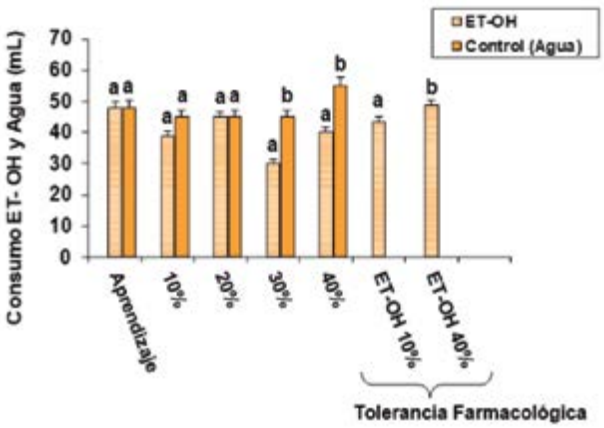


Figura 1. Esquema gráfico de habilidades y competencias transferibles de interés para la mejor empleabilidad y competitividad de slos estudiantes de Doctorado. Fuente: "The European Council for Doctoral Candidates and Junior Researchers (EURODOC)". http://eurodoc.net/skills-report-2018.pdf

"La implementación de un modelo de alcoholismo, que mimetice la sintomatología del humano alcohólico, es un requisito indispensable para el estudio de los efectos terapéuticos de fármacos candidatos a ser utilizados en el tratamiento del alcoholismo, principalmente en la etapa de la "sufrida" abstinencia".

lizando el coeficiente de extinción molar de la reducción de NAD+ de 6,22 × 106 cm2 a 340 nm (Merck Index) y 1 unidad representa una reducción de NAD+ (+ 1 nmol/min/mg de proteína) a temperatura ambiente (17,18).

Procesamiento estadístico

Los datos experimentales obtenidos fueron sometidos a un análisis exploratorio donde se detectaron puntos aberrantes (outiers). Además se estimaron parámetros descriptivos como media y desviación estándar.

Para determinar diferencias entre grupos en una variable en cuestión se utilizó un ANOVA de clasificación simple, seguida de un ensayo de comparación de medias (Student-Newman-Keuls) y el test de Student. El nivel de significación estadístico empleado en todos los casos fue como mínimo de p< 0.05. Para las correlaciones lineales se empleó el coeficiente de correlación de Pearson. Los datos fueron procesados utilizando en paquete estadístico: STATISTICA versión 6.0 para WINDOWS.

Resultados

La Figura 1 muestra el consumo de líquido en los animales objeto de estudio durante las diferentes etapas del desarrollo del modelo, el grupo control que consumió agua (Control) y el grupo que ingirió etanol a diferentes concentraciones. A todas las concentraciones que les fue suministrado el etanol los animales en estudio consumieron la solución alcohólica, no existieron diferencias significativas ($p<0.05$) en el volumen de solución etanólica (10%-40%) consumido durante la inducción del alcoholismo (56 días). Los resultados de la etapa de tolerancia farmacológica en la que se expone al animal a dos concentraciones de etanol, una baja 10% y otra alta 40%, para que consuma la que prefiera se observó que hubo un incremento significativo ($p < 0.05$) en el consumo de la solución etílica más concentrada lo cual indica la preferencia de las ratas en estudio por el etanol. En la etapa de Abstinencia a las ratas alcoholizadas se les retiró el etanol y durante 2 semanas se registró la ingesta de agua. Como puede apreciarse los animales alcoholizados consumieron más agua ($p < 0.05$) que los controles indicando las afecta-

Tabla 1

Grupos experimentales	Actividad de Aldehído Deshidrogenasa mitocondrial en cerebro (mM/mL/min de NADH)
Control (Agua) 6	.33 ± 0.021(a)
Etanol 1	.23 ± 0.050(b)
Etanol + Ozono 4	.85 ± 0.430(c)
Etanol + Oxígeno 0	.97 ± 0.031(b)

Tabla I: Actividad de la Aldehído Deshidrogenasa 2 en homogenado de cerebro de las ratas estudiadas.

ciones metabólicas, entre otras manifestaciones, asociadas a la avidez por el agua durante la abstinencia.

La Figura 2 representa las concentraciones de malonildialdehído (MDA) a nivel sistémico en los diferentes grupos objeto de estudio, antes y después de la aplicación del Ozono. El grupo que consumió etanol mostró elevadas concentraciones de MDA respecto a los restantes grupos, mientras que el tratado con ozono manifestó disminución de las concentraciones de MDA con respecto a la etapa previa a la administración de Ozono.

En la Tabla I se presenta la actividad de la ALDH2 cerebral en los grupos estudiados, manifestándose aumento de la actividad de la enzima en los grupos ozonizados con respecto a los no ozonizados que consumieron etanol.

La Figura 3 representa las concentraciones de MDA a nivel cerebral, en el grupo que fue ozonizado existió un comportamiento en las concentraciones del producto de la peroxidación lipídica similar al grupo control mientras que en los restantes grupos las concentraciones de MDA fueron significativamente mayores

Discusión

El alcoholismo es una de las toxicomanías que se manifiesta con más frecuencia a nivel mundial. El paciente alcohólico pasa por diferentes etapas desde la adaptación al consumo del alcohol hasta llegar al llamado punto de "no retorno" (19). La implementación de un modelo de alcoholismo, que mimetice la sintomatología del humano alcohólico, es un requisito indispensable para el estudio de los efectos terapéuticos de fármacos candidatos a ser utilizados en el tratamiento del alcoholismo, principalmente en la etapa de la "sufrida" abstinencia. El modelo seleccionado en nuestro trabajo tuvo en cuenta su acercamiento a las prácticas del alcohólico de ahí que se empleó el consumo de alcohol "ad libitum" ya que es el más semejante al alcoholismo en humanos (20). El consumo de etanol a las diferentes concentraciones (Figura 1) demostró la tendencia de los grupos experimentales a adquirir la conducta adictiva, lo cual se corroboró con los resultados de la Prueba de Tolerancia Farmacológica, al manifestarse la preferencia por la solución etanólica de mayor concentración. Estos resultados se corresponden con lo planteado por otros autores al afirmar que "El consumo crónico genera un progresivo requerimiento de dosis mayores de sustancia para conseguir un efecto similar. La tolerancia puede considerarse un intento del organismo para retornar a la homeostasis, esto es, a las condiciones anteriores al consumo" (21, 22). Este modelo experimental permite no solo profundizar en los mecanismos de acción terapéutica, del agente en cuestión, sino que hace posible ampliar los conocimientos relacionados con la etiopatogenia alcohólica. Por otra parte, los hallazgos científicos que fundamentan los efectos terapéuticos del ozono, por un mecanismo denominado Pre/Post condicionamiento oxidativo, constituye-

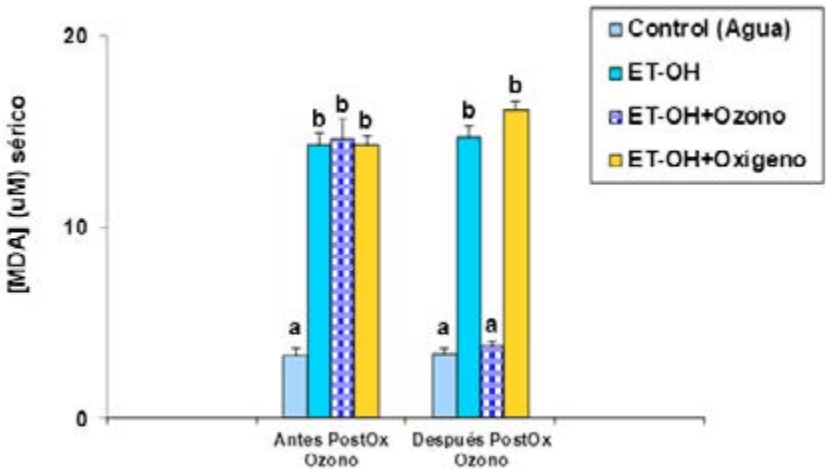


Figura 2

Figura 2. Concentración de MDA séricos en los grupos experimentales estudiados. Antes del PostOx Ozono corresponde al final de la etapa de Tolerancia, antes de la abstinencia y antes del PostOx. Después del PostOx Ozono representa el final del tratamiento con ozono, el final de la Abstinencia y el punto final del estudio experimental. Se representan la media ± EEM. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05), para cada grupo experimental, antes y después del PostOx Ozono*

Figura 3

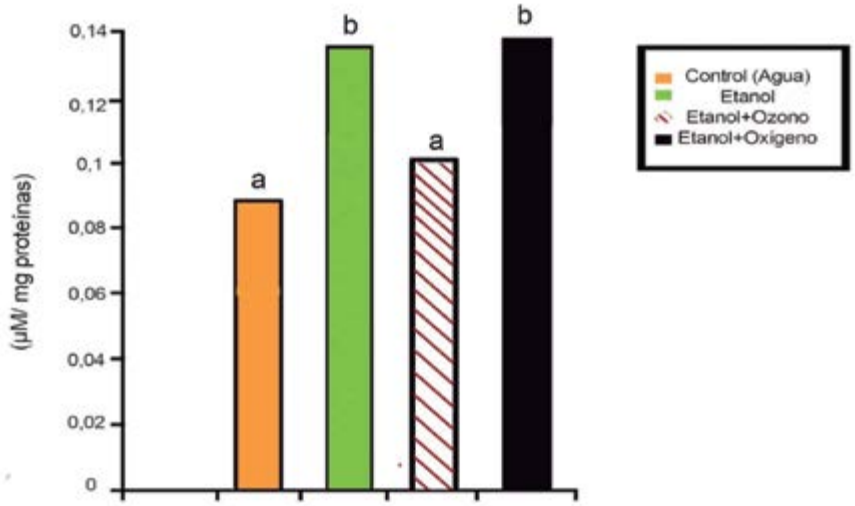


Figura 3. Concentraciones de MDA, en homogenado de cerebro, en las diferentes condiciones experimentales. Las concentraciones de MDA en cerebro de rata, corresponde con el final de la Abstinencia, del PostOx y del experimento (105 días) Se representan la Media ± EEM. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05).*

ron la base científica que justifica abordar el estudio de los efectos del ozono, sobre la sobreproducción de ERO y las alteraciones de algunas de las funciones básicas del SNC que se modifican o alteran en el sujeto alcohólico. Los cambios fisiopatológicos en la función celular, inducidos por la exposición crónica de alcohol, se derivan del propio metabolismo del etanol que incluye la generación de acetaldehído, radicales libres (como el hidroxietil) y NADH, entre otros causando Estrés Oxidativo. Es así como mucha de la sintomatología asociada a las disfunciones orgánicas y conductuales del alcohólico son el resultado del daño que promueven estas moléculas oxidadas, sobre el hígado y el Sistema Nervioso Central, tanto durante la tolerancia como en la abstinencia. (23)

El acetaldehído, derivado del metabolismo del etanol y de reconocida toxicidad, es transformado a ácido acético por la enzima Aldehído Deshidrogenasa mitocondrial, isoforma 2 (ALDH2). Esta enzima metaboliza eficientemente el acetaldehído, producido durante el metabolismo del etanol, pero también metaboliza otros aldehídos lipídicos tóxicos como el MDA y 4-hidroxi-2-nonenal, entre otros (24). El consumo crónico de etanol induce lesiones en los complejos I y III de la cadena de transporte electrónico mitocondrial, con afectaciones en la transferencia de electrones desde el flavín-mononucleótido del complejo I al complejo III, se produce acumulación del complejo flavín-mononucleótido-semiquinona y una generación incrementada de radicales superóxido dentro del complejo I. Estas lesiones, inducidas por el consumo crónico de etanol incrementan la producción de superóxido y peróxido de hidrógeno dentro de la mitocondria afectando a la integridad mitocondrial y con ello la función de la enzima ALDH2 (25).

El consumo de etanol es un detonante muy importante para la generación de estrés oxidativo- nitrosativo en el hepatocito y ya sea a corto o a largo plazo, puede desencadenar la muerte de la célula, el tejido y el organismo en general. Algunos factores que están involucrados en la generación de estrés oxidativo-nitrosativo por etanol son: cambios en el estado redox intracelular como resultado del metabolismo oxidativo del etanol, hipoxia celular, porque las alteraciones en el metabolismo redox afectan el consumo de oxígeno y la producción de ATP en la mitocondria.

El metabolismo del etanol y el estrés oxidativo asociado, producen una serie de compuestos de alta reactividad, capaces de unirse a un gran número de residuos proteicos. El resultado de estas uniones es la generación de nuevas entidades bioquímicas que, de forma genérica, reciben el nombre de aductos.

Estos aductos, según su composición, pueden clasificarse en cuatro grandes grupos: aductos derivados del acetaldehído, que provienen de la formación de enlaces entre el acetaldehído y residuos lisina o grupos amino de distintas proteínas. Estos enlaces pueden ser covalentes o no covalentes, lo que determina la estabilidad del aducto formado, algunos productos aldehídicos derivados de la peroxidación lipídica, como el MDA o el 4-hidroxinonenal,

también son capaces de formar aductos con proteínas, también se ha documentado la formación de aductos mixtos o híbridos, que son aquellos formados por la unión de acetaldehído y MDA a un mismo sustrato, finalmente, en presencia de átomos de hierro, los radicales hidroxietilos formados en la oxidación del etanol, pueden formar aductos con proteínas. La unión de grupos aldehído a una biomolécula resulta en una alteración estructural y consecuentemente, funcional de dichos sustratos. Así, se ha descrito que tras su unión con moléculas de acetaldehído (formación de aductos), la actividad de algunas enzimas se reduce o incluso se suprime. El metabolismo del etanol y la consecuente formación de aductos en el SNC, están implicados en los efectos tóxicos del etanol en otros órganos y tejidos y en la generación de alteraciones en el cerebro.

Los aductos de acetaldehído pueden formar complejos con serotonina llamados tetrahidrocarbolinas, ambos complejos aumentan la preferencia por etanol y pueden inhibir competitivamente la MAO y la COMT.

En el presente estudio existió un incremento en las concentraciones de MDA en los grupos no tratados con ozono lo cual indica peroxidación lipídica. Este aldehído tiene una especial importancia en el alcoholismo y en la abstinencia alcohólica ya que el MDA es un sustrato de la Aldehído Deshidrogenasa (ALDH2). Esta enzima es responsable del metabolismo del acetaldehído (inductor del daño cerebral por consumo crónico de etanol) y otros aldehídos lipídicos producidos por el metabolismo del etanol. Por lo tanto el incremento del MDA sugiere la inhibición de ALDH2, la cual puede ser consecuencia de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (26). La administración de ozono preservó la actividad de la enzima ALDH2 cerebral y disminuyó las concentraciones de MDA, séricas y cerebrales.

Estos resultados indican el efecto protector del ozono sobre el daño que provocó el etanol y por tanto la capacidad de estimular la recuperación funcional de una de las enzimas que de forma más significativa participa en su metabolismo. Al tener en cuenta que la propia ALDH2 participa en el metabolismo del MDA, la disminución de las concentraciones del mismo indican que también el ozono fue capaz de disminuir el proceso de POL. Estos resultados se corresponden con estudios anteriores (27) donde se evidencia, tanto preclínica como clínicamente, el efecto antioxidante del ozono y sus consecuencias favorables sobre trastornos conductuales durante la abstinencia alcohólica.

El mecanismo por el cual el ozono médico provoca efectos antioxidantes se resumen en dos moléculas intermediarias: Peróxido de Hidrógeno y los productos de POL (MDA). El O_3/O_2 induce la formación de H_2O_2 e hidroperóxidos, en cantidades pequeñas, los cuales son capaces de actuar sobre los eritrocitos, plaquetas, monocitos y células endoteliales estimulando la acción de la Glutatión Peroxidasa (GSH-Px) para formar H_2O. Esta actividad prooxidante estimula no sólo la GSH-Px sino también la Glutatión Reductasa (GSH-Rx) y aumenta los niveles de Glucosa 6-Fosfato (G-6P). Como consecuencia se produce un aumento del intercambio iónico, de los niveles de 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG), de los niveles de ATP y, por ende, de la glicólisis. El O_3/O_2 también estimula un aumento de la relación NAD+/NADH activando la vía del monofosfato de hexosa dependiente induciendo la liberación de ATP de los eritrocitos y vasodilatación (28).

Se ha demostrado que el ozono es capaz de proteger a las células hepáticas frente al daño producido por los radicales libres del oxígeno; así como la preservación de las concentraciones de glucógeno hepático, evitando la sobreproducción de lactato, que en el homogenado de hígado está asociado al daño hepatotóxico (29). El restablecimiento en las concentraciones de MDA, sugiere la preservación de la enzima ALDH2, evitando la acumulación de acetaldehído, a nivel sistémico y del SNC, con la consiguiente disminución en la formación de aductos.

La disminución de las concentraciones de MDA y el aumento de la actividad de la enzima ALDH2 sugieren que el tratamiento con ozono protegió la integridad mitocondrial manifestada con la disminución de la peroxidación lipídica lo cual puede ser con secuencia del incremento en el metabolismo tanto del acetaldehído como del malonildialdehido sustratos de la enzima y relacionados con el daño cerebral presente en la Abstinencia Alcohólica.

La aplicación de nuevos procedimientos experimentales, así como la identificación de posibles biomarcadores que sean confiables y sensibles, es un gran avance que puede contribuir a implantar un adecuado sistema de prevención y diagnóstico para detectar, en lo posible, el daño ocasionado por la ingestión de etanol.

Agradecimientos:
Los autores queremos expresar nuestra gratitud al Instituto de Farmacia y Alimento de la Universidad de la Habana por todo el soporte profesional en el desarrollo de este estudio

"Estos resultados se corresponden con estudios anteriores (27) donde se evidencia, tanto preclínica como clínicamente, el efecto antioxidante del ozono y sus consecuencias favorables sobre trastornos conductuales durante la abstinencia alcohólica".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-Assanangkornchai S, Srisurapanont M. The treatment of alcohol dependence. Curr Opin Psychiatry.; 2007,20:222-227.

2-Gonzáles R. Clínica psiquiátrica básica actual. Ciencias Médicas 1998,7:74.

3-Janicak P., Piszczor J., Scott M. Alcohol related disorders. Psychiatry diagnosis and therapy. 2 Ed. Edited by Joseph Flaherty. 2000 193: 247 – 265.

4- Adan A. Bases biológicas del alcoholismo. Psicología Conductual. 2015 Vol. 6, Nº 1

5- Kumar S, Sandell LL, Trainor PA, Koentgen F, Duester G. Alcohol and Aldehyde Dehydrogenases: Retinoid Metabolic Effects in Mouse Knockout Models. . Biochim Biophys Acta. 2012 January; 1821(1): 198–205.

6-. Ambrosio, E. y Fernández, E. Fundamentos Neurobiológicos de las Adicciones. Neurociencia y Adicción.2011. 19-46.

7-Koob GF .Theoretical Frameworks and Mechanistic Aspects of Alcohol

Addiction: Alcohol Addiction as a Reward Deficit Disorder .Curr Top Behav Neurosci. 2013, 13: 3–30. 109

8-Laniewska-Dunaj M, Jelski W, Orywal K, Kochanowicz J, Rutkowski R, Szmitkowski M. The Activity of Class I, II, III and IV of Alcohol Dehydrogenase (ADH) Isoenzymes and Aldehyde Dehydrogenase (ALDH) in Brain Cancer. Neurochem Res 2013, 38:1517–1521.

9- Forn Frías C., Sanchis Segura C. Posible papel del acetaldehído en el daño cerebral derivado del consumo crónico de alcohol. Rev Neurol 2003; 37: 485-93

10- Samson, H.H., and Hodge, C.W. Neurobehavior al regulation of ethanol intake. In: Deitrich, R.A., and Erwin, V.G., eds. Pharmacological Effects of Ethanol on the Nervous System. Boca Raton, FL: CRC Press, 1996. pp. 203–226

11- Smolen, A., M.J. Marks, T.N. Smolen, and A.C. Collins. "Dose and Route of Administration Alter the Relative Elimination of Ethanol by Long-Sleep and Short-Sleep Mice." Alcohol Clin. Exp. Res. 1986, 10: 198–204.

12- Pukka K, Hietala J, Koivisto H, Anttila P, Bloigu R, Niemelä O. Obesity and the clinical use of serum GGT activity as a marker of heavy drinking. Scand J Clin Lab Invest. 2007; 67 (5):480-8.)

13- Hiroshi Nakamura, Robert L.J. Jilka y Ricardo Boland Mecanism of ATP hydrolisis by Sarcoplasmic Reticulum and the role of phospholipids. Nota: Técnica modificada para el uso del Homogenizador, Torres y col, 1992.

14- Esterbauer, H., Cheeseman, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation product: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol. 1990; 186: 407–421.

15- Sedlak J et al. ALDH rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248–54

16- Sedlak J, Lidsay RH. Estimation of total protein bound and non-sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal Biochem 1969; 25: 192-205

17-Mirandola S.R., Melo, D.R., Saito, ^A., Castilho, R.F. 3-nitropropionic acidinduced mitochondrial permeability transition: comparative study of mitochondria from different tissues and brain regions. J. Neurosci. Res. 2010; 88, 630e639

18- Nicholls, D.G., Johnson-Cadwell, L., Vesce, S., Jekabsons, M., Yadava, N. Bioenergetics of mitochondria in cultured neurons and their role in glutamate excitotoxicity. J. Neurosci. , 2007, Res. 85, 3206e3212

19- Roerecke M, Rehm J. Alcohol intake revisited: risks and benefits. Curr Atherosclerosis Rep. 2012; 14: 556-562 42

20- Lüscher C, Malenka RC. Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes tocircuit remodeling. Neuron. 2011; 69(4):650-63.

21-Rickert WS, Robinson JC, Young JC. Estimating the hazards of "less hazardous" cigarettes. i. tar, nicotine, carbon monoxide, acrolein, hydrogen cyanide, and total aldehyde deliveries of Canadian cigarettes. J Toxicol Environ Health. 1980; 6:351–365.

22-National Institute on Drug abuses. Las drogas, el cerebro y el comportamiento. NIDA La ciencia de la adicción, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos. Publicación NIH. 2014 No. 08-5605.

23- Al-Dalain, S.M., G. Martínez, E.C. Jalil, and O.S. León Fernández.."Ozone Treatment Reduces Markers of Oxidative and Endothelial Damage in an Experimental Diabetes Model in Rats." Pharmacol. Res.2001, 44: 391–396.

24-.Rokitanski O. Klinik und Biochemie der Ozotherapie. Hospitalis 1982; 52:643-7.

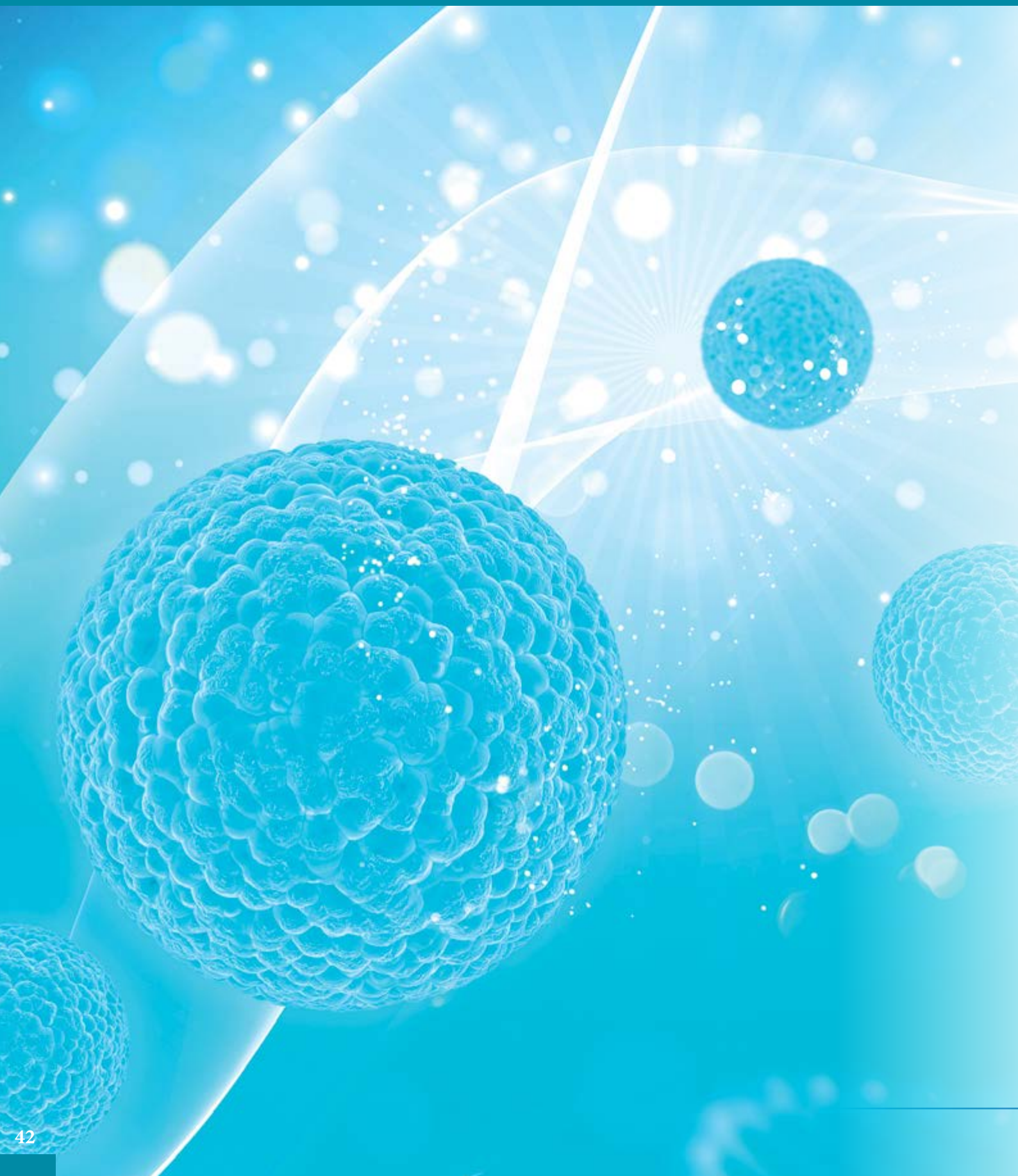
25- Medici V, Halsted CH. Folate, alcohol, and liver disease. MolNutr Food Res. 2013; 57: 596-606

26- Díaz-Soto M. T., Fraga Pérez A, Dranguet Vaillant J, A. Mallok, Renate Viebahn-Hänsler, Menéndez Cepero S, and León Fernández O S. Ozone Oxidative Postconditioning Protects Against the Injury Associated with Alcohol Withdrawal Syndrome in Rats. Ozone: Science & Engineering, 2012; 34: 425–431.

27- M D. Escarabajal Arrieta. ¿Alcoholismo o acetaldehismo? El papel de la catalasa y la aldehido deshidrogenasa cerebrales. Área de Psicobiología. Universidad de Jaén. 2016:32-39

28- Díaz-Soto M. T., Fraga Pérez A, Dranguet Vaillant J, A. Mallok, Renate Viebahn-Hänsler, Menéndez Cepero S, and León Fernández O S. Ozone Therapy Ameliorates Nervous System Disorders and Oxidative Stress in Patients During Ethanol Withdrawal—A Pilot Study Ozone: Science & Engineering, 2012; 34: 432–437

29- Mallok A, Dranguet Vaillant J, Díaz Soto M T, Viebahn-Ha¨nsler R, Bécquer Viart M A, Fraga Pérez A, Donoso Cedeño R I, León Fernández O S. Ozone protective effects against PTZ-induced generalized seizures are mediated by reestablishment of cellular redox balance and A1 adenosine receptors Neurological Research, 2015 Vol. 37 NO. 3



Función fisiológica y fisiopatológica de las membranas asociadas a mitocondrias (MAMs): Posible rol en el procesamiento de APP y en la disfunción mitocondrial en la enfermedad de Alzheimer.

Panes-Fernandez J 1, Flores-Nuñez O 1, Fuentealba J1*
1 Laboratory of Screening of Neuroactive Compound, Physiology Department, Faculty of Biological Sciences, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

Resumen

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es la principal forma de demencia que afecta a los adultos mayores. Se caracteriza por una muerte neuronal progresiva, especialmente en hipocampo y corteza, y uno de los principales eventos celulares con los que cursa esta patología es la disfunción mitocondrial. Se postula que esta enfermedad neurodegenerativa se produce principalmente por el aumento en los niveles del péptido beta-amiloide (Aβ), que se genera a partir del procesamiento proteolítico de la proteína precursora amiloide (APP). Se ha descrito que tanto APP como la maquinaría enzimática de la vía amiloidogénica y no amiloidogénica presentaría diferente localización espacial; mientras que los componentes de la via no amiloidogénica se encontrarían en la membrana plasmática y compartimentos secretores tardíos, los compartimentos endosómales, Golgi y estructuras tipo balsas lipídicas denominadas MAMs (del inglés Mitochondria-Associated RE Membranes) serían los encargados de procesar APP por la vía amiloidogénica, y producir Aβ. Las MAMs son dominios especializados entre Retículo endoplásmico (RE) y mitocondrial, donde existe una alta aposición entre ambos organelos de entre 10-20 nm, que les permite comunicarse entre sí tanto física como bioquímicamente, lo que facilita las funciones de esta región tales como la homeostasis del calcio, colesterol, fosfolípidos, y el metabolismo mitocondrial. Existe evidencia reciente que ha encontrado que las funciones localizadas en las MAMs estarían aumentadas significativamente en los modelos animales y muestras de pacientes con la EA. En esta revisión bibliográfica estudiaremos los principales roles fisiológicos y fisiopatológicos de las MAMs, y su impacto en la funcionalidad mitocondrial y en el procesamiento de APP.

Introducción

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa, caracterizada por la pérdida progresiva de la memoria y aprendizaje (Castellani et al., 2010). Si bien se desconoce su causa, histológicamente se han identificado dos marcadores; las placas seniles y los ovillos neurofibrilares (Ballard et al., 2011). El péptido Aβ se postula como principal agente responsable de la EA (Hardy and Higgins, 1992), por su capacidad de generar dishomeostasis del Ca^{+2}, ATP, y lípidos (Blass et al., 2000; Lal et al., 2007)electrophysiological, and neuroimaging examinations. Therefore, impairment in energy metabolism in AD can not be attributed to loss of brain substance or to electrophysiological abnormalities. Among the characteristic abnormalities in the AD brain are deficiencies in several enzyme complexes which participate in the mitochondrial oxidation of substrates to yield energy. There include the pyruvate dehydrogenase complex (PDHC. En este contexto, la mitocondria es un factor clave, ya que funciona como tampón de Ca^{+2}, productor de ATP, y participa en el metabolismo de los lípidos, por ende, se ha asociado la disfunción mitocondrial como evento temprano de la pérdida de la conexión de la red neuronal, falla sináptica, y finalmente de la muerte neuronal (Onyango et al., 2016).

La producción del péptido Aβ comienza por el procesamiento proteolítico de la proteína precursora amiloide (APP), proteína integral de membrana que se puede procesar por dos vías. La vía no amiloidogénica involucra la participación de α-secretasa, una enzima que pertenece a la familia de metaloproteasas ADAM (del inglés A Disintegrin and Metalloprotease), y γ-secretasa, complejo compuesto por 4 proteínas: Presenilina 1 o 2 (PS1 o PS2), Nicastrina (Nct), Aph-1 (del iglés Anterior Pharinx-Defective-1) y Pen-2 (del inglés presenilin enhancer 2); de estas proteínas, PS1 y PS2 tienen la actividad catalítica y el resto tiene funciones regulatorias. Estas enzimas forman los productos: APPsα (APP soluble α), C83(APP-C83), AICD(Dominio intracelular carboxi terminal de la proteína APP) , y p3. Por otra parte, en la vía amiloidogénica, actúan β y γ-secretasa, que forman APPsβ, C99 (APP-C83), AICD y el péptido Aβ (Muller et al., 2017; Suh and Checler, 2002)the cause and progression of both familial and sporadic AD have not been fully elucidated. The autosomal-dominant inherited forms of early-onset Alzheimer's disease are caused by muta-

tions in the genes encoding APP, presenilin-1 (chromosome 14.
Se ha descrito que tanto APP como la maquinaría enzimática de ambas vías presentarían diferente distribución subcelular; la vía no amiloidogénica se produciría principalmente en la membrana plasmática y compartimentos secretorios tardíos, mientras que la vía amiloidogénica se produciría principalmente en compartimentos endosomales, balsas lipídicas (Zhang and Song, 2013) y estructuras denominadas MAMs (Membranas de Retículo Endoplásmico asociadas a mitocondrias) (Area-Gomez et al., 2012). Por lo tanto, sería en estos últimos compartimentos intracelulares donde se produciría el péptido Aβ, y no en la superficie de la membrana plasmática, como se ha sugerido clásicamente.
Las MAMs son dominios especializados entre retículo endoplásmico (RE) y mitocondrial, de una naturaleza semejante a las balsas lipídicas ya que son microdominios ricos en esfingomielina y colesterol resistentes a los detergentes (Aria Gómez et al., 2012), donde existe una asociación estrecha entre ambos organelos (10-20 nm), que les permite comunicarse entre sí física y bioquímicamente, facilitando las funciones de esta región tales como metabolismo del Ca^{+2}, lípidos, y regular funciones mitocondriales (Bernard-Marissal et al., 2018). Existe evidencia reciente de que las funciones asociadas a las MAMs aumentan significativamente en los modelos animales de la EA y en las células de pacientes con EA (Area-Gomez et al., 2012). Es por ello por lo que a continuación describiremos los principales roles que cumplen los MAMs y sus implicancias en la EA cuando estos se incrementan de forma patológica.

Rol de los MAMs en la transferencia de Ca^{+2}

Los MAMs tiene un rol en la transferencia de Ca^{+2} desde RE a la mitocondria, donde participarían los proteínas IP3R (receptor de IP3), Sigma R1 (Receptor intracelular no opioide sigma 1) a nivel de RE, y VDAC1(canal selectivo de aniones dependiente de voltaje 1) a nivel de la membrana mitocondrial externa (MME). Esta comunicación inter-organelar coordina tanto el metabolismo de Ca^{+2} como preservación de la integridad de la MME (Vance, 2014). Los estudios de proteómica para evaluar los niveles las proteínas del complejo IP3R-VDAC1, mostraron un aumento dependiente de la edad de los niveles de proteína VDAC1 en el hipocampo de ratones Tg2576, un modelo de la EA (Hsiao et al., 1996), comparadas con ratones control de la misma edad (6-12 meses). Además, en tejido cerebral de pacientes con EA (etapa Braak V-VI) los niveles de VDAC1 aumentaron significativamente (55%) comparados con individuos control (Cuadrado-Tejedor et al., 2011).
En relación con el IP3R, existen trabajos que muestran resultados distintos dependiendo de los modelos de estudio. En células CHO-7PA2 que expresan APPV717F, se encontró un incremento en los niveles del IP3R en comparación a células control, mismo resultado que se observó en modelos celulares de sobreexpresión de APP swedish (APPswe); sin embargo, en muestras de corteza de ratones transgénicos Tg2576 la expresión de IP3R no se vio afectada significativamente (Oules et al., 2012).
Por otra parte, en ratones P301L tau, que fueron inyectados en la amígdala con el péptido $A\beta_{1-42}$, no se observaron cambios significativos en muestras de corteza para la proteína GRP75 en comparación a muestras de corteza control. Esto también fue observado por análisis de western blot de la corteza temporal de individuos con EA, donde no se observaron cambios significativos en los niveles de GRP75 en comparación con individuos control (David et al., 2006).
Además, Dyzma describió una evidencia funcional de que el incremento en las asociaciones MAMs estaría relacionada con una mayor transferencia de Ca^{+2} desde el retículo hacia la mitocondria mediado por la vía IP3R-VDAC1 en un modelo de la EA. En células SHSY5Y al co-incubar con una agonista de la chaperona del IP3R Sigma R1 (Receptor Receptor intracelular no-opioide sigma 1), localizada en la interfaz RE-mitocondria, y el péptido Aβ, se producía una potenciación del flujo de Ca^{+2} desde el RE hacia la mitocondria (Dyzma et al., 2012).

Rol de los MAMs en mitofagia

El proceso de mitofagia es un proceso degradativo que regula el control de calidad mitocondrial, en el cual las mitocondrias depolarizadas asociadas un fenotipo hiperfisionado activan su reciclaje selectivo, y por lo tanto la célula es capaz de adaptar la cantidad y calidad de las mitocondrias dependiendo de sus necesidades energéticas. Este proceso estaría mediado por receptores Atg8 y Atg32 (Proteína relacionada con la autofagia 8 y 32), que reclutan la maquinaria autofágica en la mitocondria; evento que promueve su envoltura por un fagóforo que posteriormente se fusiona con un lisosoma (Bockler and Westermann, 2014).
De acuerdo al trabajo de Gelmetti (Gelmetti

et al., 2017), se logró describir que la formación de autofagosomas (mitofagosomas) ocurriría en las MAMs; y que este proceso estaba mediado por la relocalización de las proteínas mitofágicas PINK1, BECN1 en las MAMs. En otro trabajo, Böckler en un modelo de levaduras realizó mutantes de proteínas MAMs Mmm1, Mdm10, Mdm34, Mdm12 encargadas de estabilizar el acoplamiento RE-mitocondria, observado que estas mutantes eran defectuosas específicamente para el proceso mitofágico. Además, encontró una asociación entre atg8 y Mmm1, resultado que indicaría que la asociación MAM es necesaria para iniciar el proceso de la mitofagia de forma selectiva (Bockler and Westermann, 2014).

Rol de los MAMs en transporte mitocondrial

La comunicación entre el cuerpo celular y los terminales sinápticos en las neuronas se basan en el transporte axonal, el cual es altamente eficiente para las mitocondrias, ya que deben alcanzar sitios especializados con alta energía de en un breve tiempo. Se ha descrito una correlación positiva entre el transporte de mitocondrias axonal con proteínas MAMs, en donde sería necesaria la interacción de Mfn2 (mitofusina 2), MIRO1/2 (Rho GTPase 1 y 2 mitocondrial) y las proteínas motoras quinesinas y dineinas para promover el transporte de las mitocondrias retrogrado y anterógrado, entre el soma neuronal y el axón (Bernard-Marissal et al., 2018).

Sin embargo, existe escasa información del papel de las MAMs en el compartimento axonal, y si la disfunción de MAM puede afectar específicamente el transporte axonal, ya que la mayoría de los estudios están hechos en líneas celulares. En modelos de esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y de neuropatías hereditarias motoras y sensoriales Villegas en un explante de nervio usando mutantes de proteínas MAMs SigmaR1 y Mfn2, logró visualizar que había una degradación axonal asociada a una falla en el transporte mitocondrial, lo que estaría sugiriendo que este transporte es dependiente de la formación de las MAMs (Villegas et al., 2014).

En motoneuronas, al suprimir la expresión de la proteína SigmaR1 disminuyó el transporte anterógrado mitocondrial, conduciendo a una acumulación mitocondrial en la zona distal del axón, interesantemente esta acumulación también condujo a un cambio en la morfología mitocondrial (Bernard-Marissal et al., 2018).

Rol de los MAMs en dinámica mitocondrial

La dinámica mitocondrial es el proceso que regula la fisión y fusión de mitocondrias, dependiendo de los requerimientos energéticos de la célula, suceso donde participan pro-

teínas para fisión como DRP1 y Fis1, y para fusión, como Mfn1,2 y OPA1. Se ha descrito que estos complejos MAMs se encontrarían directamente asociados con un rol directo en la dinámica mitocondrial, ya que se ha encontrado que tanto DRP1 como mitofusina 1 y 2 se encontrarían reclutados en estos complejos, sin embargo, se le han adjudicado a los MAMs un rol en la desarrollo un fenotipo más fisionado. De hecho, cuando hay una disrupción de los complejos MAMs por la deleción de Sigmar1, se observó una alteración en la dinámica mitocondrial, que condujo a que las mitocondrias presentasen un fenotipo mitocondrial más fusionado (Bernard-Marissal et al., 2018).

Otra proteína altamente estudiada que coordina la fusión mitocondrial es Mfn2, proteína que forma homodiméros entre RE y mitocondria (ya que se encuentra expresada en ambos organelos), o heterodímeros con Mfn1 (se encuentra sólo en mitocondria). En efecto, en células MEFs (del inglés Mouse Embryonic Fibroblasts) de un ratón MFN2-KO, hubo una menor obtención de MAMs por fraccionamiento subcelular, lo que estaba directamente correlacionado con la evidencia funcional que mostró que había una menor liberación de Ca^{+2} del RE a la mitocodnria, comparados con MEFs WT (Filadi et al., 2018). Sin embargo, en el año 2012 el grupo de Orci (Cosson et al., 2012), en el mismo modelo, se observó un efecto opuesto; por microscopía de transmisión electrónica e inmunofluorescenca en células MEFs del ratón MFN2-KO hubo un incremento en la yuxtaposición de los MAMs (~4.9%), comparadas con MEFs WT (~2,2%), y desde un punto de vista funcional hubo una directa correlación con el aumento de MAMs, ya que había una mayor liberación de Ca^{+2} del RE a la mitocondria en MEFs MFN2-KO que en MEFs WT (Filadi et al., 2018). Interesantemente, estos efectos estuvieron asociados a una disminución de la expresión del MCU (uniportador de Ca^{2+} mitocondrial), el cual media el importe de Ca^{+2} por la membrana mitocondrial interna. Por lo tanto, y a pesar de que aún es controversial el rol de Mfn2 en los MAMs, si podemos establecer que participa activamente como espaciador de la conformación de las asociaciones RE-mitocondria, aunque serán necesarias más investigaciones para abordar este problema.

Rol de los MAMs en la EA

En fibroblastos de pacientes humanos el grupo de Aria Gómez describió que existían distintas conformaciones entre retículo y mitocondria en fibroblastos de pacientes control, y observó que los MAMs principalmente presentaban áreas de superficie de contacto que alcanzaban asociaciones cortas (menores a los 50nm) (superiores al 50%), en tanto que áreas de contacto larga (entre 50 a 200 nm) se encontraban en torno al 30%, y las áreas de contacto muy largas (mayores a los 200nm) sólo alcanzaban entorno al 4%. En contraparte, se observó que en fibroblastos de pacientes con FAD y SAD, tenían áreas de contacto principalmente largas y muy largas, alcanzando porcentajes del 40% y del 35%, respectivamente (Area-Gomez et al., 2012).

Para lograr comprender por qué estas conformaciones altamente especializadas entre retículo y mitocondrias presentan una sobreexpresión, el grupo de Aria Gómez comenzó a estudiar si componentes de la vía amiloidogénica estaban regulando este aumento. Describió que las presinilinas en fibroblastos humanos se encontraban enriquecidas en los MAMs, utilizando marcadores contra proteínas como es FACL-4, proteína descrita clásicamente como proteína MAM. Además, por fraccionamiento subcelular (para separar los MAMs del retículo y mitocondria), se observó que las presenilinas 1 y 2 se encontraban altamente enriquecidas en los compartimentos MAM, respecto de la membrana plasmática, la mitocondria y el retículo endoplasmático. Además, al analizar la actividad de esta proteína por un ensayo enzimático se pudo concluir que son los compartimiento MAMs los que tienen una mayor actividad de la γ-secretasa con respecto a los otros compartimientos subcelulares. En otro trabajo similar, el grupo de Schreiner describió que además este compartimiento MAM era el que presentaba una mayor producción del péptido β-amiloide, respecto de RE, mitocondria y membrana plasmática (Schreiner et al., 2015).

Respecto de la localización de los otros componentes de la vía amilodogénica, se analizó la localización de β-secretasa y APP en compartimentos intracelulares. Primero, por fraccionamiento subcelular con separación de gradiente de sucrosa en fracciones mitocondriales y fracciones endosomales lisosomales, se pudo observar con distintos marcadores para endosomas, Golgi, retículo y MAMs, que APP y BACE1, el componente catalítico de la β-secretasa, cofraccionan parcialmente con marcadores de endosomas tempranos y tardíos, y con marcadores MAM. Sin embargo, faltan evidencias funcionales de la actividad de β-secretasa en estos compartimentos (Pera et al., 2017). Otra observación importante de estos autores fue que en cerebros de ratones WT no había un inmunomarcaje positivo para los fragmentos derivados de la escisión

en el fragmento C-terminal de APP por la β-secretasa (APP-CTF), que corresponden al fragmento C83 y al C99. Esto podría evidenciar 2 fenómenos; el primero es que no estarían presentes en estos complejos MAMs y la otra posibilidad es que es la alta la actividad de la γ-secretasa estaría rápidamente escindido el fragmento APP-CTF de la vía amiloidogéncia (C99) para producir el péptido β-amiloide y el dominio intracelular AICD.
Por ende, utilizando un doble KO para las presinilinas 1 y 2, observaron que los APP-CTF se encuentran cofraccionando con endosomas y con los MAMs. En células COS-7, línea celular de riñón humano, tratadas con DAPT, un inhibidor de la γ-secretasa, se observó una triple colocalización positiva entre C99, SEC61β, una proteína de retículo, y una sonda mitocondrial, indicando la presencia de este fragmento en los MAMs (Pera et al., 2017). Además, en células MEFs del doble KO de las presenilinas utilizando anticuerpos APP-CTF, se observó la presencia de C99 en los MAMs (Pera et al., 2017).
Sin embargo, falta evidencia que indique que efectivamente sería C99 el fragmento que se encuentra en los MAMs, debido a que estos autores utilizaron un anticuerpo que también sería positivo para C83; por lo tanto, faltan más trabajos que indiquen efectivamente es este fragmento de la vía amiloidogénica que estaría localizado en estos compartimientos.
Se observó que los MAMs se encuentran regulados negativamente por las presinilinas. En células MEFs de ratones DKO para las presinilinas, se observó que había un incremento en la colocalización entre marcadores de RE y mitocondria, respecto de células MEFs de ratones WT. Además, al utilizar BI, un inhibidor de β-secretasa, se observó una disminución significativa de la colocalización entre ambas marcas. Por lo tanto, C99 estaría regulando directamente la sobrerregulación MAM. Este resultado también fue confirmado por ensayo de microscopía electrónica, en donde observó que había un incremento en las áreas de contacto largas y muy largas de los MAMs (>200nm) en células DKO, que además presentaban una conformación punteada no superior al 20%, respecto de las células MEFs-WT, que principalmente tenían una conformación punteada (sobre el 80%), en tanto que alcanzaban áreas de contacto en bajo porcentaje (menores del 16%), y las muy largas no más de un 4%. Además, se observó un aumento de la funcionalidad de los MAMs en células MEFs de ratones DKO, respecto de células MEFs de ratones WT (Area-Gomez et al., 2012).
Desde un punto de vista funcional, por ensayos de radioactividad donde se midió la activad de ACAT1, enzima que transforma el colesterol al colesterol éster, se observó que en células WT MEFs tratadas con un inhibidor de la γ-secretasa (DAPT) había un aumento en la actividad de ACAT1 en comparación al vehículo con DMSO y este efecto se revirtió al añadir un inhibidor de la β-secretasa (BI). Cabe destacar que este efecto no se vio revertido en este caso por in inhibidor de la α-secretasa (TAPI); confirmando entonces que sería C99 y no C83 el que estaría regulando las MAMs.
Interesantemente, se observó que había una comunicación entre presinilinas y la proteína Mfn2, ya que ambas participaban en la misma ruta de actividad de las MAMs (Area-Gomez et al., 2012). Para ello, en células WT MEFs comparadas con doble KO (DKO) de las presinilinas 1 y 2 se observó que el escisión de C99 se vio inhibida en células MEFs DKO. Por otra parte, al utilizar un ratón KO para mitofusina 2 en células MEFs y al compararlos con ratones WT MEFs, se observó un efecto similar en células MEFs DKO; ambas presentaban una disminución de escisión de C99. Estos datos establecen entonces que Mfn 2 regularía positivamente el clivaje de C99 y la actividad de γ-secretasa, y, por ende, estaría potenciando la vía amiloidogenica.

Rol de los MAMs en la disfunción mitocondrial

Ha sido ampliamente estudiado que en la EA ocurre una disfunción mitocondrial, pero aún se desconoce la razón de esta alteración. Una de las hipótesis que ha sido ampliamente estudiada por el grupo de Área Gómez (Area-Gomez et al., 2009, 2012; Pera et al., 2017), es que el aumento de la comunicación mitocondrial ER y la función MAM en la EA sería la responsable de esta alteración, y esta alteración esta mediada por una potenciación de la vía amiloidogénica. En efecto, el rol que tendría C99 de la vía amiloidogénica tendría un alto impacto en la funcionalidad mitocondrial. Esta alteración en funcionalidad mitocondrial fue observada mediante ensayos de Seahorse de fracciones enriquecidas en mitocondrias, que permiten medir en tiempo real medir el consumo de oxígeno (ORC), fenómeno asociado directamente a la funcionalidad de los complejos respiratorios de la cadena transportadora de electrones, y por ende, a la capacidad de producir ATP.
Se observó que células MEFs APP-DKO (doble KO de APP) presentaban un mayor consumo de oxígeno en comparación a MEFs WT, indicando que C99 estaría regulando negativamente la función mitocondrial. Este resultado fue confirmado al utilizar un fragmento

En la siguiente esquema se encuentra un modelo propuesto que resume lo expuesto anteriormente en esta revisión:

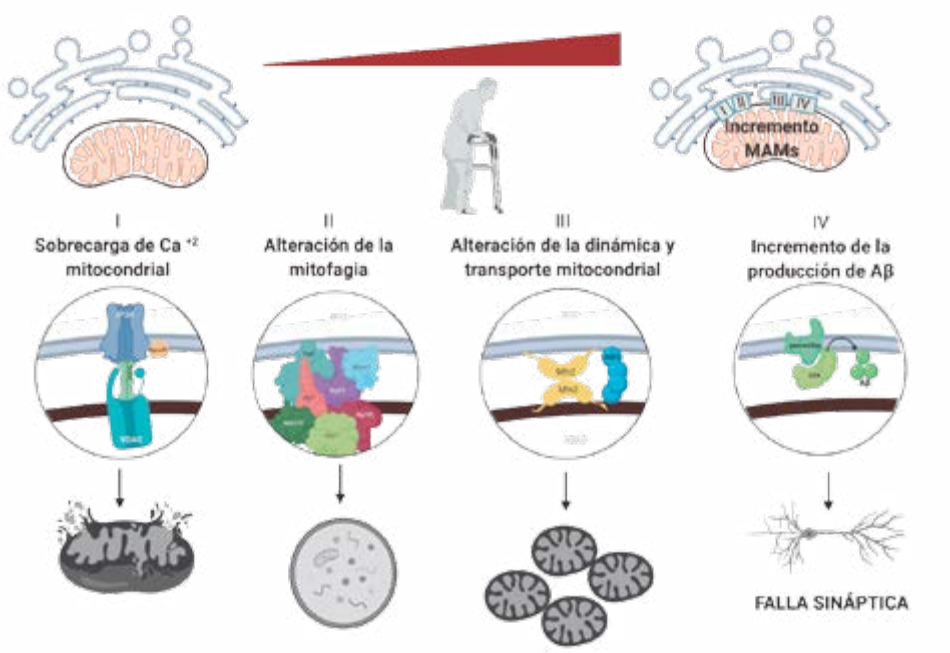


Figura 1. Rol de las MAMs en la EA. Esquema representativo que muestra las vías que estarían involucradas en la falla sináptica. Se puede observar que el incremento en la asociación RE-mitocondria mediaría la disfunción mitocondrial mediante alteración de los componentes encargados de regular la homeostasis de calcio (I), mitofagia (II), transporte y dinámica mitocondria (III), y la producción del péptido Aβ (IV).

de C99 en el ratón APP-DKO donde hubo una disminución significativa de la función mitocondrial en ratones APP-DKO C99, comparadas con ratones APP-DKO. Es más, esta disminución se vio potenciada al utilizar este fragmento C99 en conjunto con un inhibidor de la γ-secretasa (DAPT), indicando que C99 estaría promoviendo la pérdida de la correcta función mitocondrial (Pera et al., 2017).

Por otra parte, en células MEFs DKO (para presinilina 1 y 2), hubo una disminución significativa del consumo de oxígeno respecto a células MEFs WT. Sin embargo, cuando se utilizó un inhibidor de la síntesis de Novo de lípidos (Miriocina), y por ende, bloqueando el flujo de lípidos hacia la mitocondria, hubo una reversión de este fenómeno de disfunción mitocondrial, reflejando en la disminución en la capacidad respiratoria mitocondrial estaría mediada por el aumento del metabolismo lipídico en los MAMs (Pera et al., 2017). Cabe destacar que falta evidencia de posibles efectos de AICD y de los fragmentos de APP soluble β que no se ha descrito hasta el momento, que y pudiesen también estar afectando la funcionalidad mitocondrial. Por lo tanto, podemos concluir que la alteración o mutación las presinilinas impiden el correcto corte de C99, lo que estaría induciendo disfunción mitocondrial, evento que se ha asociado directamente con la falla sináptica y la muerte neuronal en pacientes con EA.

En suma, como hemos visto, es posible que la intercomunicación entre RE y Mitocondrial va más allá de los roles clásicamente atribuidos a estas dos importantes organelas; y permiten pensar que frente a la carencia de selectividad o especificidad de los actuales fármacos indicados en las etapas leves a moderadas de la EA, la identificación de nuevas dianas terapéuticas, que permitan abrir nuevos espacios de desarrollo de moléculas de síntesis, o moléculas biológicas que puedan modular la función de las MAMs, representa una interesante oportunidad para el desarrollo farmacológico de medicamentos neuroprotectores.

Referencias

Area-Gomez, E., de Groof, A. J. C., Boldogh, I., Bird, T. D., Gibson, G. E., Koehler, C. M., et al. (2009). Presenilins are enriched in endoplasmic reticulum membranes associated with mitochondria. Am. J. Pathol. 175, 1810–1816. doi:10.2353/ajpath.2009.090219.

Area-Gomez, E., Del Carmen Lara Castillo, M., Tambini, M. D., Guardia-Laguarta, C., de Groof, A. J. C., Madra, M., et al. (2012). Upregulated function of mitochondria-associated ER membranes in Alzheimer disease. EMBO J. 31, 4106–4123. doi:10.1038/emboj.2012.202.

Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D., and Jones, E. (2011). Alzheimer's disease. Lancet (London, England) 377, 1019–1031. doi:10.1016/S0140-6736(10)61349-9.

Bernard-Marissal, N., Chrast, R., and Schneider, B. L. (2018). Endoplasmic reticulum and mitochondria in diseases of motor and sensory neurons: a broken relationship? Cell Death Dis. 9, 333. doi:10.1038/s41419-017-0125-1.

Blass, J. P., Sheu, R. K., and Gibson, G. E. (2000). Inherent abnormalities in energy metabolism in Alzheimer disease. Interaction with cerebrovascular compromise. Ann. N. Y. Acad. Sci. 903, 204–221.

Bockler, S., and Westermann, B. (2014). Mitochondrial ER contacts are crucial for mitophagy in yeast. Dev. Cell 28, 450–458. doi:10.1016/j.devcel.2014.01.012.

Castellani, R. J., Rolston, R. K., and Smith, M. A. (2010). Alzheimer disease. Dis. Mon. 56, 484–546. doi:10.1016/j.disamonth.2010.06.001.

Cosson, P., Marchetti, A., Ravazzola, M., and Orci, L. (2012). Mitofusin-2 independent juxtaposition of endoplasmic reticulum and mitochondria: an ultrastructural study. PLoS One 7, e46293–e46293. doi:10.1371/journal.pone.0046293.

Cuadrado-Tejedor, M., Vilariño, M., Cabodevilla, F., Del Río, J., Frechilla, D., and Pérez-Mediavilla, A. (2011). Enhanced expression of the voltage-dependent anion channel 1 (VDAC1) in alzheimer's disease transgenic mice: An insight into the pathogenic effects of amyloid-β. J. Alzheimer's Dis. 23, 195–206. doi:10.3233/JAD-2010-100966.

David, D. C., Ittner, L. M., Gehrig, P., Nergenau, D., Shepherd, C., Halliday, G., et al. (2006). Beta-amyloid treatment of two complementary P301L tau-expressing Alzheimer's disease models reveals similar deregulated cellular processes. Proteomics 6, 6566–6577. doi:10.1002/pmic.200600634.

Dyzma, M., Szopa, P., and Kaźmierczak, B. (2012). Membrane associated complexes : new approach to calcium dynamics modelling. Math. Model. Nat. Phenom. 7, 167–186. doi:DOI: 10.1051/mmnp/20127608.

Filadi, R., Pendin, D., and Pizzo, P. (2018). Mitofusin 2: from functions to disease. Cell Death Dis. 9, 330. doi:10.1038/s41419-017-0023-6.

Gelmetti, V., De Rosa, P., Torosantucci, L., Marini, E. S., Romagnoli, A., Di Rienzo, M., et al. (2017). PINK1 and BECN1 relocalize at mitochondria-associated membranes during mitophagy and promote ER-mitochondria tethering and autophagosome formation. Autophagy 13, 654–669. doi:10.1080/15548627.2016.1277309.

Hardy, J. A., and Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. Science 256, 184–185.

Hsiao, K., Chapman, P., Nilsen, S., Eckman, C., Harigaya, Y., Younkin, S., et al. (1996). Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. Science 274, 99–102. doi:10.1126/science.274.5284.99.

Lal, R., Lin, H., and Quist, A. P. (2007). Amyloid beta ion channel: 3D structure and relevance to amyloid channel paradigm. Biochim. Biophys. Acta 1768, 1966–1975. doi:10.1016/j.bbamem.2007.04.021.

Muller, U. C., Deller, T., and Korte, M. (2017). Not just amyloid: physiological functions of the amyloid precursor protein family. Nat. Rev. Neurosci. 18, 281–298. doi:10.1038/nrn.2017.29.

Onyango, I. G., Dennis, J., and Khan, S. M. (2016). Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease and the Rationale for Bioenergetics Based Therapies. Aging Dis. 7, 201–214. doi:10.14336/AD.2015.1007.

Oules, B., Del Prete, D., Greco, B., Zhang, X., Lauritzen, I., Sevalle, J., et al. (2012). Ryanodine receptor blockade reduces amyloid-beta load and memory impairments in Tg2576 mouse model of Alzheimer disease. J. Neurosci. 32, 11820–11834. doi:10.1523/JNEUROSCI.0875-12.2012.

Pera, M., Larrea, D., Guardia-Laguarta, C., Montesinos, J., Velasco, K. R., Agrawal, R. R., et al. (2017). Increased localization of APP-C99 in mitochondria-associated ER membranes causes mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease. EMBO J. 36, 3356–3371. doi:10.15252/embj.201796797.

Schreiner, B., Hedskog, L., Wiehager, B., and Ankarcrona, M. (2015). Amyloid-beta peptides are generated in mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes. J. Alzheimers. Dis. 43, 369–374. doi:10.3233/JAD-132543.

Suh, Y.-H., and Checler, F. (2002). Amyloid precursor protein, presenilins, and alpha-synuclein: molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. Pharmacol. Rev. 54, 469–525.

Vance, J. E. (2014). MAM (mitochondria-associated membranes) in mammalian cells: lipids and beyond. Biochim. Biophys. Acta 1841, 595–609. doi:10.1016/j.bbalip.2013.11.014.

Villegas, R., Martinez, N. W., Lillo, J., Pihan, P., Hernandez, D., Twiss, J. L., et al. (2014). Calcium release from intra-axonal endoplasmic reticulum leads to axon degeneration through mitochondrial dysfunction. J. Neurosci. 34, 7179–7189. doi:10.1523/JNEUROSCI.4784-13.2014.

Zhang, X., and Song, W. (2013). The role of APP and BACE1 trafficking in APP processing and amyloid-beta generation. Alzheimers. Res. Ther. 5, 46. doi:10.1186/alzrt211.

Caracterización del daño articular en pacientes hemofílicos adultos del Servicio de Salud Viña del Mar - Quillota (SSVQ)

Christine Rojas[1]; Felipe Bretti[a]; Camila Aranguiz[a]; Francisco Arraya[a]; Verónica Escobar[a]
1. Médica Hematóloga, Hospital Dr. Gustavo Fricke, Viña del Mar, Chile
a. Interna/o 7º año de Medicina, Universidad Andrés Bello, Viña del Mar, Chile
Contacto: +56 9 9178 2166 / rojashopkins@yahoo.com
Conflictos de interés:
Este equipo declara no tener ningún conflicto de interés con el desarrollo de esta investigación.

Resumen

Introducción

La hemofilia es una coagulopatía hereditaria caracterizada por la aparición de hemorragias y hemartrosis, generando daño articular, disminuyendo la calidad de vida del paciente y evolucionando a artropatía crónica, aumentando los costos en salud pública.

Material y método

Estudio de cohorte retrospectiva con revisión de fichas clínicas del servicio de hematología adultos del Hospital Dr. Gustavo Frike (HGF), obteniéndose datos sobre su funcionalidad física y social, tipo y gravedad de hemofilia, frecuencia de controles médicos, acceso al diagnóstico y tratamiento; y eventos hemorrágicos. Se realizaron análisis estadísticos descriptivos, de inferencia y de sobrevida.

Resultados

De 69 fichas clínicas, el 92,8% presentó hemofilia A y 7,2% hemofilia B. El 42% tuvo hemofilia leve, 30,4% moderada y 27,5% severa. La frecuencia media de hemartrosis fue 10,7 eventos, articulaciones diana de 0,4 y artropatía crónica de 1,3. Las hemorragias se relacionaron de forma inversa con la edad diagnóstico y al primer tratamiento ($p<0,01$). El primer tratamiento con liofilizados de factor VIII mostró menores complicaciones articulares a corto y largo plazo ($p<0,01$) en comparación con Crioprecipitados. El tiempo medio hasta el desarrollo de articulaciones diana fue de 30,8 años y artropatía crónica de 22,9 años.

Discusión

La muestra de hemofílicos adultos del HGF presenta distribuciones demográficas, funcionales y sociales similares a lo visto en otras regiones, tienen un mejor perfil funcional y menos hemorragias, sobre todo articulares. Se requiere optimizar el inicio del tratamiento para obtener mejores tasas de morbilidad articular.

Conclusión

La detección y comienzo de la terapia inicial con Liofilizados del factor deficiente de manera precoz, puede retrasar la aparición temprana de las complicaciones articulares y su progreso hacia la artropatía crónica .

Palabras clave: Hemofilia A, hemofilia B, hemartrosis, enfermedades articulares, hemartrosis.

CARACTERIZATION OF JOINT DAMAGE IN ADULT HEMOPHILIC PATIENTS IN SERVICIO DE SALUD VIÑA DEL MAR-QUILLOTA (SSVQ)

Abstract

Objective

Hemophilia is a hereditary bleeding disorder characterized by bleedings and hemarthrosis generating articular damage, worsening the patient's quality of life and leading to chronic arthropathy, which increases health care expenses.

Material and method

Retrospective cohort study with medical files review in adult hematology department in Hospital Dr. Gustavo Fricke (HGF), obtaining data about their physical and social functionality, type and severity of hemophilia, frequency of medical attention, access to diagnosis and treatment; and bleeding events. Descriptive, inference and survival statistical analysis were developed.

Results

Of 69 medical files, 92,8% had type A hemophilia and 7,2% had type B hemophilia. 42% had mild, 30,4% had moderate and 27,5% had severe hemophilia. The mean frequency of hemarthrosis was 10,7 events, 0,4 target joints, and 1,3 chronic arthropathy. Bleeding events had an inverse correlation with age at diagnosis and at first treatment (p<0,01). First treatment with factor VIII concentrate showed less acute and chronic articular complications. Mean estimated time until target joint development was 30,8 years and for chronic arthropathy was 22,9 years. Discussion: The sample of adult hemophilic patients from HGF has demographic, functional and social distributions similar to the ones found in other regions, better functional profile and less bleeding events, especially articular ones. It is necessary to improve initial treatment in order to obtain better articular morbidity rates.

Conclusions

The detection and beginning of the initial therapy with lyophilisates of the deficient factor can delay the early onset of joint complications and their progress towards chronic arthropathy.

Key words: Hemophilia A, hemophilia B, hemarthrosis, joint diseases.

Introducción

La hemofilia es una coagulopatía hereditaria ligada al cromosoma X de carácter recesivo, cuya mutación genera el déficit de los factores de coagulación VIII (A), IX (B) y XI (C), siendo los hombres quienes expresan la enfermedad(1,2). Hasta el año 2017 se han reportado 196.706 casos a nivel mundial, de los cuales, 80% son Hemofilia A, 16% B y solo un 4% las C. En Chile se observó la misma distribución con 1.700 pacientes censados(3). La hemofilia también puede ser clasificada por gravedad según los niveles plasmáticos del factor involucrado, en leve (5-40%), moderada (1-5%) y grave (<1%)(1,4,5).

Sus manifestaciones clínicas se caracterizan por la aparición de eventos hemorrágicos inesperados en mucosas, músculos y articulaciones (principalmente tobillos, rodillas y codos). La principal complicación de estos pacientes es el riesgo de desarrollar artropatía hemofílica secundaria a hemartrosis recurrentes, donde los sitios más frecuentes en pacientes sin tratamiento son rodillas (45%), codos (30%), tobillos (15%), hombros (3%) y muñecas (2%) (6). Esto ocurre porque el contacto del sinoviocito con la sangre genera una respuesta inflamatoria local, hipertrofia e hipervascularización, aumentando el riesgo de re-sangrado con cada episodio. Cuando las hemorragias articulares se hacen más frecuentes y severas, esta reacción progresa hacia sinovitis crónica y artritis degenerativa(6,7).

Existen tratamientos profilácticos con concentrados de FVIII liofilizado o Crioprecipitados, que han aportado en la prevención de complicaciones hemorrágicas si se inicia a temprana edad (1 a 2 años)(8). Sin embargo, el diagnóstico tardío dificulta el tratamiento preventivo oportuno(3). Se debe evaluar en cada paciente la necesidad de terapia complementaria con fisioterapia, ayudas técnicas o, en caso de artropatías crónicas, la sinoviortesis (destrucción del tejido sinovial por inyección intraarticular de un agente radiactivo o químico), la sinovectomía o, en casos severos, el reemplazo articular(9).

Es por esto que se ha planteado caracterizar a la población de pacientes hemofílicos del HGF, para con esta información, describir el desarrollo de artropatía crónica y optimizar el manejo de esta patología.

Material y métodos

Se realizó un estudio observacional de cohorte retrospectiva utilizando las guías STROBE para su elaboración(10). Se extrajo información desde las fichas clínicas de pacientes hemofílicos controlados en el policlínico de hematología del Hospital Dr. Gustavo Fricke, incluyendo a todos los pacientes vivos con hemofilia A o B, mayores de 14 años de edad, en control hasta marzo del 2019, previa aprobación por Comité de Bioética de la Universidad Andrés Bello. Se excluyeron los pacientes que presentaron menos de 2 controles médicos en hematología y aquellos cuya ficha no explicitaba los datos requeridos. Se obtuvieron los datos demográficos de los pacientes, su nivel de funcionalidad física y social, tipo y gravedad de la hemofilia; frecuencia de controles médicos, edad al diagnóstico, edad al inicio del primer tratamiento, complicaciones agudas (hemorragias, hemartrosis, hematomas), complicaciones crónicas (articulación diana, artropatía crónica) y tratamiento recibido para la artropatía.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de frecuencias absolutas, relativas y medias aritméticas con intervalos de confianza al 95% y desviaciones estándar. Dado que la distribución de la muestra estudiada mostró no ser del tipo normal, el análisis inferencial se llevó a cabo mediante el uso de pruebas no paramétricas. Se utilizó coeficiente de correlación de Spearman, prueba de Kruskal-Wallis, y Mann-Whitney dependiendo de la cantidad y tipo de variable analizada.

Se realizaron 2 análisis de supervivencia, dividiendo a la muestra según gravedad de hemofilia, tomando como punto inicial el momento del diagnóstico y como evento terminal el desarrollo de articulación diana o de artropatía crónica respectivamente, con seguimiento hasta marzo 2019. Se consideraron criterios de censura el fallecimiento, la artropatía por otra etiología, eventos no relacionados a la hemofilia o disponibilidad de datos limitada. Se graficaron curvas de Kaplan-Meier y se compararon mediante la prueba de Log-rank. Para este último análisis se excluyeron 5 pacientes cuya fecha de diagnóstico no fue establecida en la ficha.

Los datos obtenidos fueron tabulados en el programa Microsoft Office Excel y se utilizó el software IBM SPSS Statistics 25 para el análisis estadístico, considerándose significativo un valor de $p<0,05$ para todas las pruebas realizadas.

Resultados

De un total de 103 pacientes hemofílicos, se descartaron 34 por no cumplir con los criterios de inclusión, quedando 69 fichas clínicas con fechas de diagnósticos desde octubre de 1979 hasta marzo 2019.

El rango de edad de la muestra fue de 14 a 72 años con una media de 31 (IC 95% = 28 - 34; DE = 14). La edad al diagnóstico varió desde 1 mes de edad hasta los 67 años con una media de 8 años (IC 95% 5 a 12, DE 14) y la edad al primer tratamiento recibido fluctuó entre 1 mes de edad y los 71 años con una media de 11 años (IC 95% = 8 – 15; DE = 15). Otros datos sobre funcionalidad física y social, tipo y gravedad de hemofilia, tratamiento inicial recibido y frecuencia de atención médica se muestran en la Tabla 1.

De los 69 pacientes estudiados, 64 (92,8%) presentaron hemofilia A y 5 (7,2%) hemofilia B. A su vez, 29 (42%) tenían hemofilia leve, 21 (30,4%) moderada y 19 (27,5%) severa (Tabla 1), con una media de edad de 30 (IC 95% 22-35, DE 14), 32 (IC 95% 24-39, DE 16) y 32 años (IC 95% 26-38, DE 12) respectivamente. La media de eventos hemorrágicos fue de 17,2

Tabla 1

Tabla 1. Análisis Descriptivo de la población

		N%	
Funcionalidad Física	Sin ayudas técnicas	62	89,90%
	Con ayudas técnicas	7	10,10%
	Dismovilizado	00	,00%
Discapacidad	No	67	97,10%
	Sí	22	,90%
Tipo de Hemofilia	A6	49	2,80%
	B5		7,20%
Gravedad de la Hemofilia	Leve	294	2,00%
	Moderada	21	30,40%
	Severa1	92	7,50%
Tipo de Primer Tratamiento	PFC1	0	16,70%
	Crioprecipitado	18	30,00%
	Liofilizado	32	53,30%
Frecuencia de Controles Médicos	Infrecuente*	36	52,20%
	Frecuente**3	3	47,80%

*Infrecuente: Menos de 1 control médico al año
**Frecuente: Más de 1 control médico al año
PFC : Plasma Fresco Congelado

Tabla 2

Tabla 2. Complicaciones Articulares según Localización Articular

Localización	Hemofilia Leve			Hemofilia Moderada			Hemofilia Severa		
	HemartrosisA	D	AC	HemartrosisA	D	AC	HemartrosisA	D	AC
Hombro	1(3,40%)0	(0,00%)0	(0,00%)1	(4,80%)0	(0,00%)0	(0,00%)6	(31,60%)0	(0,00%)2	(10,50%)
Codo	5(17,20%)1	(3,40%)1	(3,40%)	12(57,10%)3	(14,30%)5	(23,80%)	15(78,90%)2	(10,50%)	12(63,20%)
Muñeca	0(0,00%)0	(0,00%)0	(0,00%)1	(4,80%)0	(0,00%)0	(0,00%)4	(21,10%)0	(0,00%)0	(0,00%)
Cadera	0(0,00%)0	(0,00%)0	(0,00%)2	(9,60%)0	(0,00%)0	(0,00%)4	(21,10%)0	(0,00%)1	(5,30%)
Rodilla	13(44,80%)2	(6,90%)5	(17,20%)	11(52,4%)2	(9,50%)7	(33,33%)	18(94,70%)6	(31,60%)	16(84,20%)
Tobillo	7(24,10%)0	(0,00%)3	(10,3%)	15(71,40%)3	(14,3%)5	(23,80%)	18(94,70%)3	(15,80%)	11(57,90%)
Otra	0(0,00%)0	(0,00%)0	(0,00%)2	(9,50%)0	(0,00%)0	(0,00%)4	(21,10%)2	(10,50%)0	(0,00%)

D: Articulación Diana
C: Artropatía Crónica

(IC 95% 12,5 - 22, DE 19,8), con un promedio de hemorragias en musculo de 3,5 (IC 95% 2,1 – 4,8, DE 5,7) y en tejidos blandos u órganos de 3,1 (IC 95% 2,4 – 3,9, DE 3). La media de hemartrosis de 10,7 eventos (IC 95% 7,2 – 14,1, DE 14,3), de articulaciones diana de 0,4 (IC 95% 0,2 – 0,5, DE 0,6) y de artropatía crónica de 1,3 (IC 95% 0,9 – 0,7, DE 1,6). Las frecuencias de eventos de hemartrosis, articulaciones dianas y artropatía crónica por localización según severidad de la enfermedad, se presentan en la Tabla 2.

Análisis de inferencia

Al evaluar la correlación entre edad al primer tratamiento y la aparición de complicaciones agudas y crónicas, se obtuvo un coeficiente de Spearman de -0,632 para los sangrados ($p<0,01$), -0, 652 para hemartrosis ($p<0,01$), -0,350 para articulación diana ($p<0,01$) y -0,446 para artropatía crónica ($p<0,01$) (Tabla 3).
El análisis de la comparación de aparición de complicaciones agudas y crónicas según el tipo de primer tratamiento, entregó un Coeficiente de Kruskall-Wallis de 9,347 para la artropatía crónica ($p<0,01$), sin diferencias significativas en la aparición de otras complicaciones. En la comparación mediante coeficiente de Mann-Whitney del uso de liofilizados de factor VIII versus crioprecipitado para la aparición de complicaciones, mostró frecuencias de hemorragias, hemartrosis y artropatía crónica significativamente mayores en el uso de este último. (Tabla 4). La frecuencia de controles médicos mayor o menor de 1 visita al año no mostró significancia estadística ($p>0,01$) en la aparición de complicaciones agudas o crónicas.

Análisis de supervivencia

De los 64 pacientes incluídos en este análisis, 29 correspondían a hemofilia leve, 20 moderada y 15 severa. De ellos, 20 (31,2%) desarrollaron articulaciones diana de los cuales 3 presentaban hemofilia leve, 8 moderada y 9 severa. Por otra parte, 44 (68,8%) fueron censurados por no presentar el evento durante el tiempo de seguimiento siendo 26 hemofílicos leves, 12 moderados y 6 severos.
La media de tiempo libre de desarrollo de articulaciones diana (supervivencia) para la hemofilia leve fue de 32,2 años (IC 95% 28,4 – 36, DE 1,9), para la moderada fue de 27,8 años (IC 95% 19,2 – 36,4, DE 4,4) y para la severa de 17,3 años (IC 95% 10,6 – 24, DE 3,4).

Tabla 3

Tabla 3. Complicaciones Articulares Según Edad al Diagnóstico y al Inicio de Tratamiento

	Edad al Diagnóstico		Edad al inicio del tratamiento	
Complicación	Rho	*p*	Rho	*p*
Hemorragia-	0,63	<0,01	-0,62	<0,01
Hemartrosis	-0,65	<0,01	-0,63	<0,01
Articulación Diana	-0,35	<0,01	-0,37	<0,01
Artropatía Crónica	-0,45	<0,01	-0,40	<0,01

Tabla 4

Tabla 4. Complicaciones Articulares Según Tipo de Primer Tratamiento

Complicación	Crioprecipitado	Liofilizado FVIII	*p*
Hemorragia	33,31%	21,11%	<0,01
Hemartrosis	33,33%	21,09%	<0,01
Articulación Diana	29,06%	23,50%	0,09
Artropatía Crónica	33,03%	21,27%	<0,01

La media de supervivencia general fue de 30,8 años (IC 95% 25,9 – 35,6, DE 2,5). En la Figura 1 se muestran los grupos mediante las curvas de supervivencia de Kaplan-Meyer, las que al ser comparadas mediante la prueba de Log-Rank2, muestra diferencias significativas entre las hemofilia leve – moderada y leve – severa, no así para la moderada – severa. En 32 (50%) de estos pacientes se encontró desarrollo de artropatía crónica, de los cuales 6 presentaban hemofilia leve, 12 moderada y 14 severa. Por otra parte 32 (50%) fueron censurados por no presentar el evento durante el tiempo de seguimiento siendo 23 hemofílicos leves, 8 moderados y 1 severo. La media de tiempo de desarrollo de artropatía crónica (supervivencia) para hemofilia leve fue de 27,3 años (IC 95% 22,3 – 32,3, DE 2,6), para moderada fue 22,2 años (IC 95% 14,8 – 29,5, DE 3,8) y para severa fue 10,7 años (IC 95% 6,6 – 14,9, DE 2,1). La media de supervivencia general fue de 22,9 años (IC 95% 18,4 – 27,5, DE 2,3). En la Figura 2 se muestran los grupos mediante las curvas de supervivencia de Kaplan-Meyer las que al ser comparadas mediante la prueba de Log-Rank2, muestra diferencias significativas al comparar todas las curvas.

Figura 1

Figura 1. Curva de Supervivencia Kaplan-Meier para Articulaciones Diana

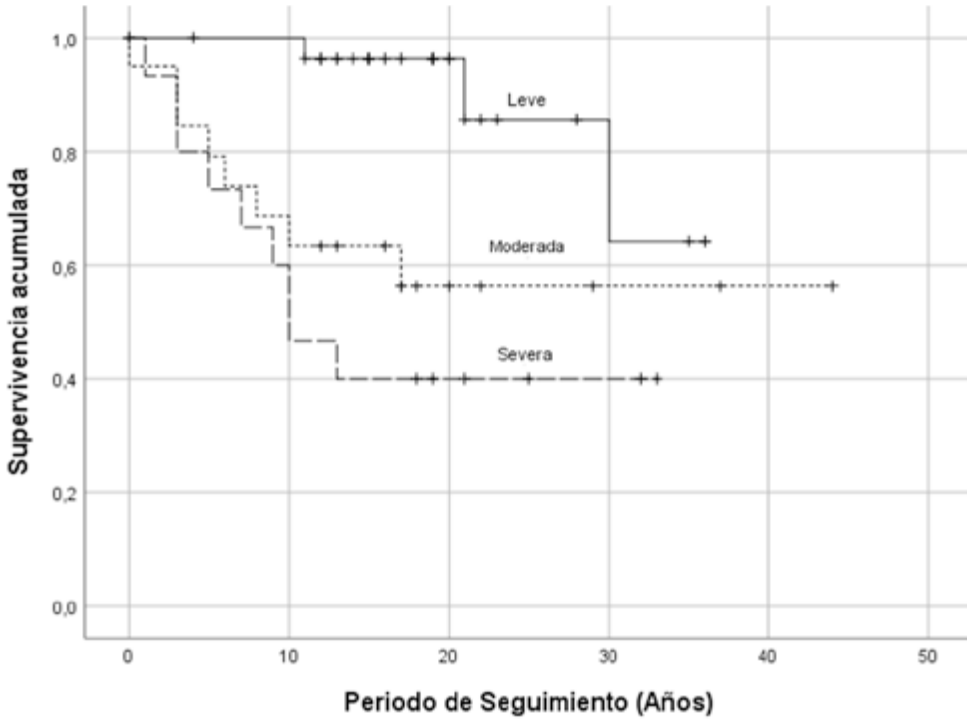
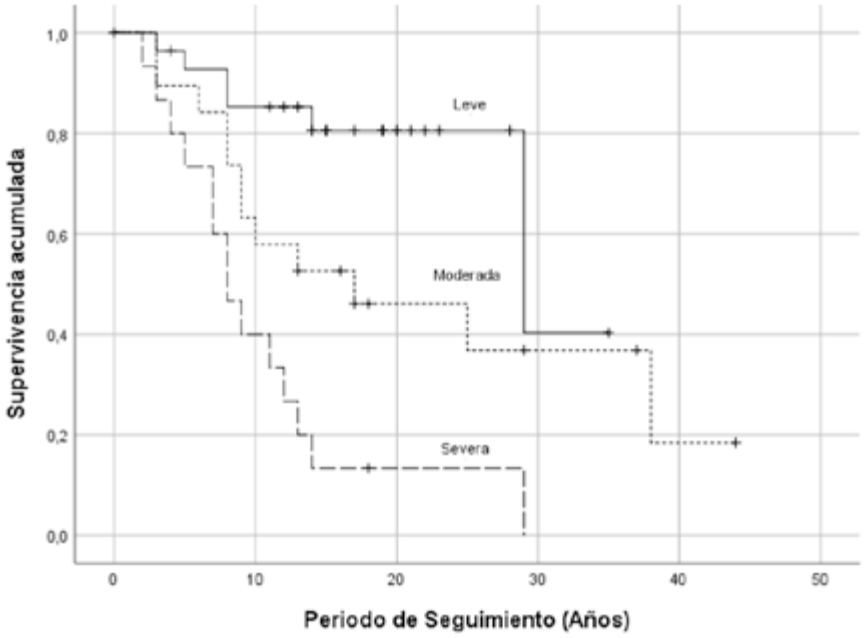


Figura 2

Figura 2. Curvas de Supervivencia Kaplan-Meier para Artropatía Crónica



Discusión

Respecto a las características demográficas, se obtuvo una muestra joven, con edades entre los 28 a 34, siendo la hemofilia A leve el tipo más frecuente, al igual que en lo observado en otras series(11–15). En relación a la funcionalidad física, predominaron los sujetos que no requieren ayuda técnica (89,9%), sin ningún paciente dismovilizado, mejor que lo descrito en otros estudios(12), sugiriendo una mejor calidad de vida y menor deterioro articular(11,12,16). La edad al diagnóstico fluctuó entre los 5 a 12 años y la edad al inicio de tratamiento entre los 8 y 15 años dependiendo de la gravedad de la enfermedad, lo que se escapa de la recomendación de inicio de profilaxis antes de los 2 años para la prevención de secuelas articulares(8), pudiendo explicar el desarrollo de artropatía crónica alrededor de los 20 años en hemofílicos severos(17).

La mayoría recibió liofilizados del factor VIII como primer tratamiento (53,3%), terapia de elección y en la cual se siguen descubriendo ventajas(17–20). El haber recibido crioprecipitados o plasma fresco congelado (PFC) podría deberse a que el debut ocurrió en tiempos en que el liofilizado tenía poca disponibilidad(12). La media de evento hemorrágicos osciló entre 12 y 22, siendo más frecuente la hemartrosis, distribución común de encontrar en la literatura según la zona georáfica(21).

Las hemorragias musculares se presentaron en menor proporción, las que podrían tener peor evolución al complicarse con infecciones, fistulizaciones o fracturas patológicas(22). Respecto a las hemartrosis, las articulaciones más frecuentemente afectadas fueron rodilla, tobillo y codo, siendo más común el compromiso de rodilla en la hemofilia leve, tobillo en la moderada y ambas en la severa, similar a lo encontrado en otros estudios en España, países bajos y Tailandia(14,15,17,23). Por su parte, las articulaciones diana comprometieron las mismas tres localizaciones que la hemartrosis, siendo más frecuente la rodilla en hemofilia leve (6,9%), tobillo y codo en la moderada (14,3%); y rodilla (31,6%) para la severa. Si bien se encontró escasa información sobre articulaciones diana, se presentaron resultados similares en una revisión en Canadá. La artropatía crónica siguió el mismo patrón anterior, siendo más frecuentemente afectada la rodilla tanto para hemofilia leve, moderada y severa (17,2%, 33,3% y 84,2% respectivamente) reflejando el contínuo que representan estas entidades en la fisiopatología del daño articular y siguiendo el patrón mostrado en la literatura(8,22,24,25).

La relación inversa encontrada entre las variables edad de inicio de profilaxis y desarro-

llo de artropatía crónica podría explicarse ya que la terapia con concentrados de factores de coagulación ha demostrado aumentar la sobrevida y, con ello, un aumento del tiempo de exposición a hemartrosis y daño concomitante(26), sin embargo, sería adecuado estudiar si dicha mejoría en la sobrevida de los pacientes también se observa en la población estudiada, lo que no fue posible evaluar con los datos obtenidos. La relación inversa observada para la aparición de dichas complicaciones agudas (hemorragias, hemartrosis) y crónicas (articulación diana y artropatía) en relación a la edad del diagnóstico, pudiese ser explicada por una mayor cantidad de sangrados en pacientes que debutan más tempranamente, o bien, a un mayor registro clínico de los eventos, sin embargo, no se encontró evidencia que avale esta suposición.

El tratamiento con hemoderivados, principalmente la profilaxis primaria con concentrados de factor VIII de manera frecuente y temprana en la vida del paciente, han demostrado beneficios en la reducción de la artropatía crónica. Estudios observacionales orientan a que además podría reducir la recurrencia de hemorragias y hemartrosis(27). En la muestra se apreciaron diferencias en la aparición de artropatía crónica según el tratamiento inicial, siendo mayor en quienes recibieron crioprecitados que en aquellos manejados con plasma fresco congelado o liofilizados de factor VIII. Además, el crioprecipitado mostró mayor cantidad de hemorragias y hemartrosis en comparación al liofilizados, sin embargo, no se encontraron reportes que concuerden con este hallazgo.

Otra medida que ha demostrado reducir la morbimortalidad de los pacientes hemofílicos ha sido la implementación de Centros de Tratamiento de Hemofilia alrededor, a pesar de orientarse a pacientes más graves(28). Sin embargo, la frecuencia de controles por médico hematólogo en los hemofílicos del SSVQ no mostró relación significativa con el número de complicaciones a corto o largo plazo.

Con respecto al análisis de supervivencia para articulaciones diana, el tiempo medio al desarrollo del evento fue de 30,8 años, que concuerda con datos del Centro de Control y Prevención de Enfermedades en Estados Unidos, donde la mayoría lo presentan pasados los 19 años(20). Además, la mayor severidad de la enfermedad se relacionó con una aparición más temprana de la primera articulación diana, siendo 17,3 años para hemofilia severa, difiriendo de lo encontrado en un estudio canadiense con seguimiento a 16 hemofílicos, donde 15 desarrollaron articulaciones a una edad media de 53,5 meses (4,45 años)(29). Esta mayor latencia es positiva ya que estas causan un impacto negativo en su calidad de vida(17) y dificulta la prevención de hemartrosis repetidas una vez instaurada la articulación diana, causando más daño articular(8). La diferencia no significativa entre las curvas de supervivencia de hemofilia moderada y severa podría deberse a la escasez de articulaciones diana en general y al reducido tamaño de los estratos de gravedad(30,31).

En el análisis de supervivencia para artropatía crónica, la media al desarrollo de esta fue de 22,9 años, coincidiendo con lo descrito por la World Federation of Hemophilia en sus guías de 2018 y otros estudios, donde se describe la aparición de la artropatía crónica a partir de la segunda década sin uso de profilaxis(6,13,21), por lo que se debe seguir mejorando la profilaxis oportuna antes de los 2 años ya que podría retrasar la aparición de esta complicación(18).

La comparación de las curvas de supervivencia reafirma que a mayor severidad existe una aprición más temprana de la artropatía crónica, siendo significativamente más rápida en hemofilia severa (10,7 años).

Conclusión

A pesar de que la Hemofilia es una patología de baja frecuencia, presenta una alta morbilidad, la cual menoscaba progresivamente la calidadad de vida de quienes la padecen. Los organismos sanitarios deben poner enfoque principal en la detección temprana y comienzo de una adecuada terapia inicial con Liofilizados del factor deficiente de manera precoz, y de esta forma lograr retrasar la aparición temprana de las complicaciones articulares y su progreso hacia la artropatía crónica. Se deberían realizar nuevos estudios para evaluar el impacto que tiene la terapia oportuna sobre la sobrevivencia y mayor prevalencia de las complicaciones hemofílicas.

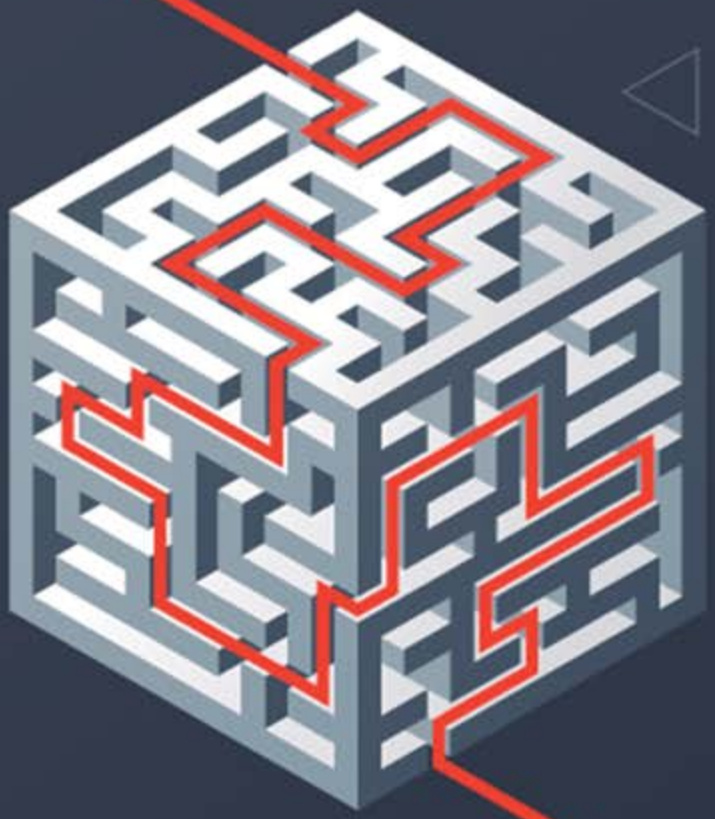
Bibliografía

1. Amador-Medina LF, Vargas-Ruiz AG. [Hemophilia.]. Rev Med Inst Mex Seguro Soc [Internet]. 2013;51(6):638–43. Available from: http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2013/im136i.pdf
2. Mingot-Castellano ME. Fenotipo hemostático en mujeres portadoras de hemofilia A: Características del perfil hemorrágico y el riesgo cardiovascular. Repercusión en la calidad de vida relacionada con la salud [Internet]. Servicio de Publicaciones y Divulgación Científica; 2017 [cited 2019 Feb 16]. Available from: http://www.tdx.cat/handle/10803/400619
3. World Federation of Hemophilia. Report on the Annual Global Survey. 2018.
4. Ministerio de Salud. Guía Clínica Hemofilia. Minsal. Santiago; 2013.
5. Bolton-Maggs PHB, Pasi KJ. Haemophilias A and B. Lancet (London, England) [Internet]. 2003 May 24;361(9371):1801–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12781551
6. Knobe K, Berntorp E. Haemophilia and joint disease: pathophysiology, evaluation, and management. J comorbidity [Internet]. 2011;1:51–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29090136
7. Manco-Johnson MJ, Soucie JM, Gill JC, Joint Outcomes Committee of the Universal Data Collection UHTCN. Prophylaxis usage, bleeding rates, and joint outcomes of hemophilia, 1999 to 2010: a surveillance project. Blood [Internet]. 2017;129(17):2368–74. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28183693
8. Raffini L, Manno C. Modern management of haemophilic arthropathy. Br J Haematol. 2007 Mar;136(6):777–87.
9. Rodriguez-Merchan EC. Methods to treat chronic haemophilic synovitis. Haemophilia [Internet]. 2008 Jul 18;7(1):1–5. Available from: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2001.00481.x
10. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. J Clin Epidemiol [Internet]. 2008 Apr;61(4):344–9. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0895435607004362
11. Fuenmayor-Castaño A, Jaramillo-Restrepo M, Salinas-Durán F. Calidad de vida en una población con hemofilia: estudio de corte transversal en un centro de tratamiento de hemofilia. Rev Colomb Reumatol. 2017 Jan;24(1):18–24.
12. Mazepa MA, Monahan PE, Baker JR, Riske BK, Soucie JM. Men with severe hemophilia in the United States: birth cohort analysis of a large national database. Blood. 2016 Jun;127(24):3073–81.
13. Kim KY, Yang CH, Cho MJ, Lee M. Comprehensive clinical and statistical analysis of hemophilia in Korea. J Korean Med Sci. 1988;3(3):107.
14. Chuansumrit A, Krasaesub S, Angchaisuksiri P, Hathirat P, Isarangkura P. Survival analysis of patients with haemophilia at the International Haemophilia Training Centre, Bangkok, Thailand. Haemophilia. 2004 Sep;10(5):542–9.
15. Aznar JA, Lucía F, Abad-Franch L, Jiménez-Yuste V, Pérez R, Batlle J, et al. Haemophilia in Spain. Haemophilia. 2009 May;15(3):665–75.
16. Sherlock E, O'Donnel JS, White B, Blake C. Physical activity levels and participation in sport in Irish people with haemophilia. Haemophilia. 2010 Jan;16(1):e202–9.
17. Rodríguez-Merchán EC, Jiménez-Yuste V, Aznar JA, Hedner U, Knobe K, Lee CA, et al. Joint protection in haemophilia. Haemophilia. 2011 Sep;17(SUPPL. 2):1–23.
18. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. N Engl J Med. 2007 Aug;357(6):535–44.
19. Manco-Johnson MJ. Advances in the Care and Treatment of Children with Hemophilia. Adv Pediatr. 2010;57(1):287–94.
20. Dunn AL. Management and prevention of recurrent hemarthrosis in patients with hemophilia. Curr Opin Hematol. 2005 Sep;12(5):390–4.
21. World Federation of Hemophilia. World Federation of Hemophilia Report on the Annual Global Survey [Internet]. Montréal; 2018 [cited 2019 Feb 22]. Available from: http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1714.pdf
22. Rodriguez-Merchan EC. Musculoskeletal complications of hemophilia. HSS J. 2010;6(1):37–42.
23. Plug I, van der Bom JG, Peters M, Mauser-Bunschoten EP, de Goeader-Bolder A, Heijnen L, et al. Thirty years of hemophilia treatment in the Netherlands, 1972-2001. Blood. 2004;104(12):3494–500.
24. Di Minno MN, Ambrosino P, Franchini M, Coppola A, Di Minno G. Arthropathy in patients with moderate hemophilia A: A systematic review of the literature. Semin Thromb Hemost. 2013;39(7):723–31.
25. Gallach JE, Querol F, González LM, Pardo A, Aznar JA. Posturographic analysis of balance control in patients with haemophilic arthropathy. Haemophilia. 2008 Mar;14(2):329–35.
26. Franchini M, Mannucci PM. Co-morbidities and quality of life in elderly persons with haemophilia. Br J Haematol. 2010 Feb;148(4):522–33.
27. Iorio A, Marchesini E, Marcucci M, Stobart K, Chan AK. Clotting factor concentrates given to prevent bleeding and bleeding-related complications in people with hemophilia A or B. Cochrane Database Syst Rev. 2011 Sep;
28. Soucie JM, Nuss R, Evatt B, Abdelhak A, Cowan L, Hill H, et al. Mortality among males with hemophilia: relations with source of medical care. The Hemophilia Surveillance System Project Investigators. Blood. 2000 Jul;96(2):437–42.
29. Kern M, Blanchette V, Stain AM, Einarson TR, Feldman BM. Clinical and cost implications of target joints in Canadian boys with severe hemophilia A. J Pediatr. 2004 Nov;145(5):628–34.
30. Arribalzaga EB. Interpretación de las curvas de supervivencia. Rev Chil cirugía. 2007 Feb;59(1).
31. Rebasa P. Conceptos básicos del análisis de supervivencia. Cirugía Española. 2005 Oct;78(4):222–30.

Ver más, hacer más

FOUNDATION MEDICINE®

Roche



EL CAMINO HACIA LA MEDICINA PERSONALIZADA

Descubre el camino a seguir para el tratamiento de sus pacientes con cáncer, utilizando la detallada información del perfilamiento genómico integral de Foundation Medicine[1-6]