



*Revista Médica de la
Universidad Veracruzana*

ISSN: 1870 3267

Investigación, Docencia y Servicio

Instituto de Ciencias de la Salud
Facultad de Medicina Xalapa
Hospital Escuela

Vol. 9 No. 2 Julio - Diciembre 2009



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Director

Carlos Blázquez Domínguez - Hospital Escuela

Editor

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud

Editores Asociados

Rafael Velasco Fernández

Carlos M. Contreras Pérez

Lilia Irene Durán González

Consejo Editorial

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud

Irma del Carmen Osorno Estrada - Fac. de Medicina-Xalapa

Director Fundador

José Arenas Benhumea

Comité Editorial

Instituto de Ciencias de la Salud

Leodegario Oliva Zárate

María Gabriela Nachón García

María del Carmen Gogeoascoechea Trejo

María Sobeida Leticia Blázquez Morales

Pedro Guillermo Coronel Brizio

Víctor Landa Ortíz

Facultad de Medicina-Xalapa

Ángel Alberto Casillas Cruz

Armando Méndez Pérez

Bertha E. Cocotle Ronzón

Pedro Chavarría Xicoténcatl

Rafael Cano Ortega

Saturnino Navarro Ramírez

Hospital Escuela

Carlos Alejandro Galván Peña

J. J. Daniel López Muñoz

Juan José Martínez Meza

Jorge Galvan Ortíz

Matilde Arellano Gajón

Diseño interior y formación

Víctor Olivares García - Instituto de Ciencias de la Salud

Diseño Portada

Xavier Cozar Angulo

Corrección de estilo

Donají Cuéllar Escamilla - Instituto de Investigaciones Lingüístico—Literarias

Asistente: Iván Partida Partida

Universidad Veracruzana

Rector

Raúl Arias Lovillo

Secretario Académico

Porfirio Carrillo Castilla

Secretario de Administración y Finanzas

Ma. Antonieta Salvatori Bronca

Director General de Investigaciones

Jesús Samuel Cruz Sánchez



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Julio - Diciembre 2009

Contenido

> ARTÍCULOS ORIGINALES

- **Optimización de protocolos de producción de anticuerpos policlonales: un ejercicio de innovación educativa** **5**
Lobato-García Bárbara R, Rivera-Ochoa Nayelli, Rodríguez-Sánchez Víctor Manuel, Rodríguez-Morales Pablo, Callejas-Morales Fernando, Cervantes-Toache María Cristina, Morales-Fierro Carolina, Aguilar-Roustand Héctor Alonso, Arenas Martínez Diana Gabriela, Moreno-Herrera Julissa, Barrientos-Sánchez Carlos Daniel, Bueno-García Samantha, Carmona-Cortés Diana Aurora, Lozano Báez Jesús Edgardo, Rodríguez-Trujillo Lyzi, Ceballos-Grajales Nancy, Lara-Lince Luisa Citlalli, León-Palmeros Guadalupe Ariana, Mendoza Tejeda Diana Yazmín, González Herrera Sandra Luz, Juárez Aguilar Enrique.
- **Evaluación cualitativa del estado de activación de la microglia a largo plazo en el cerebro de ratones enucleados al nacer** **13**
Denisse Escalante-Martínez, Anahí Chavarría, Gabriel Gutiérrez-Ospina, Tania Romo-González.
- **Árboles de decisión como herramienta en el diagnóstico médico** **19**
Rocío Erandi Barrientos Martínez, Nicandro Cruz Ramírez, Héctor Gabriel Acosta Mesa, Ivonne Rabatte Suárez, María del Carmen Gogeoascoechea Trejo, Patricia Pavón León, Sobeida L. Blázquez Morales.
- **Detección oportuna de insuficiencia renal oculta en pacientes adultos en atención primaria a la salud** **25**
Fernanda E. Soto Domínguez, María Eugenia Pozos Pérez, Carlos E. Barrientos Guerrero, Irma Aída Torres Fermán, Fco. Javier Beltrán Guzmán.

> ARTÍCULO DE REVISIÓN

- **Conceptos básicos de la epilepsia** **31**
María Leonor López-Meraz, Luisa Rocha, Martha Miquel, María Elena Hernández, Rebeca Toledo Cárdenas, Genaro A. Coria-Ávila, Luis I. García, César A. Pérez Estudillo, Gonzalo E. Aranda Abreu, Jorge Manzo.

> COMUNICACION CIENTIFICA

38



Optimización de protocolos de producción de anticuerpos policlonales: un ejercicio de innovación educativa

Optimization of protocols for production of polyclonal antibodies: an exercise of educational innovation

Lobato-García Bárbara R¹, Rivera-Ochoa Nayelli¹, Rodríguez-Sánchez Víctor Manuel¹, Rodríguez-Morales Pablo¹, Callejas-Morales Fernando¹, Cervantes-Toache María Cristina¹, Morales-Fierro Carolina¹, Aguilar-Roustand Héctor Alonso¹, Arenas Martínez Diana Gabriela¹, Moreno-Herrera Julissa¹, Barrientos-Sánchez Carlos Daniel¹, Bueno-García Samantha¹, Carmona-Cortés Diana Aurora¹, Lozano Báez Jesús Edgardo¹, Rodríguez-Trujillo Lyzi¹, Ceballos-Grajales Nancy¹, Lara-Lince Luisa Citlalli¹, León-Palmeros Guadalupe Ariana¹, Mendoza Tejeda Diana Yazmín¹, González Herrera Sandra Luz², Juárez Aguilar Enrique³.

Recibido: 25/11/2009 - Aceptado: 12/12/2009

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. La enseñanza de las ciencias biomédicas en el nuevo paradigma educativo de la Universidad Veracruzana debe incluir la realización de prácticas de laboratorio que estimulen la curiosidad e interés científico en los alumnos. **OBJETIVO.** El presente trabajo describe un ejercicio de innovación educativa mediante la optimización de dos protocolos de inmunización utilizados en la enseñanza de las bases de la respuesta inmune humoral mediante la obtención de anticuerpos policlonales contra suero humano (Sh) y albúmina de huevo (Ah) en conejos adultos. **MATERIAL Y MÉTODOS.** Se detectaron puntos de mejora en los protocolos en que los alumnos podrían participar en su optimización e implementación. Específicamente, se planteó la optimización de la vía de administración del antígeno y de la vía de obtención de las muestras sanguíneas para la detección de los anticuerpos. Los antígenos fueron administrados en varias dosis por vía subcutánea en el dorso torácico y lumbar de los animales. Cada dosis de antígeno fue inoculada en estas regiones en diferentes puntos (máximo 8) para abarcar una mayor superficie de absorción. Los animales fueron sangrados 20 días después de la primera inmunización mediante la punción de la vena o arteria de la oreja. La presencia de anticuerpos específicos en los sueros inmunes se evidenció *in vitro* mediante la formación de un precipitado como resultado de la interacción antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos producidos fueron caracterizados por las técnicas de doble inmunodifusión (DIF), inmunodifusión radial (IDR) e inmunoelectroforesis (IEF).

Palabras clave: innovación educativa, inmunología, anticuerpos, inmunización.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Teaching of biomedical sciences in the new educative paradigm in the Universidad Veracruzana must include laboratory sessions that promotes scientific interest and curiosity in the students. **OBJECTIVE:** The present work describe an exercise of educational innovation through the optimization of two immunization protocols used in the teaching of the basis of humoral immune response throughout the production of polyclonal antibodies against human serum (Hs) and egg albumin (Ea) on adult rabbits. **MATERIALS AND METHODS:** It were detected improvement points in the protocols which could be approached for the students. Specifically, it was proposed to improve the route of antigen administration and the route of sample blood collection. Antigens were administrated subcutaneously in several doses in the chest and the lumbar zone. Each antigen doses were inoculated on these regions in different points (eight maximum) in order to comprise a extense absorption area. Animals were blooded twenty days after the initial immunization through puncture of an artery or vein ear. Antibodies detection in the immune sera was revealed *in vitro* through a precipitation reaction as result of antibody-antigen interaction. The antibodies produced were characterized by double immunodifusion (DID), radial immunodifusion (RID) and immunoelectrophoresis (IE).

Key words: educational innovation, immunology, antibodies, immunization.

¹Alumnos del Laboratorio de Inmunología I, Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana.

²Profesor Titular de la Experiencia Educativa Inmunología I Facultad de Bioanálisis Unidad de Ciencias de la Salud. Calle Médicos y Odontólogos S/N, Xalapa, Veracruz.

³Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana. Av. Luis Castelazo S/N. Col. Industrial las Ánimas. CP. 9194, Xalapa, Veracruz.

Correspondencia:

Dr. Enrique Juárez Aguilar.
Instituto de Ciencias de la Salud.
Universidad Veracruzana.
enjuarez@uv.mx

INTRODUCCIÓN

La innovación educativa es un concepto que ha sido difícil de definir en términos definitivos, sin embargo existe consenso sobre lo que debería ser una innovación educativa efectiva. Así, la innovación educativa es un proceso que consiste en seleccionar, organizar y utilizar de manera creativa los recursos humanos y materiales de maneras nuevas y propias que den como resultado la conquista de un nivel más alto con respecto a las metas y objetivos previamente marcados. De esta manera, la innovación educativa tiene siempre como resultado la optimización del proceso de aprendizaje; sin embargo, la manera en que se implementa esta innovación puede variar. Actualmente, se han descrito tres modelos de proceso para la instrumentación de la innovación educativa: 1) modelo de investigación y desarrollo, 2) modelo de interacción social y 3) modelo de resolución de problemas^{1,2}. Este último modelo es particularmente útil debido a que motiva la participación del sujeto mismo al que va dirigida la innovación.

Se parte de la detección de un problema o necesidad seguido de un diagnóstico para definir una posible solución que es probada y finalmente adoptada. Este modelo también contempla la participación de un agente externo que aconseje a los individuos sobre posibles soluciones y estrategias, sin embargo, las decisiones son tomadas por el usuario final de la innovación.

Asimismo, el modelo de resolución de problemas tiene su principal fortaleza en motivar la participación del usuario final en la toma de decisiones que impactan en su desempeño. El cambio más sólido es el que inicia e interioriza el propio usuario. En este sentido, dado que académicos y alumnos de la Universidad Veracruzana se encuentran actualmente inmersos en un modelo educativo integral y flexible (MEIF), la búsqueda de nuevas estrategias en las que los alumnos puedan no sólo recibir un conocimiento, sino generarlo, es prioritaria.

De esta manera, el presente trabajo reporta la optimización de prácticas de laboratorio de la experiencia educativa Inmunología Básica de la Facultad de Bioanálisis de la Universidad Veracruzana utilizando el modelo de resolución de problemas.

Mediante este modelo se impulsó la participación de los alumnos en la mejora de las prácticas de laboratorio, discutiendo el estado actual y el planteamiento de propuestas de mejora, y fomentando su ejercicio en el trabajo de laboratorio y en la comprobación de los beneficios obtenidos. En este trabajo se describe la estrategia para la implementación de la innovación educativa así como los resultados obtenidos con los nuevos esquemas y se realiza una reflexión sobre los resultados de este planteamiento educativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estrategia de innovación educativa. En primera instancia, realizamos la revisión conjunta de una práctica de laboratorio de la experiencia educativa de Inmunología Básica para identificar puntos de mejora. La práctica de laboratorio consiste en varias sesiones en las que los alumnos van aprendiendo cómo un organismo es capaz de crear una respuesta inmunológica a partir del ingreso de un agente extraño (suero humano y albúmina de huevo) mediante la producción de anticuerpos específicos. A partir de la revisión de la parte teórica, el alumno es capaz de relacionar los conceptos con los fenómenos que observa en el animal de laboratorio. Tomando en cuenta el modelo de resolución de problemas, se realizó una revisión del procedimiento de inmunización de los animales de laboratorio (conejos) entre alumnos (usuarios) y académicos (agente externo); se identificaron dos puntos de posible mejora: 1) el esquema de inmunización de los antígenos y 2) la obtención de las muestras sanguíneas para la demostración de la producción de los anticuerpos. A partir de la revisión bibliográfica de estos temas, los alumnos presentaron propuestas de mejora que fueron incorporadas a las prácticas de laboratorio en cada sesión y discutidas posteriormente.

Materiales. El suero humano fue obtenido por venopunción a partir de sangre sin anticoagulante de un donador sano. La albúmina de huevo y el agar microbiológico fueron obtenidas de Sigma-Aldrich México. Se utilizó Pentobarbital sódico (Anestosal®). Se utilizaron conejos de la raza *Nueva Zelanda* adultos de aproximadamente 4 kg de peso proporcionados por el bioterio de la Facultad de Medicina de la Unidad de Ciencias de la Salud-Xalapa.

Detección de anticuerpos. La detección de los anticuerpos producidos en el suero inmune se lleva a cabo *in vitro* al hacerlo interactuar con el antígeno específico en un tubo de ensayo y la posterior observación de un precipitado como resultado de la unión antígeno-anticuerpo. La concentración del antisuero se mantuvo constante, mientras que el antígeno se hizo reaccionar a diferentes concentraciones (diluciones dobles).

Especificidad. La especificidad de los anticuerpos producidos se evaluó mediante la técnica de doble inmunodifusión (Método de Ouchterlony). Brevemente, se utilizaron placas de Agar al 1%, a las que se les realizaron una serie de perforaciones distribuidas en forma equidistante. Las perforaciones se llenaron con el antisuero y con diferentes diluciones del antígeno y se incubaron a temperatura ambiente de 24 a 48 horas en una cámara húmeda. La formación de una banda de precipitado en la región en la que se unen el anticuerpo y el antígeno demuestra la especificidad del anticuerpo por su antígeno.

Cuantificación del antígeno. La cuantificación del antígeno se realizó mediante la técnica de inmunodifusión radial. Brevemente, el antisuero obtenido se mezcla con agar para formar un gel. Se realizan perforaciones distribuidas de manera equidistante y se llenan con diferentes concentraciones del antígeno; se incuban de 24 a 48 horas en una cámara húmeda. Después de la incubación se observan halos de precipitado antígeno-anticuerpo, cuyo diámetro es proporcional a la concentración del antígeno.

RESULTADOS

Como se planteó originalmente, se llevó a cabo una discusión entre académicos y alumnos para definir los aspectos de la práctica de laboratorio que podrían optimizarse. Las modificaciones a las prácticas originales se acordaron por consenso después de una discusión entre los alumnos y de la orientación de los académicos. Los resultados de las prácticas presentados en este trabajo se seleccionaron entre los diferentes equipos de trabajo y se presentan como representativos del total de equipos.

El manejo de los animales

En primera instancia, se trató el aspecto del manejo adecuado de los animales. Si un procedimiento produce dolor o estrés en los animales de laboratorio, las normas internacionales urgen a los usuarios a buscar nuevas alternativas. Tomando en cuenta esta recomendación, se decidió establecer protocolos de inmunización y prácticas de laboratorio que disminuyeran el sufrimiento de los conejos utilizados en la docencia para la producción de anticuerpos contra albúmina de huevo y suero humano. Básicamente, los esfuerzos se orientaron a disminuir el estrés de los animales durante la obtención de la muestra de sangre y durante su inmunización. De esta manera, se decidió incluir dentro del programa de actividades la capacitación mediante un curso breve sobre el manejo, transporte e inoculación de los conejos, proporcionado por el personal responsable del bioterio de nuestra institución.

Las vías de inmunización

Una vez capacitados en el manejo de los conejos, se inició la discusión sobre la mejor vía de inmunización con los antígenos. La inmunización puede realizarse a través de la vía oral, nasal, intramuscular, intravenosa, intracardiaca, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal, etc. La elección de la vía depende, entre otras cosas, de la especie animal que se utilice y de las características del antígeno. Originalmente, la vía de inmunización señalada en la práctica era la vía intravenosa³. Esta vía proporciona un contacto inmediato y directo del

antígeno con las células inmunes; sin embargo, la inoculación del antígeno a través de esta vía requiere de amplia experiencia en la canalización de venas o arterias. Dado que los protocolos de inmunización establecían inoculaciones periódicas con los antígenos, el posible fallo de la inoculación por vía intravenosa podría constituir una limitante para la estimulación de una adecuada respuesta inmune. En este sentido, la inoculación de los antígenos por vía intravenosa no es muy adecuada para los fines didácticos que se persiguen con la producción de anticuerpos. Sin embargo, esta vía podría utilizarse exitosamente si fuera precedida de un curso sobre toma de muestras en animales de laboratorio.

Por otra parte, la vía subcutánea es utilizada frecuentemente para la inmunización de antígenos solubles como la albúmina de huevo y el suero humano, por lo tanto se decidió utilizar esta vía para la inoculación de estos antígenos⁴⁻⁶. Para disminuir una reacción local severa y abarcar una mayor superficie de absorción, cada dosis de antígeno fue distribuida en diferentes sitios (máximo ocho) a lo largo del dorso torácico y lumbar. La inmunización subcutánea de los antígenos estimuló una fuerte respuesta de producción de anticuerpos como se demostró en la pruebas de precipitación. En ambos conejos, los inmunizados con suero o los inmunizados con albúmina, se presentó una reacción inflamatoria que llevó a la formación de una costra en la zona de inoculación, que finalmente se descamó sin dejar ninguna lesión posterior. La formación de esta lesión podría estar relacionada con el volumen de la dosis de antígeno inoculada. Sería interesante desarrollar nuevos protocolos para determinar el volumen mínimo necesario para una adecuada producción de anticuerpos sin que se produzcan lesiones importantes. Durante el desarrollo de los protocolos de inmunización ninguno de los animales utilizados presentó fiebre o alteración de su estado general de salud.

Inmunización. La albúmina de huevo fue administrada a una concentración de 50 mg/ml en un amortiguador de fosfatos pH 7.2 en 3 dosis de 2 ml más 1 ml de aceite mineral como adyuvante, cada 6 o 7 días. El suero humano se calentó previamente a 65°C durante 15 minutos para favorecer la agregación de proteínas y se inoculó en 4 dosis crecientes de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ml sin adyuvante, cada 3 días. Ambos animales fueron sangrados a los 20 días después de la primera inmunización. Las inyecciones por vía subcutánea se administraron en la región dorsal torácica y lumbar; se evitó inyectar en la región cervical ya que en esta zona se manipula el conejo para su transporte o traslado. Cada dosis de antígeno se administró en sitios diferentes (0.25 ml/sitio) en un máximo de 8 sitios por inmunización⁷⁻¹⁰.

Obtención de las muestras sanguíneas

La obtención de la sangre de los animales de laboratorio se

realiza de diferentes maneras dependiendo de la especie y del volumen requerido. De manera tradicional, la punción cardíaca era utilizada para la obtención de las muestras sanguíneas³. Actualmente, esta práctica está reservada para la obtención de grandes cantidades de sangre en animales anestesiados e involucra el sacrificio del animal. Por otra parte, la obtención de muestras sanguíneas a través de la vena o arteria de la oreja del conejo constituye una vía de fácil acceso y permite la recolección repetitiva de volúmenes de sangre entre 5 y 10 ml, que son suficientes para la realización de las pruebas de caracterización de los anticuerpos. De esta manera, se decidió que la obtención de las muestras sanguíneas a partir de la punción de la oreja del conejo sería la nueva vía a utilizar. El primer sangrado de los animales se realizó previo a la primera inmunización con el objeto de obtener suero sin anticuerpos específicos; dicho suero se utiliza como control en los ensayos de detección y caracterización de los anticuerpos producidos. De acuerdo a lo aprendido en la capacitación para el manejo de animales, los alumnos decidieron realizar una sedación previa al sangrado, utilizando pentobarbital sódico (Anestésal®) como anestésico a una dosis de 40 mg/Kg de peso. Esta dosis sólo tranquiliza y hace más manejable al animal. Más aún, la muestra se obtuvo utilizando agujas de mariposa o vacutainer® a partir de la vena o la arteria de la oreja, la cual es de fácil acceso y produce menos daño al animal que la jeringa tradicional previamente utilizada. Bajo estas condiciones, el porcentaje de éxito para la obtención de la muestra fue de 100% y se obtuvieron volúmenes de entre 5 y 10 ml de sangre. Los animales eran devueltos al bioterio hasta que estaban completamente recuperados de la anestesia⁴⁻⁶.

Las condiciones establecidas para el sangrado e inmunización de los conejos facilitaron la obtención de antisueros con altas concentraciones de anticuerpos como lo demuestran los títulos alcanzados en las pruebas de precipitación *in vitro* (Figuras 1-3). A partir de estos antisueros fue posible caracterizar la especificidad de los anticuerpos mediante la prueba de doble inmunodifusión (Figura 4) e inmunoelectroforesis que demostraron un solo anticuerpo para la albúmina de huevo y 3 o más anticuerpos contra constituyentes del suero humano. Del mismo modo, a través de la inmunodifusión radial (Figura 5) fue posible demostrar el fundamento de los ensayos para la detección y cuantificación de antígenos de interés diagnóstico. De esta manera, la estandarización de los protocolos de inmunización descritos permite la demostración y caracterización de la interacción antígeno-anticuerpo con fines didácticos.

Demostración de la presencia de anticuerpos contra albúmina de huevo

Veinte días después de la primera inoculación, los animales fueron sangrados siguiendo el protocolo previamente

establecido. La formación de un precipitado abundante entre el antígeno y su anticuerpo depende de que las concentraciones de ambos sean equivalentes (zona de equivalencia); el exceso de alguno de éstos disminuye e incluso inhibe la formación del precipitado. Con objeto de determinar la zona de equivalencia del antisuero contra albúmina, se realizó una serie de diluciones dobles de la albúmina como se indica en la figura 1 (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:258). En este caso la concentración del anticuerpo permaneció constante. Como se esperaba, concentraciones muy bajas o muy altas del antígeno inhibieron la formación del complejo antígeno-anticuerpo (extremos de la curva). La zona de equivalencia para el anticuerpo anti-albúmina se presentó entre las diluciones 1:16 y 1:32 del antígeno (zona central de la curva, Figura 1). Este resultado demostró que el protocolo de inmunización establecido fue adecuado para la producción de anticuerpos contra esta proteína.

Desplazamiento de la zona de equivalencia

Es sabido que conforme pasa el tiempo, la producción de anticuerpos en los animales inmunizados disminuye, por lo que en un segundo sangrado la concentración del anticuerpo debe ser menor; en consecuencia, la zona de equivalencia se desplaza hacia la izquierda. Para demostrar este fenómeno, se obtuvo una segunda muestra de antisuero anti-albúmina 49 días posteriores a la primera inoculación y se realizó el mismo experimento con las diferentes concentraciones de albúmina. Como se observa en la Figura 2, la zona de equivalencia para este anticuerpo se desplazó hacia la izquierda, demostrando que la concentración del anticuerpo había disminuido y que ahora la zona de equivalencia se encontraba con el antígeno sin diluir.

Demostración de anticuerpos anti-suero humano

Para la detección de anticuerpos contra el suero humano se siguió la misma estrategia que para los anticuerpos anti-albúmina. En este caso sólo se analizaron 4 concentraciones del antígeno (antígeno sin diluir y las diluciones dobles: 1:8, 1:16, 1:32). El resultado de la prueba se observa en la Figura 3. La mayor cantidad de precipitado se observó en la dilución 1:32 del suero humano; sin embargo, dado que no se realizaron más diluciones, no se pudo definir la zona de equivalencia para este anticuerpo utilizando el presente método.

Especificidad de los anticuerpos

Todo anticuerpo reconoce de manera específica al antígeno contra el cual fue producido. Para demostrar que los anticuerpos generados reconocen específicamente a sus antígenos, utilizamos el método de doble inmunodifusión o método de Ouchterlony. Éste permite, de la misma manera que la prueba en tubo, definir la zona de equivalencia entre un antígeno y su anticuerpo,

además de que la formación de una banda de precipitado indica un reconocimiento específico del antígeno.

Básicamente, el método de Ouchterlony se basa en la difusión del antígeno y el anticuerpo en un medio semisólido. Al encontrarse en una proporción adecuada se forma el complejo antígeno-anticuerpo que se precipita formando una banda en el agar. La intensidad de la banda es un reflejo de la cantidad de precipitado formado y por lo tanto también puede ser utilizado para definir la zona de equivalencia.

De la misma manera que para la prueba en tubo, el anticuerpo anti-albúmina forma un precipitado cuya intensidad es proporcional a la concentración del precipitado. Para el caso del anticuerpo anti-albúmina, se observó una mayor banda de precipitación en la dilución 1:16, confirmando el resultado previo en la prueba en tubo, mientras que el caso del anticuerpo anti-suero humano presentó una zona de equivalencia entre las diluciones 1:4 y 1:8, los cuales contrastan con la prueba en tubo, que mostró un máximo de precipitado en la dilución 1:32. Por otra parte, la prueba de Ouchterlony para el anticuerpo anti-albúmina demostró una sola banda de reconocimiento y confirmó la especificidad del anticuerpo producido; contrariamente, la prueba para el suero humano demostró al menos 3 bandas de precipitado, sugiriendo la presencia de al menos tres anticuerpos en el antisuero contra el suero humano. La multi-especificidad del antisuero contra el suero humano fue confirmada mediante la técnica de inmunoelectroforesis (datos no mostrados). Mediante esta técnica se identificaron al menos 4 bandas de reconocimiento. La producción de más de un anticuerpo específico contra el suero humano se explica por la composición compleja del mismo. Por otra parte, la inmunoelectroforesis detectó una sola banda de reconocimiento cuando se utilizó el antisuero anti-albúmina.

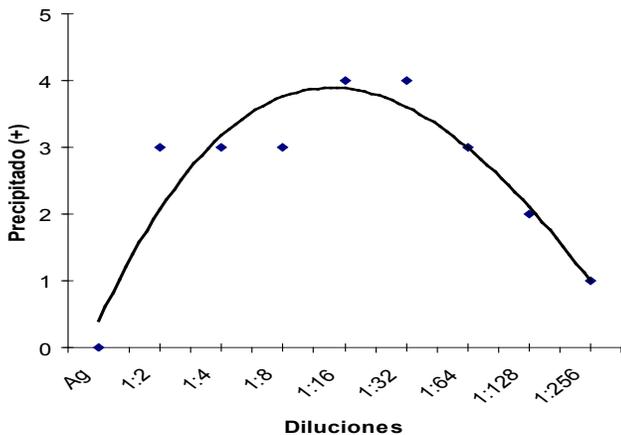


Figura 1. Zona de equivalencia anticuerpo anti-albúmina de huevo. Una serie de diluciones dobles de la albúmina (50 mg/ml) reaccionaron con una concentración constante del antisuero. La zona de equivalencia para este anticuerpo se observó entre las diluciones 1:16 y 1:32.

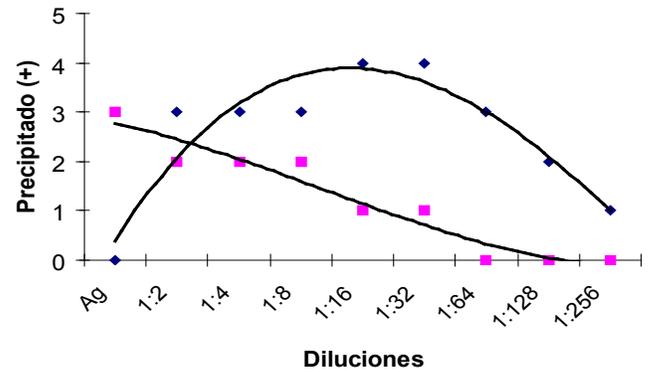


Figura 2. Desplazamiento de la zona de equivalencia. Cuarenta y nueve días después de la primera inmunización se realizó un segundo sangrado del conejo inmunizado contra albúmina de huevo. La detección del anticuerpo se realizó de la misma manera que lo descrito en la Figura 1. Para esta segunda muestra de antisuero la zona de equivalencia se ha desplazado hacia la izquierda (cuadro relleno) con respecto a la curva inicial (rombos rellenos), demostrando una disminución en el título de los anticuerpos.

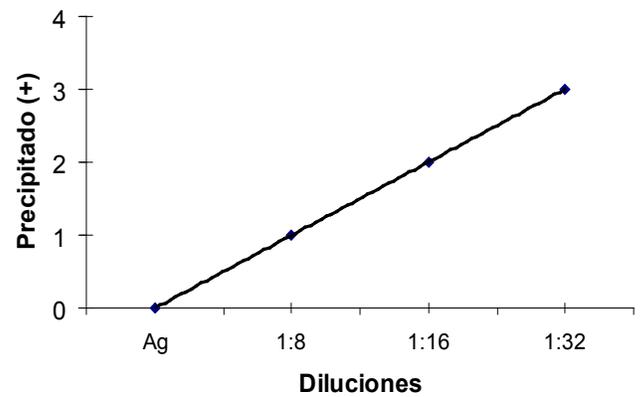


Figura 3. Detección de anticuerpos anti-suero humano. La detección del precipitado antígeno-anticuerpo se realizó del mismo modo que los anticuerpos anti-albúmina. Se analizaron 4 concentraciones del antígeno. Se observa el mayor precipitado con la dilución 1:32 del antígeno.

Inmunodifusión radial

La interacción antígeno anticuerpo también puede utilizarse para la determinación cuantitativa de un antígeno. En la inmunodifusión radial el anticuerpo se encuentra inmerso en un medio semisólido como un gel de agar y el antígeno es colocado en perforaciones a diferentes concentraciones. La aparición de un halo de precipitado demuestra la formación del complejo antígeno anticuerpo, pero además permite la cuantificación del antígeno, ya que la concentración de éste se relaciona directamente con el diámetro del halo formado.

Un primer paso para la implementación de un ensayo cuantitativo utilizando el método de la inmunodifusión radial consiste en la preparación de una curva estándar del antígeno que se quiere cuantificar. De esta manera, dado que conocemos la concentración de la albúmina (50 mg/ml), preparamos una

curva estándar con esta proteína. En la Figura 5 se presentan dos curvas estándar de albúmina. El coeficiente de correlación (R^2) para la curva superior es de 0.8991, mientras que la curva inferior presenta una $R^2=0.9561$. En ambos casos el coeficiente de correlación es adecuado para ser utilizado en la cuantificación del antígeno. Para conocer la concentración de la albúmina en una muestra problema, ésta es colocada en una de las perforaciones del agar con anti-albúmina y el diámetro del halo formado es extrapolado en la curva estándar.

De manera paralela, se realizó el procedimiento de inmunodifusión radial para el suero humano. Evidentemente, la desventaja de esta muestra es que se desconoce la concentración y la identidad de las proteínas contra las que se formaron los anticuerpos, lo cual limita su utilidad como un método cuantitativo. La Figura 6 muestra dos curvas estándar de suero humano con coeficientes de correlación de 0.8372 y 0.9698, respectivamente.

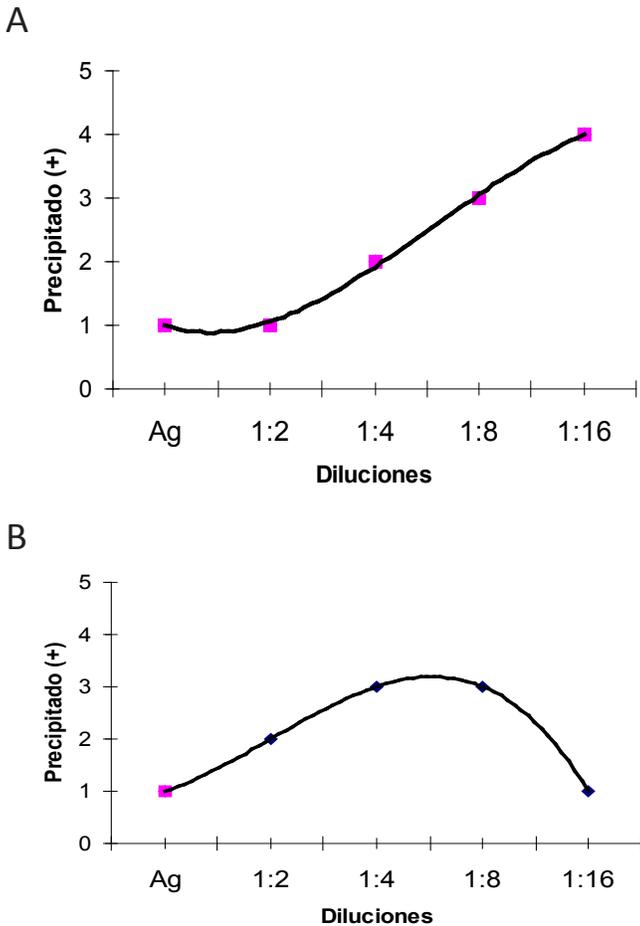


Figura 4. Especificidad de los anticuerpos anti-albúmina (A) y anti-suero humano (B). En una placa de agar con perforaciones se coloca el antisuero con diferentes concentraciones del antígeno. La formación del complejo antígeno-anticuerpo se evidencia por la formación de una banda de precipitación que demuestra la especificidad del anticuerpo por su antígeno. La intensidad de la banda es también un indicador de la concentración del complejo antígeno anticuerpo.

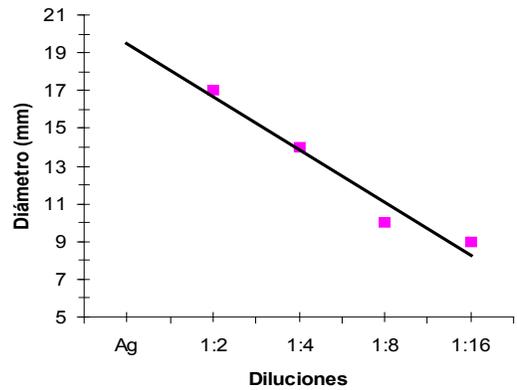
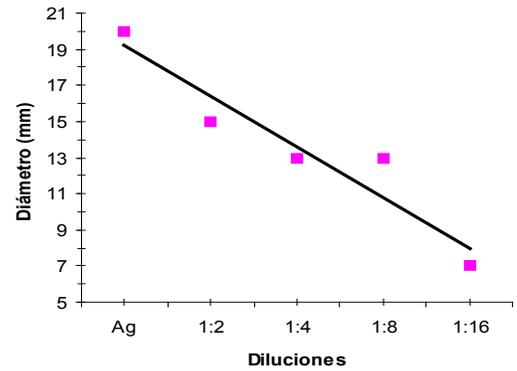


Figura 5. Curvas estándar de albúmina de huevo (50 mg/ml). Los diámetros de los halos formados son elevados al cuadrado y graficados contra la concentración del antígeno.

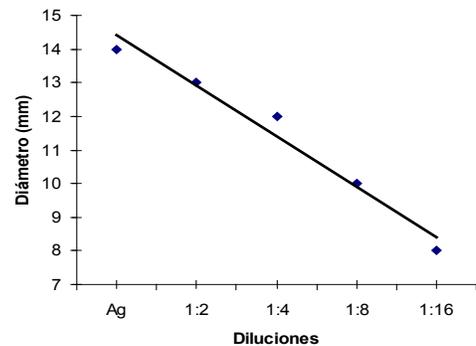
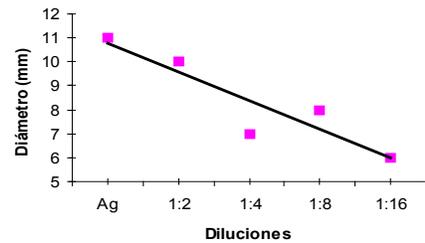


Figura 6. Curvas estándar de suero humano. Los diámetros de los halos formados son elevados al cuadrado y graficados contra la concentración del antígeno. R^2 curva estándar superior=0.8372, R^2 curva inferior= 0.9698.

DISCUSIÓN

La adopción de la Universidad Veracruzana de un modelo educativo integral y flexible ha supuesto el cambio del antiguo paradigma educativo caracterizado por:

- un currículo rígido,
 - un lugar para trabajar, que es el salón de clases,
 - un tiempo establecido para el aprendizaje de carácter fijo y predeterminado,
 - una docencia excesiva, obligatoria y asignada por la institución,
 - un grupo escolar tradicional que determina los mismos compañeros de estudio;
- a un modelo caracterizado por:
- un currículo flexible y con materias optativas,
 - una movilidad del estudiante y por ende del conocimiento que se genera,
 - la diversificación de ambientes de aprendizajes,
 - la adecuación de la educación a los ritmos, condiciones y procesos de aprendizaje de los alumnos,
 - una docencia optativa como apoyo al aprendizaje.

En síntesis, una comunidad de aprendizaje que se desarrolle en ambientes diversos.

Bajo estas nuevas condiciones, se espera un proceso enseñanza-aprendizaje dinámico en el que los actores, profesores y alumnos interactúen en la búsqueda de nuevas estrategias que optimicen el aprendizaje mutuo. En el presente trabajo reportamos un ejercicio de innovación educativa basado en el modelo de resolución de problemas que tiene como eje rector al beneficiario de la innovación, en este caso, al alumno. Partimos de la idea de que el alumno tiene la necesidad no sólo de obtener información o conocimiento, sino también necesidad de aprender a generarlo, aprender formas de resolver problemas, plantear soluciones y llevarlas a la práctica. De esta manera y tomando en cuenta la experiencia docente previa, se ofreció a los alumnos de la experiencia educativa Inmunología Básica Laboratorio la oportunidad de proponer mejoras a las prácticas, discutir opciones e implementarlas. En el proceso fue claro que el profesor sólo actúa como un orientador de esta dinámica, acotándola cuando ésta pierde su objetivo, pero dando libertad para la crítica. Los alumnos mostraron un gran interés por mejorar las condiciones y la forma de llevar a cabo su proceso de enseñanza-aprendizaje, manifestando no sólo sus propias necesidades, sino preocupándose por asegurar la continuidad de las mejoras introducidas para beneficio de las futuras generaciones. Aun cuando el resultado concreto de este ejercicio fue la optimización de los protocolos para la producción de anticuerpos policlonales, la innovación educativa a la que nos referimos consistió en la estrategia para motivar las habilidades de reflexión, inventiva, discusión académica, planteamiento e

implementación de soluciones por parte de los propios alumnos. Un beneficio adicional fue la obtención de conejos inmunes para los antígenos probados: suero humano y albúmina, que pueden ser utilizados como controles positivos para futuros grupos de estudiantes. Existen protocolos de inmunización para antígenos particulados como eritrocitos humanos y bacterias (*Salmonella Typhi*) que pudieran optimizarse con el objetivo de probar nuevamente esta innovación educativa.

Tomando en cuenta estos resultados, consideramos que el modelo de resolución de problemas constituye una excelente opción para mejorar las experiencias educativas e integrar a profesores y alumnos dentro del mismo proceso de enseñanza—aprendizaje. De la misma manera, este tipo de estrategias permite organizar y utilizar de manera creativa los recursos humanos y materiales de maneras nuevas y apropiadas que dan como resultado mejores perspectivas para alcanzar las metas y objetivos plasmados en el plan de desarrollo institucional.

Agradecimientos

Agradecemos profundamente la ayuda otorgada por la Q.C. Sofía Ladrón de Guevara Jiménez para la preparación de todos los materiales y reactivos, así como al Sr. Ángel Luis Luna Hernández por la limpieza y mantenimiento del laboratorio. Del mismo modo quisiéramos agradecer a la Q.F.B. Martha Solano Rico, Jefa del Departamento de Laboratorios de la UCS por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo, así como a la Bióloga Mercedes E. Avilés, Responsable del bioterio de la Facultad de Medicina, por la capacitación en el manejo de los conejos y el suministro de los mismos. Igualmente, un agradecimiento al Sr. Rogelio Mixtega por la limpieza y alimentación de los conejos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Huberman AM. Cómo se realizan los cambios en la educación: una contribución al estudio de la innovación. París: UNESCO-OIE; 1973.
2. Havelock RG. y Huberman AM. Innovación y problemas de la educación. Teoría y realidad en los países en desarrollo, Ginebra: UNESCO-OIE; 1980.
3. Carpenter PL. Inmunología y Serología 2a. ed. México: La Prensa Médica Mexicana; 1982.
4. Douglas FA, and Suckow MA. The Laboratory Rabbit. Boca Raton (USA): CRC Press; 1997.
5. Marton B y cols. Extracción de sangre de mamíferos y aves de laboratorio. Primer informe del grupo de trabajo BVA/FRAME/RSPCA/UFAW sobre refinamiento. Anim Lab 1998; 27: 1-22.
6. University of Kentucky Medical Center. Standard operating procedure IACUC 103. Rabbit blood collection protocol. 98 Jun [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://www.mc.uky.edu/dlar/resources/sop/rabbleed.html>
7. IACUC. Antibody Production in Rabbits. [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://iacuc.yale.edu/policies/rabbits.html>
8. Bleeding and immunization techniques for polyclonal antibody production. [Citado en 2003]. Disponible en: http://www.molbio.princeton.edu/facility/restricted/viv_restricted/rabbitbleed.html.

9. SUNY Upstate Medical University. Guidelines for the production of policlonal and monoclonal antibodies in rodents and rabbits. 2001 Oct [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://www.upstate.edu/dlar/Antibody%20Production.pdf>
10. University of Florida. Guidelines for the production of policlonal and monoclonal antibodies in rodents and rabbits. [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://www.health.ufl.edu/acs/infopi/antibodis.html>



Evaluación cualitativa del estado de activación de la microglia a largo plazo en el cerebro de ratones enucleados al nacer

Long-term qualitative evaluation of the activation state of microglial cells in the brain of neonatally enucleated mice

Denisse Escalante-Martínez¹, Anahí Chavarría²,
Gabriel Gutiérrez-Ospina³, Tania Romo-González¹

Recibido: 15/06/2009 - Aceptado: 20/08/2009

RESUMEN

Introducción. Elementos citológicos del sistema inmunológico y sus productos secretorios promueven y/o facilitan la reorganización neural. En roedores cegados al nacimiento el cerebro es sometido a una gran reorganización, no obstante, nada se sabe aún sobre la participación del sistema inmunológico en estos procesos. **OBJETIVOS, MATERIAL y MÉTODOS.** En el presente trabajo evaluamos el estado de activación de las células microgliales en el cerebro de ratones adultos control cegados al nacer, mediante técnicas de inmunoperoxidasa. **Resultados:** i) La microglia cortical e hipocámpal mostró, cualitativamente, una reducción en las ramificaciones positivas para el antígeno F4/80 en los ratones adultos cegados al nacimiento. ii) La microglia y los macrófagos perivasculares ubicados en diversas regiones del sistema nervioso de los ratones cegados fueron positivos para la inmunotinción del MHCII. **Conclusiones.** Los datos descritos apoyan la idea de que la microglia en los ratones cegados mantiene un estado de pseudo-activación a largo plazo en algunas regiones del sistema nervioso, condición que pudiese facilitar y/o promover constantes eventos de reorganización neural en ellas.

Palabras clave: microglia, plasticidad neuronal, ceguera.

ABSTRACT

Introduction. Cellular elements and secretory products of the immunological system promote and/or facilitate neural reorganization. Although a large-scale reorganization takes place in the brain of neonatally blinded rodents, it is yet unclear whether immunological factors modulate such response.

OBJECTIVES, MATERIAL and METHODS. The present work evaluated the state of activation of microglial cells and their distribution of pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain of adult control rats and of those blinded at birth by means of immuno-peroxidase techniques. **Results:** (i) Cortical and hippocampal microglia displayed, qualitatively, a reduced number of cellular processes immunoreactive for F4/80 in blinded rats. (ii) Microglial cells and perivascular macrophages were positive for MHCII at various locations of blinded rats' brains. **Conclusions.** The data presented support that microglial cells maintain a long-term pseudo-activated state in some areas of the brain of blinded rats, such condition could facilitate and/or promote constant reorganization events in these areas.

Keywords: Microglia, neuronal plasticity, blindness

¹Grupo de Biología y Salud Integral, Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

²Laboratorio de Neuroinmunología, Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.

³Laboratorio de Biología Integrativa, Departamento de Biología Celular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México 04510.

Correspondencia:

Tania Romo-González.

Dirección Postal: 2a Schubert No. 4 Indeco Ánimas, Xalapa, Ver., México. C.P. 91190.

E-mail: romisnaider@yahoo.com.mx

Teléfono: +52 (228) 8418900 ext. 13420.

Fax: +52 (228) 8418911 ext. 15911.

INTRODUCCIÓN

La vista constituye uno de los sistemas sensoriales más importantes en los mamíferos. En apoyo a esta afirmación se sabe, por un lado, que las áreas responsables de procesar información visual ocupan cerca de 30% del total de la superficie de la corteza cerebral y, por el otro, que alrededor de cuarenta subregiones corticales se destinan al procesamiento de los distintos atributos físicos de los escenarios visuales¹. Es quizás por esto que la pérdida de la visión constituye un evento altamente incapacitante.

No obstante las restricciones funcionales asociadas con la pérdida de la visión, los sujetos ciegos desarrollan estrategias conductuales que les permiten adaptarse y/o sobrellevar la interacción con su entorno², probablemente como resultado de la reorganización del cerebro en los sujetos ciegos.

La mayor parte de los estudios realizados sobre los mecanismos de reorganización del sistema nervioso se han orientado a la identificación de los diferentes tipos de factores locales neurales y sus posibles interacciones en el desarrollo del proceso de reorganización. Sin embargo, datos publicados apoyan la posibilidad de que la interacción de los factores neurales con aquellos endocrinos e inmunológicos pudieran determinar la magnitud de las respuestas de reorganización del sistema nervioso central y periférico por su estrecho vínculo estructural y funcional³⁻⁸. Por ejemplo, los elementos celulares inmunológicos y la liberación de citocinas por parte de éstos permiten esculpir y mantener la morfo-fisiología del sistema nervioso durante la ontogenia y en la edad adulta⁹⁻²⁰.

Uno de los modelos de plasticidad más utilizados en el ámbito neurobiológico constituye la privación temprana de los órganos de los sentidos, en particular de los ojos. La pérdida de estos órganos conduce a cambios de gran escala en la morfo-fisiología del sistema nervioso central (SNC) y periférico. Así, las zonas destinadas al procesamiento de información visual se transforman en áreas bimodales capaces de procesar información auditiva y somestésica a lo largo de todo el sistema nervioso²¹⁻²⁷. A este cambio funcional le acompaña uno morfológico caracterizado por la expansión de las áreas destinadas al procesamiento de información proveniente de los órganos sensoriales intactos²⁸⁻³¹. La participación de elementos inmunológicos en esta respuesta no ha sido evaluada a la fecha. No obstante, el que se observe activación de la microglia en áreas o núcleos que constituyen relevos sinápticos centrales de manera consecutiva a la sección de los nervios periféricos sensoriales^{10,11,13}, abre la posibilidad de que el sistema inmunológico juegue un papel central en la reorganización a gran escala en el sistema nervioso central.

Aunque existe evidencia acumulada sobre aspectos clínicos, fenomenológicos y psicofísicos relacionados con la reorganización cerebral en la ceguera^{2,32-34}, el conocimiento

sobre los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a dicha reorganización es en extremo limitado. Por lo que entender los mecanismos inductores y moduladores de la reorganización cerebral en organismos ciegos se vuelve fundamental para que en un futuro próximo se puedan diseñar terapias farmacológicas, instrumentales y fisioterapéuticas que permitan tener un mayor éxito en la restauración de la función visual.

Con el objeto de iniciar el estudio de las interacciones neuro-inmunológicas que pudiesen modular los procesos de reorganización cerebral asociados con la ceguera, en el presente trabajo evaluamos el estado de activación de la microglia (células que fungen como fagocitos y como presentadoras de antígenos en el sistema nervioso) en diversas regiones del cerebro de ratones cegados al nacer. Estudios previos sugieren que se requiere de la pseudo-activación o activación de la microglia para llevar a cabo procesos agudos o crónicos de reorganización neural, ya que la microglia o semi-activada libera citocinas que promueven el crecimiento neuronal^{35,36}.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Los experimentos fueron realizados en ratones machos CD1 de 60 días de vida postnatal. El número de crías por camada fue ajustado a ocho animales, la mitad de los cuales fue asignada al grupo control y la otra, al grupo de ratones cegados. Todos los animales fueron mantenidos en un ciclo luz: oscuridad 14:10, con agua y comida *ad libitum*, y se mantuvieron cohabitando en grupos de ocho hasta su sacrificio. Los procedimientos quirúrgicos y de cuidado de los animales siguieron la normatividad dictada por los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos.

Enucleación

La remoción quirúrgica de los ojos se realizó siguiendo los lineamientos de los protocolos descritos previamente^{28,37}. Brevemente, los animales recién nacidos fueron anestesiados por hipotermia. Se realizó una incisión fina sobre la fisura palpebral y se removió totalmente el tejido ocular. Después de extraídos ambos ojos, los animales se colocaron en una cobija termo-regulada a 36°C, se controló el sangrado y se regresaron con su madre después de recuperar su temperatura, color y movimiento. Los animales controles fueron tratados de la misma manera aunque se obvió la cirugía.

Inmunocitoquímica

Los ratones adultos controles y cegados al nacer fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico (45mg/Kg de peso corporal). Posteriormente, se perfundieron por vía intracardiaca con una solución salina seguida de una solución

amortiguada de paraformaldehído al 4%. Los cerebros se extrajeron y se postfijaron dos horas en el mismo fijador, a temperatura ambiente. Los cerebros se transfirieron a una solución amortiguada de sacarosa al 20% hasta su decantación; posteriormente fueron congelados en 2 metil-butano pre-enfriado con hielo seco. Una vez congelados, los cerebros se almacenaron en un ultracongelador (-80°C) hasta su uso. El día del experimento, los cerebros se cortaron coronalmente (25 µm) y las secciones obtenidas se colectaron en pozos llenos de amortiguador de fosfatos. Los cortes fueron incubados con una solución de peróxido de hidrógeno al 3% en amortiguador de fosfatos por 10 minutos para inactivar las peroxidasas endógenas. Después de tres lavados con amortiguador de fosfatos, los cortes se incubaron con una solución de citratos (Diagnocell) durante una hora a 70° C para desenmascarar antígenos. Los cortes se lavaron nuevamente y se incubaron con los anticuerpos primarios monoclonales obtenidos en rata y dirigidos contra F4/80 (1:500) y MHCII (1:250) de ratón, diluidos en amortiguador de fosfatos adicionado con suero de caballo (5%) o albúmina bovina libre de proteasas (5%) y tritón X-100 (0.5%) (PBt). Las secciones fueron incubadas con los anticuerpos primarios toda la noche a temperatura ambiente. Finalizada esta etapa, las secciones se lavaron nuevamente y se incubaron con los anticuerpos secundarios correspondientes acoplados a biotina diluidos en PBt o amortiguador de fosfatos (1:500) por dos horas a temperatura ambiente. Posteriormente, las secciones se lavaron e incubaron en una solución de avidina-peroxidasa a la concentración recomendada por el proveedor (Vector Laboratories), durante una hora y media a temperatura ambiente. Después de una etapa final de lavado, la actividad de peroxidasa fue revelada usando 3,3'-diaminobenzidina (0.05%) como cromógeno y peróxido de hidrógeno (0.01%) como sustrato durante 2.5-5 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, las secciones fueron lavadas, colocadas en portaobjetos gelatinizados y dejadas secar a temperatura ambiente. Algunas de las secciones fueron contrateñidas con violeta de cresilo. Después de montarse con Cytoseal, las preparaciones fueron observadas y fotografiadas utilizando un microscopio Nikon Optiphot u Olympus CX31.

RESULTADOS

Distribución de la microglia

La distribución de la microglia marcada para F4/80 en los cerebros de ambos grupos de animales fue heterogénea y equivalente a lo reportado previamente por Lawson *et al*³⁸. Nuestros resultados mostraron una mayor densidad celular en el hipocampo, el telencéfalo olfatorio, los ganglios basales y la sustancia *nigra*; la menor se observó en los tractos fibrosos, el

cerebelo y en el tallo cerebral (Fig. 1). Una intensidad intermedia fue observada en algunas regiones de la corteza cerebral, el tálamo y el hipotálamo (Fig. 1). Adicionalmente, nuestros resultados muestran que en la corteza somatosensorial existen diferencias en la densidad de microglia en sus diferentes capas; es mayor en las capas I y II, media en las capas III, V y VI, y baja la densidad en la capa IV (Fig. 2).

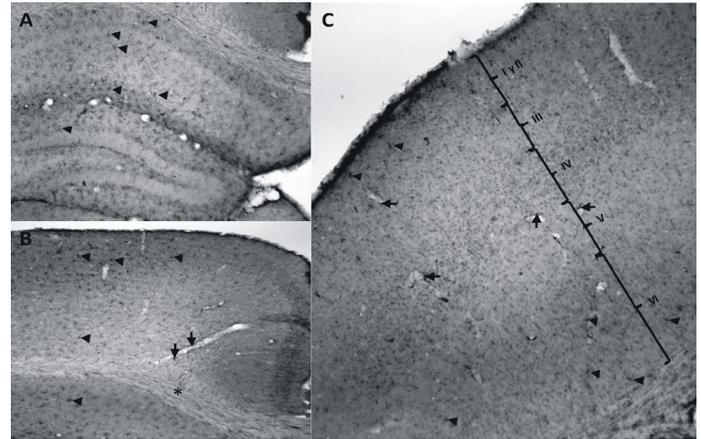


Figura 1. Fotomicrografías que ilustran zonas cerebrales inmunoteñidas para F4/80 de ratones cegados al nacer (A y B) y ratones controles (C), en los que se muestran las diferencias en la densidad de la microglia. A) Hipocampo. B) Corteza cingulada y el cuerpo calloso(*). C) Corteza somatosensorial primaria. Las flechas señalan a macrófagos perivascularales y las cabezas de flecha a células microgliales.

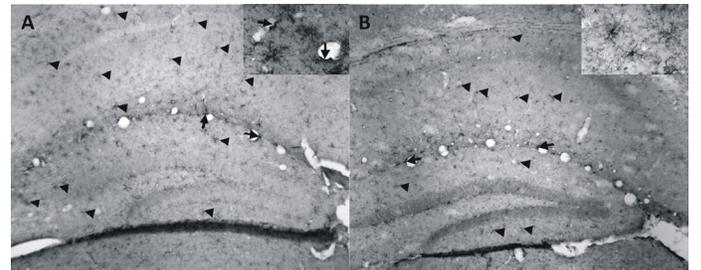


Figura 2. Fotomicrografías que ilustran las diferencias en expresión de F4/80 y la morfología microglial. A) Hipocampo de un ratón control. B) Hipocampo de un ratón cegado. Las flechas señalan a macrófagos perivascularales y las cabezas de flecha a células microgliales. Las células microgliales se observan con mayor detalle en los recuadros.

Expresión de F4/80

Cualitativamente, la regionalización de la expresión de la glicoproteína F4/80 fue similar en ambos grupos de animales. Cabe destacar que la morfología del tipo celular observado en ambos grupos de animales corresponde a microglia en reposo. Sin embargo, en algunas zonas del cerebro de los ratones controles, particularmente en el hipocampo, se observó una mayor intensidad de marca en comparación con los ratones cegados (Fig. 2). La morfología microglial en los ratones controles fue más ramificada con respecto a los cegados (recuadros en la Fig. 2). Esto podría explicar las diferencias observadas entre ambos grupos de ratones.

Expresión de MHCII

Los ratones ciegos presentaron células microgliales inmunoreactivas para MHCII predominantemente en el parénquima hipocampal y en el septo (Fig. 3). No se observó microglia inmunoreactiva en el tálamo. Adicionalmente, los ratones ciegos también mostraron consistentemente macrófagos perivasculares inmunoreactivos para MHCII (recuadros en la Fig. 3), mientras que en los cerebros de los ratones controles no se observó.

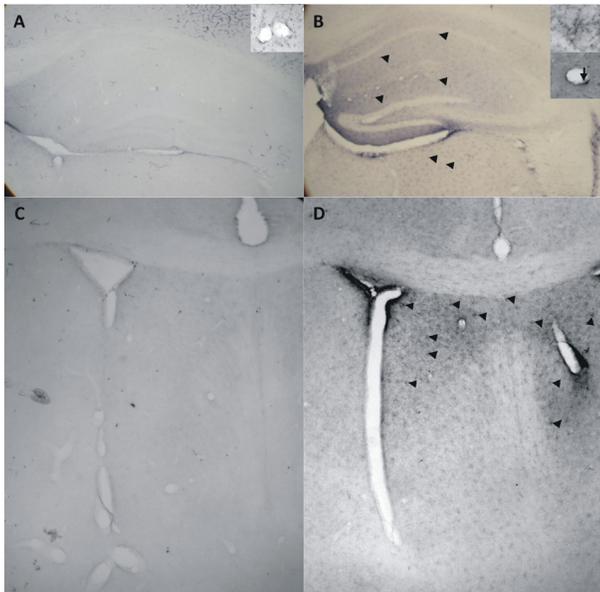


Figura 3. Fotomicrografías que ilustran la expresión de MHCII en el hipocampo (A y B) y septo (C y D) de ratones controles (A y C) y ciegos (B y D). En el recuadro se ilustran macrófagos perivasculares sin expresión (A; flecha) y con expresión (B; flecha) de MHCII, asimismo se muestra una microglia expresando MHCII (recuadro superior de B).

DISCUSIÓN

En los últimos años, avances en la neuroinmunología han mostrado la conexión e interdependencia que existe entre el sistema nervioso y el sistema inmunológico³⁻⁸. Un claro ejemplo de esto es la participación de la microglia durante la reestructuración neuronal después de lesiones axonales motoras periféricas. En este modelo, el número de células microgliales en la médula espinal incrementa dramáticamente en la fase aguda del proceso y las neuronas dañadas son rápidamente rodeadas por microglia activada³⁹⁻⁴¹. En este ambiente inflamatorio, la microglia pasa rápidamente de su estado de reposo con morfología ramificada a un fenotipo ameboide con prolongaciones escasas y es capaz de fagocitar los restos sinápticos^{42,43}. Adicionalmente, se ha visto que en condiciones fisiológicas la microglia también participa en la sinaptogénesis y la apoptosis¹⁹. No obstante estas evidencias, nuestros resultados no mostraron diferencias en la distribución

ni aparentemente en el número de las células de microglia entre los ratones ciegos y los controles; es probable que esto sea secundario a que el evento inflamatorio fue en los primeros días postnatales cuando se realizó la remoción quirúrgica de los ojos y nuestras observaciones son posteriores en los ratones adultos. Por otro lado, la morfología de la microglia observada en ambos grupos fue de una microglia en reposo, sin embargo, los ratones controles mostraron más ramificaciones con respecto a los ciegos en el hipocampo, lo cual se vio reflejado en la densidad de expresión de F4/80. Una observación adicional en los ratones ciegos que contrastó con el estado de reposo fue la expresión de MHCII en la microglia hipocampal y septal. Es posible que estas dos observaciones en los ratones ciegos sugiera un estado intermedio de activación de la microglia. En apoyo a esta posibilidad, estudios recientes han sugerido que un estado de semi-activación de la microglia se caracteriza por la presencia de la morfología ramificada y la expresión de MHCII¹⁷. Adicionalmente, se ha documentado que el estado de semi-activación microglial pudiera promover el mantenimiento de la circuitería neuronal formada después de un fenómeno de reorganización neuronal a través de la liberación de neurotrofinas como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF de sus siglas en inglés)^{17,19,44}.

La mayoría de los modelos usados para el estudio de la plasticidad neuronal que ha evaluado componentes del sistema inmunológico se ha centrado en los periodos iniciales del modelo y en la participación de la microglia activada en un ambiente inflamatorio³⁹⁻⁴¹. En este trabajo evaluamos el fenómeno a los 60 días después de su inicio, es decir, los efectos a largo plazo. En nuestras series experimentales observamos un aumento en la expresión de MHC II sobre una microglia ramificada (en reposo) en los animales de 60 días ciegos al nacer, lo cual puede deberse a modificaciones en el ambiente cerebral que permiten un estado semi-activado de la microglia. Este estado de semi-activación microglial podría ser favorecido por factores de origen neural⁴⁵⁻⁴⁷. Previamente se ha documentado un incremento de GABA en los roedores ciegos al nacer después de los 60 días de edad⁴⁸. Por otro lado, se ha reportado la presencia de receptores GABA_B en la microglia y un aumento en el número de éstos en su estado activado⁴⁷. La presencia crónica de GABA y su acción sobre los receptores microgliales podría atenuar la liberación de citocinas pro-inflamatorias como IL-6 e IL-12, sin influir en la liberación de TNF- α y óxido nítrico, lo que conduciría a un estado de semi-activación⁴⁷. Adicionalmente, factores como las neurotrofinas podrían también favorecer un estado semi-activado de la microglia a través de la inhibición de la expresión de MHCII y de esta manera no permitir la activación completa de la microglia⁴⁹. De esta forma, el equilibrio entre los factores inhibidores y los estimuladores de la activación de la microglia

podría explicar el estado de semi-activación de la microglia hipocampal y septal en el cerebro de ratones de 60 días de edad, cegados al nacer (Fig. 4).

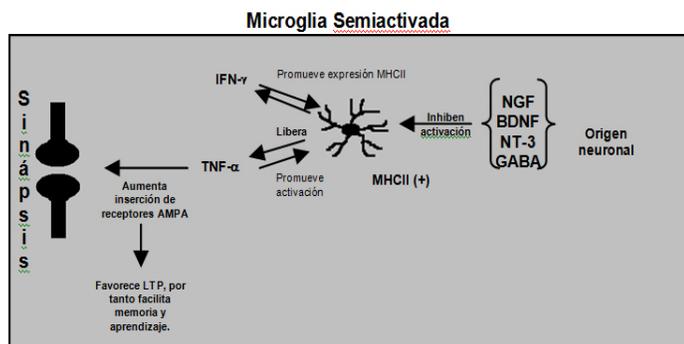


Figura 4. Esquema que ilustra las posibles interacciones entre los factores inmunológicos y neurales que pudieran llevar a la semi-activación de la microglia en el hipocampo y septo de los ratones cegados al nacer. Abreviaturas: Complejo Mayor de Histocompatibilidad II (MHCII), Factor de Crecimiento Neuronal (NGF), Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF), Factor Neurotrófico 3 (NT-3), ácido gamma-aminobutírico (GABA), potenciación a largo plazo (LTP), α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propionato (AMPA), Interferón gamma (INF- γ), Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α).

El estado de semi-activación a largo plazo de la microglia en el hipocampo y el septo pudiera ser relevante en el rápido aprendizaje y ejecución óptima en las tareas de reconocimiento espacial auditivo y táctil¹⁷. Esto pudiera ser secundario a la síntesis y secreción de factores quimiotácticos para linfocitos T, los cuales mejoran los procesos de aprendizaje espacial y memoria¹⁷. Finalmente, no podemos descartar que el estado semi-activado de la microglia contribuya al mantenimiento de un ambiente neural modificado en factores neurotróficos, tal como es BDNF¹⁹. Dicho factor neurotrófico se ha propuesto como regulador clave y mediador de las modificaciones sinápticas de largo plazo relacionados con el aprendizaje y la memoria en el cerebro de mamíferos adultos⁵⁰.

Así, con la realización de este estudio preliminar, contribuimos a la concepción cada vez más aceptada de que el sistema nervioso e inmunológico actúan unificadamente. La fina regulación de sus elementos les permite contender con los procesos cotidianos (aprendizaje, memoria y envejecimiento) y las eventualidades (infarto cerebral, infecciones) para mantener y/o recuperar la integridad del sistema.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Ruy Pérez Tamayo (Medicina Experimental, UNAM) la amable donación de los ratones empleados en este estudio y a la Biól. Mercedes Acosta el apoyo en el mantenimiento de la colonia de ratones en el bioterio de la Facultad de Medicina, UV. También agradecemos el apoyo técnico de la Dra. Julieta Griselda Mendoza Torre Blanca y del Biól. José de Jesús Pérez

Hernández. Finalmente agradecemos al Dr. Pablo Pacheco, Dr. Carlos Contreras y Dr. Miguel Ángel Camacho, por facilitarnos el uso del equipo en los laboratorios a su cargo. Este proyecto ha sido financiado gracias a los recursos de PROMEP 103.5/07/2753 (PTC-262), PFAMU PI200306, PAPIIT IX232604 y CONACYT 54239, 53194, P45872-M, 38615N.

BIBLIOGRAFÍA

1. Drury HA y cols. Computerized mappings of the cerebral cortex: a multiresolution flattening method and a surface-based coordinate system. *J Cogn Neurosci* 1996; 8: 1-28.
2. Rauschecker JP. Compensatory plasticity and sensory substitution in the cerebral cortex. *Trends Neurosci* 1995; 18(1): 36-43.
3. Merrill JE, Jonakait GM. Interactions of the nervous and immune systems in development, normal brain homeostasis, and disease. *FASEB J* 1995; 9(8): 611-8.
4. Becher B, Prat A, Antel JP. Brain-immune connection: immunoregulatory properties of CNS-resident cells. *Glia* 2000; 29(4): 293-304.
5. Cohen N. Norman Cousins Lecture. The uses and abuses of psychoneuroimmunology: a global overview. *Brain Behav Immun* 2006; 20(2): 99-112.
6. Paus R, Theoharides TC, Arck PC. Neuroimmunoendocrine circuitry of the 'brain-skin connection'. *Trends Immunol* 2006; 27(1): 32-9.
7. Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(4): 318-28.
8. Wrona D. Neural-immune interactions: an integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems. *J Neuroimmunol* 2006; 172(1-2): 38-58.
9. Ambrosini E, Aloisi F. Chemokines and glial cells: a complex network in the central nervous system. *Neurochem Res* 2004; 29(5): 1017-38.
10. Boulanger LM, Shatz CJ. Immune signalling in neural development, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5(7): 521-31.
11. Allen NJ, Barres BA. Signaling between glia and neurons: focus on synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15(5): 542-8.
12. Gage FH, McAllister AK. Neuronal and glial cell biology. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15(5): 497-9.
13. Freeman MR. Sculpting the nervous system: glial control of neuronal development. *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16(1): 119-25.
14. Martin KC, Peles E. Neuronal and glial cell biology. *Current Opinion in Neurobiology* 2006; 16: 489-91.
15. Oberheim NA, Wang X, Goldman S, Nedergaard M. Astrocytic complexity distinguishes the human brain. *Trends Neurosci* 2006; 29(10): 547-53.
16. Wu CY y cols. Expression of 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase in the amoeboid microglial cells in the developing rat brain. *Neuroscience* 2006; 142(2): 333-41.
17. Ziv Y y cols. Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci* 2006; 9(2): 268-75.
18. Bains JS, Oliek SH. Glia: they make your memories stick! *Trends Neurosci* 2007; 30(8): 417-24.
19. Bessis A, Béchade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia* 2007; 55(3): 233-8.
20. Vincent AJ, Lau PW, Roskams AJ. SPARC is expressed by macroglia and microglia in the developing and mature nervous system. *Dev Dyn* 2008; 237(5): 1449-62.
21. Sadato N y cols. Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature* 1996; 380(6574): 526-8.

22. Cohen LG y cols. Functional relevance of cross-modal plasticity in blind humans. *Nature* 1997; 389(6647): 180-3.
23. Sadato N, Okada T, Honda M, Yonekura Y. Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study. *Neuroimage* 2002; 16(2): 389-400.
24. Maurer D, Lewis TL, Mondloch CJ. Missing sights: consequences for visual cognitive development. *Trends Cogn Sci* 2005; 9(3): 144-51.
25. Ptito M, Kupers R. Cross-modal plasticity in early blindness. *J Integr Neurosci* 2005; 4(4): 479-88.
26. Sathian K. Visual cortical activity during tactile perception in the sighted and the visually deprived. *Dev Psychobiol* 2005; 46(3): 279-86.
27. Laemle LK, Strominger NL, Carpenter DO. Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci Lett* 2006; 396(2): 108-12.
28. Bronchti G, Schönerberger N, Welker E, Van der Loos H. Barrelfield expansion after neonatal eye removal in mice. *Neuroreport* 1992; 3(6): 489-92.
29. Rauschecker JP, Tian B, Korte M, Egert U. Crossmodal changes in the somatosensory vibrissa/barrel system of visually deprived animals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(11): 5063-7.
30. Röder B y cols. Improved auditory spatial tuning in blind humans. *Nature* 1999; 400(6740): 162-6.
31. Théoret H, Merabet L, Pascual-Leone A. Behavioral and neuroplastic changes in the blind: evidence for functionally relevant cross-modal interactions. *J Physiol Paris* 2004; 98(1-3): 221-33.
32. Kujala T, Alho K, Näätänen R. Cross-modal reorganization of human cortical function. *Trends Neurosci* 2000; 23(3): 115-20.
33. Pascual-Leone A y cols. Transcranial magnetic stimulation and neuroplasticity. *Neuropsychologia* 1999; 37(2): 207-17.
34. Bavelier D, Neville HJ. Cross-modal plasticity: where and how? *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(6): 443-52.
35. Inoue K. The function of microglia through purinergic receptors: neuropathic pain and cytokine release. *Pharmacol Ther* 2006; 109(1-2): 210-26.
36. Terayama R y cols. Activation of microglia and p38 mitogen-activated protein kinase in the dorsal column nucleus contributes to tactile allodynia following peripheral nerve injury. *Neuroscience* 2008; 153(4): 1245-55.
37. Zheng D, Purves D. Effects of increased neural activity on brain growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(6): 1802-6.
38. Lawson LJ, Perry VH, Dri P, Gordon S. Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* 1990; 39(1): 151-70.
39. Blinzinger K, Kreutzberg G. Displacement of synaptic terminals from regenerating motoneurons by microglial cells. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1968; 85(2): 145-57.
40. Aldskogius H, Liu L, Svensson M. Glial responses to synaptic damage and plasticity. *J Neurosci Res* 1999; 58(1): 33-41.
41. Cullheim S, Thams S. The microglial networks of the brain and their role in neuronal network plasticity after lesion. *Brain Res Rev* 2007; 55(1): 89-96.
42. Bruce-Keller AJ. Microglial-neuronal interactions in synaptic damage and recovery. *J Neurosci Res* 1999; 58(1): 191-201.
43. Dijkstra S y cols. CD81 and microglial activation in vitro: proliferation, phagocytosis and nitric oxide production. *J Neuroimmunol* 2001; 114(1-2): 151-9.
44. Ziv Y, Schwartz M. Immune-based regulation of adult neurogenesis: implications for learning and memory. *Brain Behav Immun* 2008; 22(2): 167-76.
45. Kim WK, Ganea D, Jonakait GM. Inhibition of microglial CD40 expression by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is mediated by interleukin-10. *J Neuroimmunol* 2002; 126(1-2): 16-24.
46. Delgado M, Leceta J, Ganea D. Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide inhibit the production of inflammatory mediators by activated microglia. *J Leukoc Biol* 2003; 73(1): 155-64.
47. Kuhn SA y cols. Microglia express GABA(B) receptors to modulate interleukin release. *Mol Cell Neurosci* 2004; 25(2): 312-22.
48. Martínez-Méndez R. Determinación de aminoácidos neurotransmisores en la corteza somatosensorial de ratas enucleadas al nacimiento. (Tesis de Licenciatura). México (D. F.): UNAM. 2008.
49. Neumann H, Miggeld T, Matsumuro K, Wekerle H. Neurotrophins inhibit major histocompatibility class II inducibility of microglia: involvement of the p75 neurotrophin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(10): 5779-84.
50. Gómez-Palacio-Schjetnan A, Escobar ML. In vivo BDNF modulation of adult functional and morphological synaptic plasticity at hippocampal mossy fibers. *Neurosci Lett* 2008; 445(1): 62-7.



Árboles de decisión como herramienta en el diagnóstico médico

Decision trees as a tool in the medical diagnosis

Rocío Erandi Barrientos Martínez¹, Nicandro Cruz Ramírez¹, Héctor Gabriel Acosta Mesa¹,
Ivonne Rabatte Suárez², María del Carmen Gogeochea Trejo²,
Patricia Pavón León², Sobeida L. Blázquez Morales².

Recibido: 07/09/2009 - Aceptado: 18/09/2009

RESUMEN

En este trabajo se evalúa el desempeño de tres de los algoritmos más representativos para la construcción de árboles de decisión. Los árboles de decisión son un modelo de clasificación utilizado en la inteligencia artificial, cuya principal característica es su aporte visual a la toma de decisiones. Para poner a prueba el rendimiento en el proceso de clasificación de los árboles de decisión, se utilizarán dos bases de datos que contienen datos médicos de pacientes reales. Estos datos corresponden a la sintomatología que un médico especialista considera para el diagnóstico de cáncer de seno. Una de las bases de datos contiene 692 casos recopilados de las observaciones de un solo médico y la otra, contiene 322 casos recopilados de la observación de 19 especialistas. En suma, se busca determinar la pertinencia de los árboles de decisión, es decir, si pueden ser una herramienta de apoyo para el diagnóstico médico.

Palabras clave: árboles de decisión, cáncer de mama, algoritmo, clasificación.

ABSTRACT

In this paper, we evaluate the performance of three of the most representative algorithms for constructing decision trees. Decision trees are a classification model used to in Artificial Intelligence, whose main characteristic is its contribution to visual decision making. In order to test performance of the classification process of decision trees, we use two databases, that contain medical data of real patients. These data correspond to the symptoms that a doctor takes into account for the diagnosis of breast cancer. One of the databases contains 692 cases collected from the observation of one single doctor and another contains 322 cases collected from the observation of 19 specialists. The purpose is to determine whether the decision trees can be a support tool for medical diagnosis.

Keywords: decision trees, breast cancer, algorithm, classification.

¹ Facultad de Física e Inteligencia Artificial.

² Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

INTRODUCCIÓN

A través del tiempo se han desarrollado una gran cantidad de métodos para el análisis de datos, los cuales principalmente están basados en técnicas estadísticas. Sin embargo, a medida de que la información almacenada crece considerablemente, los métodos estadísticos tradicionales han empezado a enfrentar problemas de eficiencia y escalabilidad. Debido a que la mayor parte de esta información es histórica y procede de fuentes diversas, parece clara la inminente necesidad de buscar métodos alternativos para el análisis de este tipo de datos y a partir de ellos, poder obtener información relevante y no explícita.

En la mayoría de los casos, el análisis e interpretación de los datos se hace de forma manual, es decir, el especialista analiza y elabora un informe o hipótesis que refleja las tendencias o pautas de los mismos, para poder presentar sus conclusiones y a partir de ellas poder tomar decisiones importantes y significativas. Como se puede observar, este proceso es lento, caro y altamente subjetivo, de hecho, el análisis manual es impracticable en situaciones en las que el volumen de los datos crece exponencialmente, ya que la gran cantidad de datos sobrepasa la capacidad humana para comprenderlos sin la ayuda de una herramienta adecuada. Por lo tanto, en la mayoría de los casos las decisiones importantes se toman no a partir de los datos, sino de la intuición y experiencia de los expertos, puesto que carecen de herramientas idóneas que los apoyen¹.

Para el caso de la medicina, es posible aplicar métodos alternativos, debido a la gran cantidad de padecimientos involucrados, las sintomatologías y los pacientes. Lo ideal sería que los médicos pudieran contar con el apoyo de una herramienta que les permita analizar los datos sintomatológicos de cada uno de sus pacientes para poder determinar con base en casos anteriores, el diagnóstico más acertado así como el tratamiento óptimo a seguir, lo cual representaría un soporte y ayuda para el médico. Una herramienta alternativa para la predicción y clasificación de grandes cantidades de datos que es utilizada ampliamente en el área de la inteligencia artificial son los árboles de decisión.

Árboles de decisión

Un árbol de decisión es un modelo de predicción cuyo objetivo principal es el aprendizaje inductivo a partir de observaciones y construcciones lógicas. Son muy similares a los sistemas de predicción basados en reglas, que sirven para representar y categorizar una serie de condiciones que suceden de forma sucesiva para la solución de un problema. Constituyen probablemente el modelo de clasificación más utilizado y popular. El conocimiento obtenido durante el proceso de aprendizaje inductivo se representa mediante un árbol. Un árbol gráficamente se representa por un conjunto de nodos, hojas y ramas. El nodo

principal o raíz es el atributo a partir del cual se inicia el proceso de clasificación; los nodos internos corresponden a cada una de las preguntas acerca del atributo en particular del problema. Cada posible respuesta a los cuestionamientos se representa mediante un nodo hijo. Las ramas que salen de cada uno de estos nodos se encuentran etiquetadas con los posibles valores del atributo². Los nodos finales o nodos hoja corresponden a una decisión, la cual coincide con una de las variables clase del problema a resolver (Ver Figura 1).

Este modelo se construye a partir de la descripción narrativa de un problema, ya que provee una visión gráfica de la toma de decisión, especificando las variables que son evaluadas, las acciones que deben ser tomadas y el orden en el que la toma de decisión será efectuada. Cada vez que se ejecuta este tipo de modelo, sólo un camino será seguido dependiendo del valor actual de la variable evaluada. Los valores que pueden tomar las variables para este tipo de modelos pueden ser discretos o continuos³.

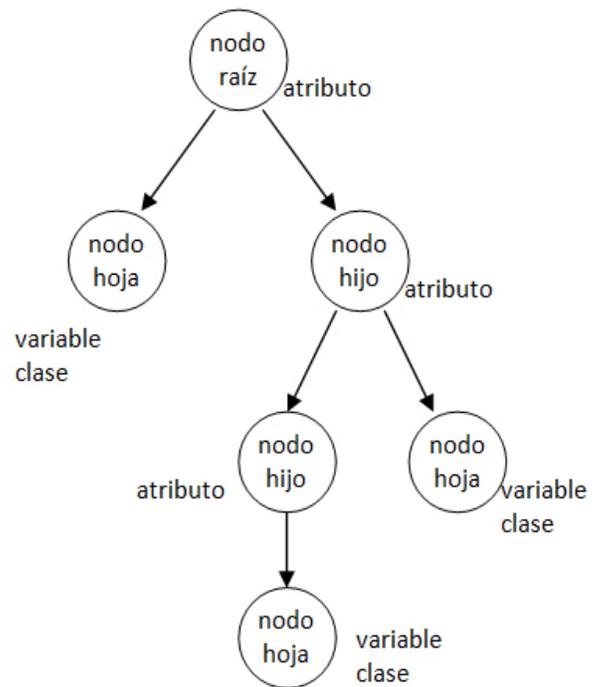


Figura 1: Estructura de un árbol de decisión.

Un algoritmo de generación de árboles de decisión consta de 2 etapas: la primera corresponde a la inducción del árbol y la segunda a la clasificación. En la primera etapa se construye el árbol de decisión a partir del conjunto de entrenamiento; comúnmente cada nodo interno del árbol se compone de un atributo de prueba y la porción del conjunto de entrenamiento presente en el nodo es dividida de acuerdo con los valores que pueda tomar ese atributo. La construcción

del árbol inicia generando su nodo raíz, eligiendo un atributo de prueba y dividiendo el conjunto de entrenamiento en dos o más subconjuntos; para cada partición se genera un nuevo nodo y así sucesivamente. Cuando en un nodo se tienen objetos de más de una clase se genera un nodo interno; cuando contiene objetos de una clase solamente, se forma una hoja a la que se le asigna la etiqueta de la clase. En la segunda etapa del algoritmo cada objeto nuevo es clasificado por el árbol construido; después se recorre el árbol desde el nodo raíz hasta una hoja, a partir de la que se determina la membresía del objeto a alguna clase. El camino a seguir en el árbol lo determinan las decisiones tomadas en cada nodo interno, de acuerdo con el atributo de prueba presente en él.

OBJETIVO

Evaluar el desempeño de clasificación de datos médicos a partir de los resultados obtenidos en la aplicación de algoritmos basados en árboles de decisión, para poder determinar si esta técnica de clasificación puede ser una herramienta de soporte y ayuda eficaz en el tratamiento y diagnóstico médico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo este trabajo de investigación utilizamos dos bases de datos [4] que contienen información acerca de tumores

(malignos o benignos) para la detección de cáncer de mama. Estas bases de datos tienen las siguientes características:

- o La primera está integrada por un conjunto de datos recopilados por la experiencia de un solo patólogo. Esta base de datos contiene 692 casos tomados del Departamento de Patología del Hospital "Royal Hallamshire" en Sheffield, Reino Unido del año 1992 al 1993.
- o La segunda corresponde a un conjunto de datos recopilados por la experiencia de 19 patólogos diferentes, quienes cuentan de 5 a 20 años de experiencia en la detección de cáncer de mama; esta base de datos contiene 322 casos tomados del departamento de patología arriba citado, pero del año 1996 al 1997.

Las bases de datos anteriores contienen las mismas variables, las cuales corresponden a características que los patólogos toman en cuenta para poder emitir un diagnóstico sobre el cáncer de mama. En la tabla 1 se describen estas variables así como los valores que los patólogos asignaron a cada una de ellas para su descripción (interpretación y codificación); cabe mencionar que para poder llegar a un diagnóstico final, es decir para confirmar si el tumor detectado en las pacientes es maligno o no, fue necesaria una biopsia y una mamografía.

Puesto que el objetivo de este trabajo es verificar si los árboles de decisión son una herramienta para el diagnóstico

Tabla 1. Variables de entrada para las bases de datos sobre cáncer de mama.

Característica observada (variable)	Valores que puede tomar la variable	Definición
Edad	uno, dos o tres	Toma valor de "uno" si la paciente tiene menos de 50 años, "dos" si está entre 50 y 70 años y "tres" si tiene más de 70 años.
Dimensión celular	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si la mayoría de las células epiteliales de la paciente se encuentran dentro de grupos adhesivos y valor de "falso" si la mayoría están dentro de grupos cohesivos.
Lumina intracitoplasmática	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si en las células epiteliales de la paciente está presente esta característica y "falso" si está ausente.
Agrupaciones de células epiteliales tridimensionales	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si algunos grupos de células epiteliales no son planas y valor de "falso" si todos los grupos de las células son planos.
Núcleos bipolares	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si el núcleo bipolar está presente en las células y valor de "falso" si está ausente.
Macrófago espumoso	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si el macrófago espumoso está presente y valor de "falso" si está ausente.
Nucleolos	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si más de tres nucleolos visibles están presentes en las células de la paciente y valor de "falso" si tres o menos están presentes.
Pleomorfismo nuclear	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si algunas de las células epiteliales de la paciente tienen diámetros nucleares dos veces superior al de otros núcleos de las células y valor de "falso" si no tienen dicha dimensión el diámetro de sus células.
Tamaño nuclear	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si alguno de los núcleos de las células epiteliales de la paciente tienen un diámetro dos veces mayor al diámetro de los glóbulos rojos, y valor de "falso" si los núcleos de las células tiene un diámetro inferior al doble de los glóbulos rojos.
Células epiteliales necróticas	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si las células epiteliales necróticas están presentes en la paciente y valor de "falso" si están ausentes.
Cambios apócrinos	verdadero o falso	Toma valor de "verdadero" si la mayoría de las células epiteliales del núcleo de la paciente muestran cambios apócrinos y valor de "falso" si no presentan dichos cambios la mayoría de sus células.
Resultados (variable clase)	maligno o benigno	Toma valor de "maligno" o "benigno" dependiendo del diagnóstico que el doctor haya detectado al tumor.

médico, partiremos del hecho de que no podemos llevar a cabo los procedimientos médicos apropiados para detectar un tumor a una paciente ni determinar si éste es benigno o maligno. Sólo contamos con la información cualitativa (valor de las variables) proporcionada por los patólogos, por lo que la evaluación de los árboles la llevaremos a cabo con los resultados que arroje la tarea de clasificación, a partir de las bases de datos descritas anteriormente. Los algoritmos de clasificación que utilizamos para evaluar a los árboles son los siguientes:

- o **ID3:** Algoritmo que aprende a partir de la diferencia que existe entre los datos para analizar, esto es, un procedimiento de divide y vencerás, que maximiza la información obtenida, la cual se utiliza como una métrica para seleccionar el mejor atributo que divida los datos en clases homogéneas [5].
- o **J48:** Este algoritmo construye un árbol a partir de datos. Se construye iterativamente al ir agregando nodos o ramas que minimicen la diferencia entre los datos. Este algoritmo es un descendiente del ID3 y se extiende en el sentido de su capacidad de utilizar atributos numéricos y vacíos para generar reglas del árbol. Con el propósito de clasificación de una nueva instancia, J48 prueba cada uno de los valores del atributo de acuerdo con su estructura hasta que encuentra una hoja, la cual contiene los valores de la clase para cada instancia [6].
- o **Naive Bayes:** Algoritmo que genera un árbol de decisión a partir del clasificador bayesiano Naive Bayes, que es el modelo más simple de clasificación ya que asume independencia entre todos los atributos dada una clase. Por lo tanto, corresponde a un modelo de atributos independientes. En este caso, la estructura de la red es fija y sólo es necesario aprender los parámetros. El fundamento principal de este clasificador es la suposición de que todos los atributos son independientes del valor de la variable clase [7].

La elección de los algoritmos anteriores obedece a que son los más utilizados debido a su sencillez, precisión y bajo costo de cómputo en su ejecución.

METODOLOGÍA Y RESULTADOS

Para evaluar la capacidad de clasificación de los árboles de decisión se llevaron a cabo los siguientes experimentos:

- o El primero consistió en dividir aleatoriamente la primera base de datos en dos conjuntos. Uno de 462 casos (dos terceras partes del total) para poder entrenar el árbol de decisión a partir de estos datos. Un segundo conjunto de 230 casos (una tercera parte del total) para probar que el árbol también clasifica estos datos.

A partir de éstos y los algoritmos descritos en la sección anterior se construyeron los árboles de decisión. Los resultados de dichos experimentos se muestran en la tabla 2 y en la figura 2 con uno de los árboles de decisión que se obtuvieron.

Tabla 2. Porcentajes de clasificación para la primera base de datos con árboles de decisión.

	ID3	J48	Naive Bayes Tree
Porcentaje de casos que clasificó correctamente el algoritmo.	93.04%	91.73%	94.35%

- o El segundo experimento consistió en considerar a la segunda base de datos como un conjunto de prueba (322 casos), mientras que para el conjunto de entrenamiento se consideró el mismo conjunto de 462 casos del primer experimento. El experimento se hizo con el propósito de analizar qué conjunto de datos es más significativo, a partir del porcentaje de casos que clasifica correctamente. A partir de estos datos, se construyeron los árboles de decisión que corresponden a cada uno de los algoritmos descritos en la sección anterior. Los resultados de estos experimentos se muestran en la tabla 3 y en la figura 3 con uno de los árboles de decisión.

Tabla 3. Porcentajes de clasificación para la segunda base de datos con árboles de decisión.

	ID3	J48	Naive Bayes Tree
Porcentaje de casos que clasificó correctamente el algoritmo	82.60%	81.98%	85.71%

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en los experimentos descritos en la sección anterior dan evidencia que es posible construir con precisión árboles de decisión a partir de datos médicos, ya que los porcentajes de clasificación, es decir el número de casos que clasificó correctamente, tienen un margen de error mínimo y es posible que pueda mejorar su eficiencia con la ayuda del experto, ajustando los datos mismos, esto es, agregando variables o cambiando sus parámetros.

También es importante mencionar que los resultados obtenidos con los datos de la primera base de datos, la cual corresponde a las observaciones obtenidas de un solo especialista, son mejores que los resultados obtenidos de los datos provenientes de las observaciones de 19 especialistas (datos de la segunda base de datos), ya que la cantidad de casos que clasificó correctamente en la primera base de datos es mayor que la cantidad en la segunda. Este resultado refleja que existe mayor discrepancia en la apreciación (lo cual se

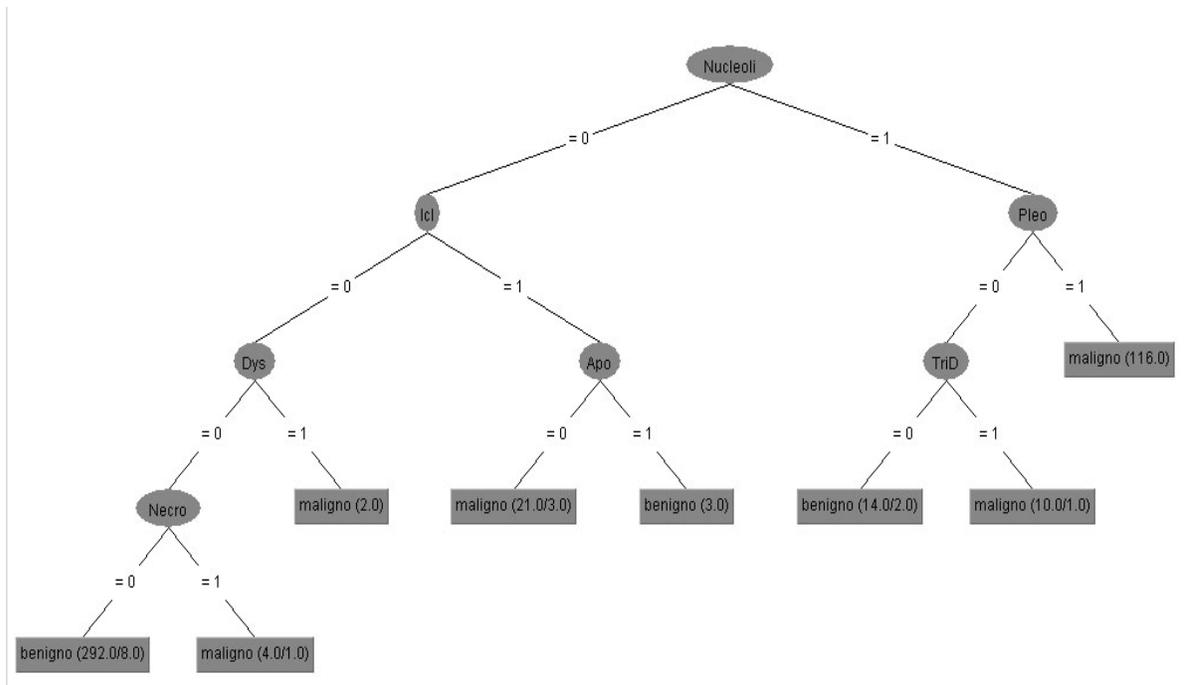


Figura 2. Árbol de decisión construido con el algoritmo ID3 para la primera base de datos.

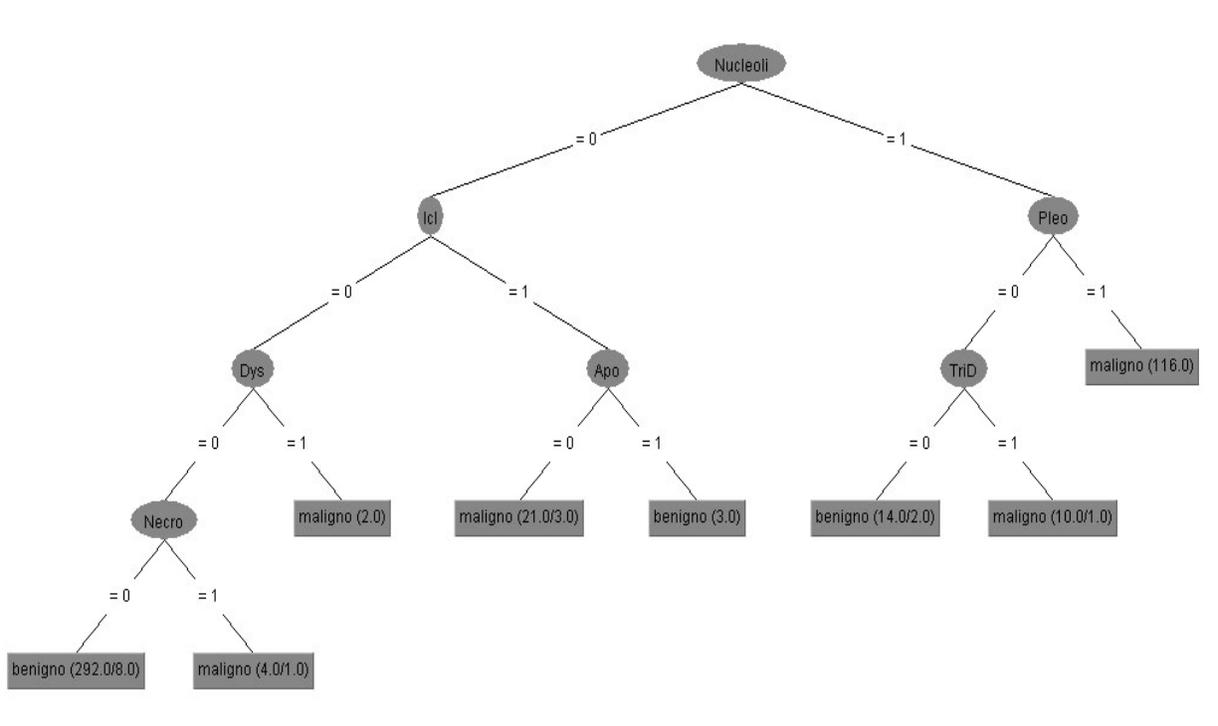


Figura 3. Árbol de decisión construido con el algoritmo ID3 para la segunda base de datos.

traduce en problemas para la clasificación) cuando intervienen más observadores, debido a que se aportan diferentes puntos de vista, incrementándose la subjetividad en los valores de las variables (lo cual corresponde a la sintomatología).

Con base en este planteamiento podemos concluir que a partir de un conjunto de datos aportados por un especialista en una disciplina es posible tener en los árboles de decisión una herramienta de apoyo y ayuda confiable para el diagnóstico médico, aun cuando es importante destacar que lo más importante es contar con un conjunto de datos consistente y confiable, ya que este tipo de herramientas están supeditadas al conocimiento del experto que aportará la información. Por ello es necesario continuar realizando pruebas en otras especialidades médicas para encontrar el conjunto óptimo para la construcción de este tipo de herramientas.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Simon S. Cruz, Profesor Clínico de la Unidad Académica de Patología de la Universidad de Sheffield en Reino Unido, quien amablemente nos proporcionó las bases de datos para este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cruz-Ramírez N, Acosta-Mesa HG, Carrillo-Calvet H, Barrientos-Martínez RE. Comparison of the Performance of Seven Classifiers as Effective Decision Support Tools for the Cytodiagnosis of Breast Cancer: A Case Study. *Analysis and Design of Intelligent Systems using Soft Computing Techniques*. *Advances in soft computing*; 41: 79 - 87.
2. Russell, S. and P. Norvig, *Artificial Intelligence: A Modern Approach*. Second ed. Upper Saddle River (NJ): Prentice Hall/ Pearson Education; 2003.
3. Breiman L, Friedman JH, Olshen RA, Stone CJ. *Classification and Regression Trees*, Wadsworth (New York); 1994.
4. Cross SS y cols. Which Decision Support Technologies Are Appropriate for the Cytodiagnosis of Breast Cancer? *Artificial Intelligence Techniques in Breast Cancer Diagnosis and Prognosis*, A. Jain, et al., Editors. World Scientific 2000; 265-295.
5. Quinlan JR. Learning Decision Tree Classifiers. *ACM Computing Surveys* 1996; 28(1): 71-72.
6. Quinlan JR. *Programs for Machine Learning*. The Morgan Kaufmann Series in Machine Learning. San Mateo (California): Morgan Kaufmann Publishers; 1993.
7. Dunham MH. *Data Mining. Introductory and Advanced Topics*. Upper Saddle River (NJ): Prentice Hall; 2003.



Detección oportuna de insuficiencia renal oculta en pacientes adultos en atención primaria a la salud

Detection of hidden renal insufficiency in adults in primary medical care

Fernanda E. Soto Domínguez¹, María Eugenia Pozos Pérez¹,
Carlos E. Barrientos Guerrero¹, Irma Aída Torres Fermán¹,
Fco. Javier Beltrán Guzmán².

Recibido: 11/05/2009 - Aceptado: 16/11/2009

RESUMEN

Es un estudio observacional, descriptivo, transversal y prospectivo para efectuar la detección oportuna de insuficiencia renal oculta en atención primaria con una muestra de 210 pacientes de 50 años o más. Se recabaron género, edad, peso, talla, IMC, comorbilidades (DM, HTA, osteoartritis) a los cuales se les solicitaron laboratorios control (química sanguínea) durante el periodo comprendido de enero a junio de 2007. Se determinó el filtrado glomerular aplicando la fórmula de Cockcroft-Gault corregida por superficie corporal. Se detectó insuficiencia renal oculta en 31% (66) y 69% (144) sin datos confirmatorios de IRO, del total de individuos examinados. Al analizar por grupo de edad encontramos que de los 50 a 59 años 10% presenta IRO, entre los 60 a 69 años 25%, entre 70 a 79 años 53% y por encima de 80 años hasta 70%. La patología que mayor frecuencia reportó de IRO fue la hipertensión arterial con 29%, la *diabetes mellitus* tipo 2 con 27%. Con relación al control glicémico, se observó que de los pacientes con valores de filtrado glomerular menores de 60 ml/min/1.73m², 87 % de pacientes diabéticos presentaron descontrol de glicemia en ayunas. Se observó IRO en los pacientes con antecedentes de ingesta de AINES menores de 5 años en 13% y en mayores de 5 años aumenta a 44%. Se relacionó la presencia de anemia grado I en 56% de los casos con insuficiencia renal oculta y anemia grado II en 2%.

Palabras claves: Diabetes, comorbilidad, glucosa.

ABSTRACT

It is an observational, descriptive, cross-sectional, and prospective study to carry out opportune detection of hidden renal insufficiency in primary attention with a sample of 210 patients of 50 years or but. Sort, age, weight were successfully obtained, charts, IMC, comorbidities (DM, HTA, osteoarthritis) to which asked for laboratories to them control (chemical sanguineous) during the period included of January to June 2007. The filtrate was determined to glomerular applying the formula of Cockcroft-Gault corrected by corporal surface. Hidden renal insufficiency in a 31% (66), and 69% (144) without confirming data of IRO, the total of examined individuals was detected. When analyzing by age group we found that of the 50-59 years a 10% display IRO, between the 60-69 years a 25%, 70-79 years a 53% and over 80 years until a 70%. The pathology that greater frequency reported of IRO was the Arterial Hypertension with a 29%, the Mellitus Diabetes Type 2 with a 27%; In relation to the glucose control, it was observed that of the patients with values of filtrate of glomerular smaller of 60 ml/min/1.73m², 87% of diabetic patients presented uncontrolled of glucose with an empty stomach. IRO in the patients with antecedents of ingestion of smaller AINES of 5 years in a 13% was observed, and in majors of 5 years it increases to 44%. The anemia presence was related degree I in 56% of the cases to renal insufficiency hides and to anemia degree II in 2%.

Key words: Diabetes, comorbidities, glucose, renal insufficiency.

¹Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Tamaulipas.

²Universidad Veracruzana.

Correspondencia:

María Eugenia Pozos Pérez, Facultad de Medicina de Tampico.
Av. Universidad y Blvd. López Mateos.
mposos20@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La insuficiencia renal crónica (IRC) es una enfermedad que en las últimas 2 décadas ha aumentado en forma inesperada. En México, se estima que 8.5% de la población adulta tiene IRC; esta enfermedad ocupa el 10º lugar dentro de las 20 causas de morbilidad hospitalaria con una tasa anual de mortalidad de 10.7 por cada 100 000 habitantes. La insuficiencia renal crónica constituye un problema de salud frecuente en la población, que genera un alto costo social y económico^{1,2,3}. Se estima que 55,000 pacientes reciben tratamiento renal sustitutivo con diálisis. Se calcula que más de 71,000 pacientes recibirán tratamiento renal sustitutivo con diálisis en el 2010^{4,5}.

Según la National Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NK / DOQI), la enfermedad renal crónica se define como daño renal de ≥ 3 meses, tal como se define por anomalías estructurales y funcionales del riñón, con o sin disminución del filtrado glomerular, manifestada por anomalías patológicas o marcadores de daño renal, incluyendo anomalías en la composición de la sangre o la orina, o anomalías en estudios de imagen, o bien filtrado glomerular $< 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ durante un periodo igual o mayor de 3 meses, con o sin daño renal.

Asimismo, la fase de la enfermedad debe ser asignada basándose en el nivel de la función renal, con la siguiente clasificación:

- a) Estadio 1: lesión renal con filtrado glomerular normal o aumentado $\geq 90 \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)}$.
- b) Estadio 2: lesión renal con disminución leve del filtrado glomerular $60 - 89 \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)}$.
- c) Estadio 3: disminución moderada del filtrado glomerular $30 - 59 \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)}$.
- d) Estadio 4: disminución severa del filtrado glomerular $15 - 29 \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)}$.
- e) Estadio 5: fallo renal o diálisis $< 15 \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)}$.⁶

La enfermedad renal leve-moderada o enfermedad renal crónica oculta (IRO) se define como la alteración estructural o funcional renal y proteinuria con o sin descenso del GFR ($< 60 \text{ ml/min}$) o con descenso del GFR, pero sin otra evidencia de alteración renal y que no precisa depuración extrarrenal, con creatinina sérica dentro de límites normales^{1,7}.

En un estudio realizado en España se reportó que existe una población con IRO entre valores normales o ligeramente alterados de creatinina sérica. El grupo de pacientes estudiados con función renal normal muestra valores de creatinina sérica de 1.01 mg/dl para hombres y 0.87 mg/dl para las mujeres. Asimismo, el grupo de hombres tiene un aclaramiento medio de 103 ml/min y de mujeres de 80.7 ml/min , lo cual está en consonancia con estudios previos de la función renal.

Sin embargo, se observó que entre aquellos pacientes con creatinina sérica normal existían muchos casos con filtrado glomerular inferior a 50 ml/min . Esta reducción fue más ostensible en ancianos y mujeres. 11.3% de los hombres y 35% de las mujeres en el rango de edad de 70 a 80 años con creatinina sérica normal presentaron esta reducción del filtrado glomerular. Desde los estadios muy iniciales existe elevación de hormona paratiroidea con disminución en la producción de calcitriol, alteración del metabolismo del fosfocálcico y alteraciones óseas metabólicas.

A partir de filtrados glomerulares inferiores a 50 ml/min disminuye la formación de eritropoyetina, con una disminución progresiva en los valores de hemoglobina y consecuentemente desarrollo de crecimiento ventricular izquierdo, lo que se asocia posteriormente con mayor morbilidad⁸. Otero y cols. detectaron 13% de IRO utilizando la fórmula MDRD modificada en personas mayores de 18 años⁹. Duncan y cols. encontraron en 2543 pacientes con creatinina sérica normal un aclaramiento de creatinina, medido por la fórmula de Cockcroft, inferior a 50 ml/min en 47.3% de individuos mayores de 70 años, y en pacientes de 60 a 69 años, 12.6% ^{9,10}. El peso también es un elemento que debe considerarse, ya que aquellos con bajo peso presentan aclaramientos de creatinina menores que aquellos con sobrepeso. Por lo tanto, es importante considerar sexo, peso y edad en la evaluación de la función renal.

Tradicionalmente se ha considerado que el parámetro que mejor representa la función renal es el filtrado glomerular medido como aclaramiento de inulina. El filtrado glomerular es una medida directa de la función renal y es el reflejo del óptimo funcionamiento renal. La utilidad de esta medida consiste en que si se encuentran alteraciones como la reducción del filtrado glomerular se correlaciona con la gravedad de las alteraciones estructurales, como la fibrosis tubulointersticial y con la aparición de síntomas cuando disminuye por debajo de $10\text{-}15 \text{ ml/min}$.

Las monitorizaciones de las variaciones del filtrado glomerular delimitan la progresión de la enfermedad, y es por lo tanto un potente predictor del tiempo hasta que se inicia la falla renal, como de las complicaciones de la nefropatía crónica; y el cálculo del filtrado glomerular permite la dosificación adecuada de fármacos excretados por el glomérulo¹¹.

La determinación del filtrado glomerular es difícil de realizar; el parámetro ideal es el aclaramiento de inulina, sin embargo es una técnica laboriosa y prácticamente imposible de llevar a cabo en la clínica habitual. Asimismo, existe la determinación de filtrado glomerular utilizando isótopos radioactivos (Cr EDTA, 1-iothalamate, TC-DPTA y Y-DPTA), los cuales nos dan información exacta de dicho parámetro; sin embargo, su uso está limitado por las medidas de seguridad que

precisan y por ser costosas.

En la práctica clínica, el parámetro más utilizado para valorar la función renal es la creatinina sérica. No obstante, sus valores no se elevan hasta que se ha producido una alteración significativa en el filtrado glomerular (reducción 50%). Además, el descenso progresivo de masa muscular que se asocia con la edad hace que la Cr no ascienda a pesar de la pérdida fisiológica progresiva de FG. El valor normal del filtrado glomerular en adultos jóvenes está entre 120 y 130 ml/min/1,73 m² y declina con la edad. Se estima que a partir de los 30 años, y en relación con el envejecimiento, el filtrado glomerular desciende a un ritmo de 1ml/min/1,73 m² al año¹².

La depuración de creatinina en orina de 24 horas es otro parámetro utilizado en la práctica diaria, el cual puede ser inexacto para evaluar el resultado, debido a la dificultad en la recolección de orina de 24 hrs. Sea porque la muestra es insuficiente, por ingesta de medicamentos como la cimetidina, cefalosporinas entre otros, o que se haya efectuado ejercicio vigoroso días anteriores a la toma de la muestra^{11,13}.

Se han desarrollado diversas fórmulas para estimar el filtrado glomerular de una manera más fiable, menos costosa y práctica; dentro de las más utilizadas y validadas se encuentra la fórmula de Cockcroft – Gault, MDRD y MDRD modificada. Estas ecuaciones han demostrado ser más confiables para estimar el filtrado glomerular en numerosos estudios realizados en gran número de pacientes¹⁴.

La fórmula de Cockcroft-Gault se desarrolló en 1976 para estimar el aclaramiento de creatinina a partir de la concentración de la creatinina plasmática, con una muestra de 249 hombres adultos con edades comprendidas entre 18 y 92 años. En esta fórmula se considera el inverso de la creatinina plasmática como la variable independiente con mayor peso para calcular el FG. La variabilidad en la creatinina sérica representa 80% de la variabilidad del FG. La fórmula incluye el peso, el sexo y la edad multiplicados por distintos factores de corrección, y se basa en la idea de que la excreción de creatinina es constante e igual a la producción de creatinina, que, a su vez, es proporcional a la masa muscular y se puede estimar a partir de la edad, sexo y peso del individuo¹⁵.

Estudiando el grupo de pacientes con creatinina plasmática menor de 1,5 mg/dl con iohexol como medida del FG, la fórmula de Cockcroft-Gault presentó menor sesgo (Cockcroft-Gault -26,5 ml/min, MDRD-7 -46 ml/min y MDRD abreviada -41,7 ml/min), lo que la hace más adecuada para este grupo de pacientes¹⁶.

En un estudio realizado a pacientes geriátricos se encontró una correlación entre la depuración de creatinina en orina de 24 horas y la fórmula de Cockcroft-Gault de 0.88 con p<0.05. La sensibilidad fue de 90.6 % y la especificidad de

79 %. Existen situaciones especiales en las cuales la ecuación no es útil; éstas son: el fracaso renal agudo o en la fase de resolución de este proceso, pacientes de edad avanzada con poca masa muscular, con anorexia, casos tratados con fármacos que bloquean la secreción de creatinina, amputados, sujetos desnutridos y pacientes con aportes de creatinina reducidos por dietas vegetarianas o excesivos por ingesta de creatina; en el caso de obesidad (IMC >35) se recomienda realizar el cálculo con el peso ideal¹⁷.

El aclaramiento de inulina correlaciona mejor con la fórmula Cockcroft-Gault corregida por superficie corporal (r = 0,88); el sesgo es mucho menor con esta corrección (media sesgo -1,75 ml / min), que con la ecuación de Cockcroft-Gault estándar (media sesgo -4,72 ml / min). El sesgo de la MDRD abreviado fue mayor (media sesgo +6,24 ml / min). Los pacientes con enfermedad renal crónica en etapa 1 se clasifican mejor con la fórmula corregida por superficie corporal; el ajuste de superficie corporal mejora la exactitud de la ecuación original de Cockcroft-Gault¹⁸. La IRO se caracteriza por filtrado glomerular ≤60 ml/min/1.73m² con creatinina sérica dentro de límites normales¹⁹.

En la práctica clínica, el parámetro más utilizado para valorar la función renal es la creatinina sérica, sin embargo sus valores no se elevan hasta que se ha producido una alteración significativa en el filtrado glomerular (reducción 50%); además, el descenso progresivo de masa muscular que se asocia con la edad hace que la Cr no ascienda a pesar de la pérdida fisiológica progresiva de FG^{20, 21,22}.

El objeto del presente trabajo es identificar la frecuencia de insuficiencia renal oculta y los factores de riesgo asociados a la insuficiencia renal de los adultos que acuden a consulta de atención primaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio observacional, descriptivo, transversal y prospectivo. Se utilizó un instrumento para recolectar los datos del expediente clínico así como del paciente, género, edad, peso, talla, IMC, comorbilidades (DM, HTA, osteoartritis) en pacientes adultos que acudieron a consulta externa de atención primaria, a los cuales se les solicitaron laboratorios control (química sanguínea) durante el periodo comprendido de enero a junio de 2007. Se determinó el filtrado glomerular aplicando la fórmula de Cockcroft-Gault corregida por superficie corporal. Se incluyeron pacientes con enfermedades crónico-degenerativas (DM 2, HTA y /u OA) en primer nivel de atención, pacientes de 50 años o más, pacientes con 2 resultados de creatinina sérica con un intervalo de 3 meses a 1 año, pacientes con expediente completo. Se excluyeron pacientes que no acudieron a sus citas programadas, pacientes con IMC menor de 18.5 o mayor a 35 y

pacientes con padecimientos hepáticos, pacientes amputados, desnutridos, o con dieta vegetariana.

Se seleccionó la muestra aleatoria de 210 pacientes con un nivel de confianza de 95% y un margen de error de 5%. Se calculó estadística descriptiva. Todos los pacientes firmaron previa explicación de la hoja de consentimiento informado.

RESULTADOS

La población de estudio comprendió 210 pacientes, 68 hombres con un promedio de edad de 67.3 y un rango de 50 a 95 años, y 142 mujeres con un promedio de edad de 64.5 años y un rango de 50 a 96 años.

Se detectó IRO en 31% (66) y en 69% (144) no se detectó. 31% de los pacientes se encontraron en estadio 3 de nefropatía crónica (Gráfica 1, cuadro 1). Se detectó IRO en 32% de las mujeres y 31% en el grupo de los hombres (Gráfica 2, cuadro 2).

Gráfica 1. Porcentaje de pacientes incluido en cada estadio de nefropatía crónica en atención primaria.



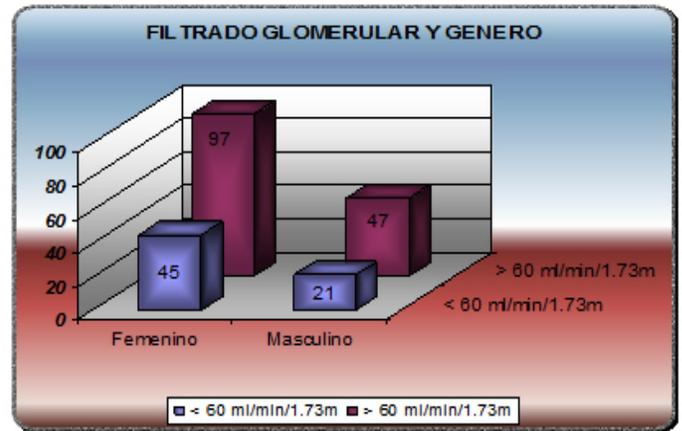
Cuadro 1. Porcentaje de pacientes incluido en cada estadio de nefropatía crónica en atención primaria.

Nefropatía	Núm. de pacientes	Porcentaje
Estadio 1	23	11
Estadio 2	121	58
Estadio 3	66	31

Al analizar por grupo de edad encontramos que de los 50 a 59 años 10% presenta IRO; entre los 60 y 69 años 25%; entre 70 y 79 años 53%, y por encima de 80 años hasta 70% (Gráfica 3, cuadro 3). La patología que mayor prevalencia reportó de IRO fue la hipertensión arterial con 29%, seguida de la diabetes mellitus tipo 2 con 27%; la combinación de dos o más patologías mostró la frecuencia más alta de IRO DM2+HTA+OA 100%, HTA+OA 67%

y DM2+HTA 38% (Gráfica 4 y cuadro 4).

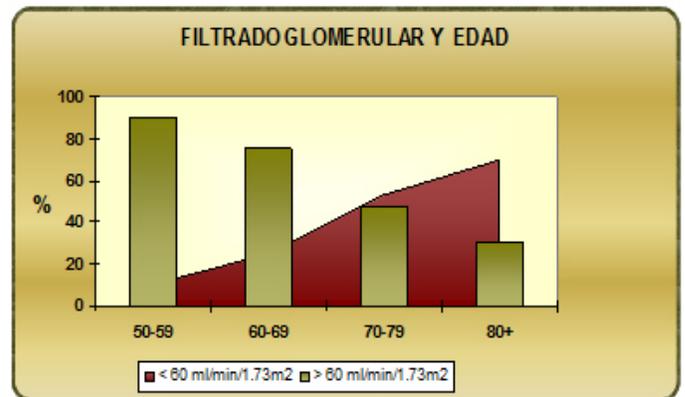
Gráfica 2. Insuficiencia renal oculta por género de pacientes diagnosticados en atención primaria.



Cuadro 2. Insuficiencia renal oculta por género de pacientes diagnosticados en atención primaria.

Género	FG < 60 ml/min/1.73m²	FG > 60 ml/min/1.73m²	Porcentaje
Femenino	45	97	32
Masculino	21	47	31

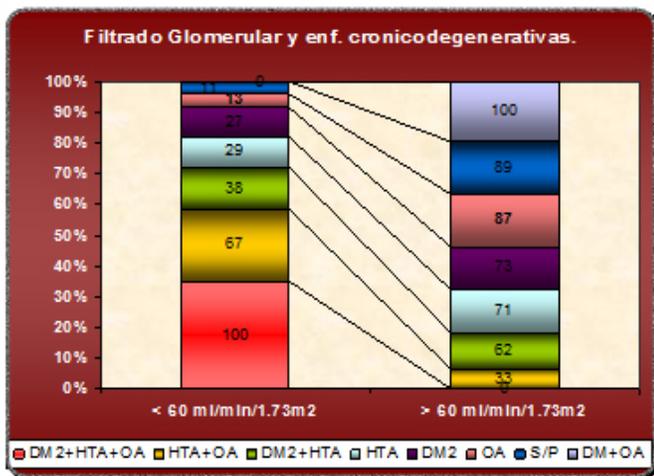
Gráfica 3. Insuficiencia renal oculta por grupos de edad de pacientes diagnosticados en atención primaria.



Cuadro 3. Insuficiencia renal oculta por grupos de edad de pacientes diagnosticados en atención primaria.

EDAD	FG < 60 ml/min/1.73m²	FG > 60 ml/min/1.73m²
50-59	7	62
60-69	18	53
70-79	25	22
80+	16	7

Gráfica 4. Insuficiencia renal oculta por patologías de pacientes diagnosticados en atención primaria.



Cuadro 4. Insuficiencia renal oculta por patologías de pacientes diagnosticados en atención primaria.

Patologías	< 60 ml/min/1.73m2	> 60 ml/min/1.73m2
HTA	23	55
DM2	6	16
OA	3	20
DM2+HTA	25	41
DM2+HTA+OA	2	0
HTA+OA	6	3
DM+OA	0	1
S/P	1	8

En relación al control glicémico, se observó que de los pacientes con valores de filtrado glomerular menores de 60 ml/min/1.73m², 87 % de pacientes diabéticos presentaron descontrol de glicemia en ayunas, así mismo 13% se encontraron dentro del control; de los pacientes sin antecedentes de diagnóstico de *diabetes mellitus* 6% presentó descontrol de la glucosa sérica en ayunas.

En las diferencias de la monoterapia por antihipertensivos y su efecto en la filtración glomerular se observó que los IECA y los ARA II mostraron un menor daño con respecto a los criterios de IRO con 14% y 25% respectivamente.

Se observó IRO en los pacientes con antecedentes de

ingesta de AINES menores de 5 años en 13%, y en mayores de 5 años aumenta a 44%. Se relacionó la presencia de anemia grado I en 56% de los casos con insuficiencia renal oculta y anemia grado II en 2%.

CONCLUSIÓN

No se encontraron diferencias en la frecuencia de IRO entre hombres y mujeres; el grupo de mayor riesgo fue el de los adultos de la tercera edad. los antihipertensivos menos relacionados con insuficiencia renal oculta son los Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina y en segundo lugar los ARA II; la hipertensión asociada al consumo de AINES por osteoartritis mostró la mayor relación con insuficiencia renal oculta de 38% y la DM2 por sí sola represento 27%.

El consumo prolongado de antiinflamatorios no esteroideos se relacionó con insuficiencia renal. 87% de los pacientes diabéticos con insuficiencia renal oculta presentó descontrol de la glicemia en ayunas; 6% de pacientes sin antecedentes de diagnóstico de *diabetes mellitus* presentó glicemias fuera del rango normal.

Se requiere realizar este tipo de estudios de detección oportuna en pacientes con alto riesgo para desarrollar patologías que se puedan atender en forma temprana en el primer nivel de atención, momento propicio para implementar programas de apoyo en estos grupos que representan la mayor demanda de servicios médicos en atención primaria.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Coresh J y cols. Prevalence of Chronic Kidney Disease and Decreased Kidney Function in the Adult US Population: Third National Health and Nutrition Survey. American Journal of Kidney Disease 2003; 41 (1): 1-12.
- 2.- Á. L. M. de Francisco y cols. Prevalencia de insuficiencia renal en Centros de Atención Primaria en España: Estudio EROCAP. NEFROLOGÍA 2007; 27 (3).
- 3.- Secretaría de Salud. Principales causas de mortalidad y morbilidad en México. SISTEMA NACIONAL DE INFORMACION EN SALUD; 2005.
- 4.- US RENAL Data System: USRDS 2001. Annual Data Report: The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease. Bethesda (MD); 2001
- 5.- Annual Data Report de United States Renal Data System. 2005; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://www.usrds.org/adr.htm>
- 6.- National Kidney Foundation. Definition and classification of stages of chronic kidney disease. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. 2002; 10 (32): [24 screens]. Disponible en: www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_ckd/toc.htm
- 7.- MP Rodrigo y M Andrés. Detección de insuficiencia renal oculta en consulta de atención primaria mediante la aplicación de la ecuación MDRD-abreviada: análisis de 1.000 paciente. Nefrología 2006; 26(2): 339-43.
- 8.- Fernández-Fresnedo, Francisco E Rodrigo, C Piñera. Insuficiencia renal "Oculta" por valoración de la función renal mediante la creatinina

- sérica. *Nefrología* 2002; 22(2): 144-51.
- 9.- Otero A y cols. Prevalencia de la insuficiencia renal oculta en la población de Ourense. *Nefrología* 2003; 23 (S6): 26.
 - 10.- Duncan L, Heathcote J, Djurdjev O, Levin A. Screening for renal disease using serum creatinine: who are we missing? *Nephron Dial Transplant* 2001; 16: 1042-46.
 - 11.- E. Rodrigo Calabia. Medida de la función renal. Evaluación del cociente microalbuminuria / creatinina. Valor de la tira reactiva y del examen del sedimento urinario. Indicaciones para solicitar ecografía renal. *Nefrología* 2004; 24 (suppl 6): 35-46.
 - 12.- Alberto Salgado Francisco Guillén; Manual de geriatría. 3ª ed. Barcelona: Masson; 2002: 72.
 - 13.- Frank C. Brosius III y cols. Detection of Chronic Kidney Disease in Patients With or at Increased Risk of Cardiovascular Disease. *Circulation* 2006; 114: 1083-87.
 - 14.- Marc Froissart, Jerome Rossert, Christian Jacquot. Predictive Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations for estimating renal function; *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 763-73.
 - 15.- Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine; *Nephron* 1976; 16:31-41.
 - 16.- Andrew G. Bostom, Florian Kronenberg, Eberhard Ritz; Predictive performance of renal function equations for patients with chronic kidney disease and normal serum creatinine levels; *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2140-44.
 - 17.- Hernández, Sonia Patricia De Santillana, Moctezuma, Luis Eduardo Alvarado. Depuración de creatinina en pacientes geriátricos. Cálculo mediante fórmula de Cockcroft-Gault. *Revista Medica del IMSS* 1998; 36(1).
 - 18.- Rostoker G y cols; A modified Cockcroft-Gault formula taking into account the body surface area gives a more accurate estimation of the glomerular filtration rate. *J Nephrol* 2007; 20(5): 576-85.
 - 19.- I Martínez. Enfermedad renal crónica: Indicaciones para remitir pacientes desde el nivel de atención primaria al nivel de especialista en nefrología. Ventajas del envío precoz. Estrategias para el seguimiento conjunto. *Nefrología* 2004; 24 (Suppl 6): 84-91.
 - 20.- Fundación mexicana del riñón. www.fundrenal.org.mx 2005.
 - 21.- Bonilla AR, Ambriz GC, López GG, Blanco RD. Tratamiento actual del paciente con insuficiencia renal crónica en etapa predialítica. *Nefrol Mex* 2005; 26 (3).
 - 22.- J Almirall y cols. Prevalencia de la insuficiencia renal en la población general mayor de 64 años y episodios cardio-vasculares asociados. *Nefrología* 2005; 25 (6).



Conceptos básicos de la epilepsia

Epilepsy: basic concepts

María Leonor López-Meraz¹,
Luisa Rocha², Marta Miquel^{1,3}, María Elena Hernández¹,
Rebeca Toledo Cárdenas¹, Genaro A. Coria-Ávila¹, Luis I. García¹,
César A. Pérez Estudillo¹, Gonzalo E. Aranda Abreu¹, Jorge Manzo¹.

Recibido: 29/06/2009 - Aceptado: 24/08/2009

RESUMEN

La epilepsia es una alteración del sistema nervioso central caracterizada por crisis recurrentes y espontáneas, causadas por un incremento y sincronización anormales de la actividad eléctrica neuronal. Si bien la epilepsia es de origen multifactorial, los mecanismos neurales que la originan aún no se conocen con detalle, y todavía hay varios aspectos por estudiar y descubrir respecto a su fisiopatología. A pesar de que se han realizado varios esfuerzos con la finalidad de clasificar la epilepsia y las crisis epilépticas, para uniformar criterios para su diagnóstico y tratamiento, aún existe confusión o discrepancia en ciertos términos. Esta revisión pretende brindar al lector los conceptos básicos, obtenidos a partir de la clínica y de la investigación básica, para lograr un mejor entendimiento de este padecimiento.

Palabras clave: epilepsia, crisis epilépticas, convulsiones, epileptogénesis.

ABSTRACT

Epilepsy is a central nervous system disorder characterized by spontaneous and recurrent seizures associated with increased and abnormal synchronization of neuronal electrical activity. Many factors contribute to the appearance of an epileptic condition, but neural mechanisms are not well known yet and still there are several aspects to study and discover regarding the physiopathology of epilepsy. There have been several efforts to classify epilepsy and epileptic seizures in order to unify criteria for diagnosis and treatment, however still there is confusion and discrepancy in some epilepsy-related terminology. This review aims to provide the basic concepts, obtained from clinical and basic data, in order to get a better understanding of this disorder.

Key words: Epilepsy, seizures, convulsions, epileptogenesis.

¹Programa de Neurobiología, Universidad Veracruzana.

²Departamento de Farmacobiología, Cinvestav Sede Sur.

³Área de Psicobiología, Universidad Jaume I, Castellón, España.

Correspondencia:

Dra. María Leonor López-Meraz.

Correo-e: leonorlopez@uv.mx, leonormeraz@hotmail.com

Dirección General de Investigaciones, Programa de Neurobiología, Universidad Veracruzana. Av. Luis Castelazo s/n Carr. Xalapa-Veracruz, Km. 3.5 Col. Industrial-Ánimas, C.P. 91190, Xalapa, Veracruz, México.

Tel: + 52 (228) 8418900 Ext. 13609, Fax: + 52 (228) 8418900 Ext. 13611.

INTRODUCCIÓN

¿Qué es la epilepsia?

Estudios epidemiológicos indican que entre 0.5 y 1% de la población mundial padece epilepsia y se considera que entre 1 y 3 % de la población tendrá epilepsia durante su vida^{1,2}. En México, la prevalencia de pacientes con epilepsia es de 10 a 20 por cada 1000, lo cual sugiere que en nuestro país existen por lo menos un millón de personas con alguna forma de epilepsia².

La epilepsia es una alteración del sistema nervioso central (SNC) caracterizada por un incremento y sincronización anormales de la actividad eléctrica neuronal, que se manifiesta con crisis recurrentes y espontáneas así como por cambios electroencefalográficos^{4,5,6,7}. En general, su diagnóstico implica detectar una anomalía epileptogénica persistente del cerebro que es capaz de generar actividad paroxística espontáneamente. Lo anterior difiere de un cerebro que ha tenido una crisis aguda como una respuesta natural a una alteración o pérdida de la homeostasis³. En condiciones normales, la actividad nerviosa se mantiene en un estado de equilibrio dinámico regulado por procesos neuronales inhibitorios y excitatorios. Un desequilibrio entre estos mecanismos puede producir epilepsia^{8,9}.

Cabe mencionar que la epilepsia no debe confundirse con la aparición de una crisis epiléptica aislada. Si bien las crisis epilépticas son las alteraciones motoras y/o sensoriales recurrentes que resultan de la actividad excesiva de las neuronas^{5,6}, éstas pueden ser eventos aislados o agudos (no asociados con la epilepsia) o bien crónicos y espontáneos (en la epilepsia). Además, las crisis epilépticas pueden subdividirse en crisis convulsivas y en crisis no convulsivas (ver apartado 5).

EPILEPTOGENESIS

La mayoría, si no es que todas las formas de epilepsia, se desarrollan en un determinado período de tiempo. Es decir, en algún momento de la vida, el cerebro funciona normalmente, pero después de cierta secuencia de desarrollo o en respuesta a algún tipo de daño, se genera un estado nuevo en el cual los circuitos neuronales llegan a ser hiperexcitables, originando crisis recurrentes y espontáneas¹⁰. La epileptogénesis es el proceso dinámico por el cual el cerebro se convierte en epiléptico y comienza a generar crisis epilépticas espontáneas y recurrentes^{10,11,12}.

CLASIFICACIÓN DE LAS EPILEPSIAS

La Comisión para la Clasificación y Terminología de la Liga Internacional contra la Epilepsia (*International League Against Epilepsy, ILAE*)^{13,14,15} ha tratado de facilitar la clasificación de la epilepsia al establecer los lineamientos que deben seguirse para

tal fin. Sin embargo, a lo largo del tiempo dichos lineamientos han ido evolucionando, de tal manera que a la fecha se tienen diversas clasificaciones, tanto de las crisis epilépticas como de los síndromes epilépticos, los cuales siguen siendo utilizadas por neurólogos y neurocientíficos. En esta revisión se trata de brindar aspectos generales de dichas clasificaciones tratando de incluir los términos principales y más comunes utilizados internacionalmente. Sin embargo, los autores recomiendan ampliamente referirse a los diferentes reportes de la ILAE para ampliar cualquier información aquí mencionada.

De manera general, la ILAE ha descrito dos clasificaciones para categorizar a la epilepsia: a) la clasificación de crisis epilépticas (ver apartado 7) y b) la clasificación de las epilepsias. La clasificación de las epilepsias se diseñó para describir síndromes en los cuales la presentación de un tipo (s) de crisis epiléptica (s) es una, pero no la única, característica del mismo. Otros aspectos como la etiología, la edad de inicio, la predisposición genética y la evidencia de patología cerebral también se incluyen en esta clasificación. A continuación se muestra una propuesta para la clasificación de los síndromes epilépticos y sus principales representantes¹⁵.

Epilepsias idiopáticas focales de la infancia y la niñez.

Crisis infantiles benignas (no familiares), epilepsia de la niñez benigna con espigas centrotemporales, epilepsia occipital benigna de la niñez de inicio temprano (tipo *Panayiotopoulos*), epilepsia occipital benigna de la niñez de inicio tardío (tipo *Gastaut*).

Epilepsias focales familiares (autosómicas dominantes).

Crisis neonatales familiares benignas, crisis infantiles familiares benignas, epilepsia del lóbulo frontal nocturna autonómica dominante, epilepsia del lóbulo temporal familiar, epilepsia focal familiar con focos variables.

Epilepsias focales sintomáticas (o probablemente sintomáticas). Epilepsias límbicas: epilepsia del lóbulo temporal mesial con esclerosis hipocámpal, epilepsia del lóbulo temporal mesial de etiologías específicas; crisis neocorticales: síndrome de *Rasmussen*, síndrome hemiplegia-semiconvulsión, crisis parciales migrantes de la infancia temprana.

Epilepsias generalizadas idiopáticas. Epilepsia mioclónica benigna de la infancia, epilepsia con crisis mioclonias astáticas, epilepsia de ausencia de la niñez, epilepsia con ausencias mioclónicas, epilepsias generalizadas idiopáticas con fenotipo variable (epilepsia de ausencia juvenil, epilepsia mioclónica juvenil, epilepsia con crisis tónico-clónicas generalizadas), epilepsia generalizada con crisis febriles plus.

Epilepsias reflejas. Epilepsia del lóbulo occipital fotosensible idiopática, otras epilepsias sensoriales visuales, epilepsia de lectura primaria, epilepsia *Startle*.

Encefalopatías epilépticas (en las cuales las anomalías epileptiformes pueden contribuir a disfunción progresiva).

Encefalopatía mioclónica temprana, síndrome *Ohtahara*, síndrome *West*, síndrome *Dravet*, status mioclónico en encefalopatías no progresivas, síndrome *Lennox-Gastaut*, síndrome *Laudau-Kleffner*, epilepsia con espiga-onda continuas durante el sueño de ondas lentas.

Epilepsias mioclónicas progresivas. Enfermedad *Unverricht-Lundborg* (mioclonus Báltico), sialidosis y enfermedad de *Gaucher* (deficiencia de beta-glucosidasa glucocerebrosido), entre otras.

Crisis que no requieren necesariamente el diagnóstico de epilepsia. Crisis neonatales benignas, crisis febriles, crisis reflejas, crisis por abstinencia de alcohol, crisis inducidas por drogas, crisis postraumáticas inmediatas o tempranas, crisis únicas o grupos de crisis aislados, crisis repetidas raramente (oligoepilepsia).

Cabe señalar que en el 2006, la ILAE propuso una nueva clasificación de los síndromes epilépticos, considerando principalmente la edad de inicio de la enfermedad (para más detalles consultar Engel, 2006).

ETIOLOGÍA DE LA EPILEPSIA

Inicialmente la ILAE^{13,14} separó las epilepsias y los síndromes epilépticos de causa conocida o formas sintomáticas (secundarias), de aquellas idiopáticas (o primarias) y criptogénicas o de origen desconocido. En dichas clasificaciones, las formas sintomáticas se consideran secundarias a un proceso patológico del SNC de causa conocida o sospechada como pueden ser hipoxia-isquemia, infecciones, traumatismos, malformaciones congénitas, alteraciones innatas del metabolismo, neoplasias e intoxicaciones, entre otras. La epilepsia idiopática o primaria se define como un padecimiento de etiología desconocida, que no es precedido u ocasionado por otro y no existe otra causa que no sea una aparente predisposición hereditaria. Las formas criptogénicas (presumiblemente sintomáticas) se refieren a trastornos de causa desconocida o aún no determinada que no son idiopáticos. Este tipo de epilepsia presumiblemente corresponde a formas sintomáticas o secundarias¹⁴. En el último reporte de la ILAE³, se trata de evitar el uso del término criptogénico por la ambigüedad que, como es evidente, representa; y se considera a la epilepsia idiopática como de etiología desconocida y con características *sui géneris*.

CRISIS EPILÉPTICAS CONVULSIVAS Y NO CONVULSIVAS

Las crisis convulsivas o convulsiones se caracterizan por presentar

movimientos anormales del cuerpo o de las extremidades e incluyen las crisis clónicas, tónicas y clónicas tónico-clónicas. Las crisis clónicas (o *clonus*) consisten en contracciones musculares bruscas, masivas y bilaterales; las crisis tónicas (o extensión tónica) se caracterizan por la contracción y flexión sostenida de las extremidades anteriores y posteriores; durante las crisis tónico-clónicas se presentan los síntomas de ambos tipos de convulsiones^{11,13,14}. En crisis no convulsivas existe una alteración parcial o total de la capacidad de respuesta del sujeto y/o pérdida del tono postural e incluyen las crisis de ausencia, mioclónicas y atónicas. Las crisis de ausencia se caracterizan por presentar lapsos de inconsciencia; las crisis mioclónicas (o mioclonus) consisten en una contracción muscular brusca y breve; en las crisis atónicas existe pérdida del tono postural y puede producirse una caída^{11,13,14}.

EL FOCO EPILÉPTICO Y EL ÁREA DE PROPAGACIÓN

El foco epiléptico se define electrofisiológicamente como el área cerebral que parece ser la principal fuente de descargas epilépticas. Las descargas epilépticas pueden ser de diferentes tipos: focales, indican un único foco epiléptico; bilateral e independiente, sugieren la presencia de un foco epiléptico en cada hemisferio cerebral; multifocales, indican tres a más focos epilépticos; o difusos (*i.e.* con propagación o generalización), en cuyo caso no hay un foco epiléptico aparente¹¹. El foco epiléptico es un concepto electrofisiológico y debe ser claramente distinguido de la lesión epileptogénica (detectada con técnicas de imágenes o con microscopía en tejido *postmortem*), que es un concepto estructural, así como de la zona epileptogénica (detectada con registros electrográficos intracraneales y superficiales ictales, y por la desaparición de las crisis epilépticas después de la resección quirúrgica del tejido), la cual es un concepto teórico que denota la región cortical que genera las crisis epilépticas. Un foco epiléptico primario puede dar lugar a un foco epiléptico secundario. La zona epileptogénica donde las crisis se generan puede ser adyacente o está a cierta distancia de la lesión epileptogénica¹¹. El foco epiléptico es una región cerebral que se caracteriza por una actividad neuronal intensa, mientras que el área que lo rodea es una región identificada por una disminución de la actividad neuronal¹⁶. Se considera que el área que rodea al foco epiléptico (área de propagación) es una zona que presenta actividad inhibitoria, la cual sugiere que evita la propagación de la actividad epiléptica a otras regiones cerebrales^{16,17,18}.

De manera general, los factores que determinan las propiedades epileptogénicas del tejido neuronal son la excitabilidad y la sincronización. La excitabilidad se refiere a la

predisposición de una neurona o un grupo de neuronas para descargar cuando son estimuladas. La sincronización se refiere al disparo neuronal organizado para dar lugar a una respuesta efectiva funcionalmente¹¹.

CLASIFICACIÓN DE LAS CRISIS EPILÉPTICAS SEGÚN LA LOCALIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEURONAL ANORMAL

La necesidad de clasificar las crisis epilépticas radica tanto en el interés epidemiológico con el fin de cuantificar su prevalencia e incidencia, como en el interés de evaluar los resultados del tratamiento, ya que hasta la fecha la selección del fármaco antiepiléptico depende más del tipo de crisis epiléptica que de su posible etiología⁷.

En este sentido, la ILAE convino en clasificar las crisis epilépticas, con base en la localización de la actividad excesiva y/o hipersincrónica de las neuronas, en parciales y generalizadas¹⁴. Sin embargo, en su reporte de 2006, la ILAE consideró pertinente clasificar las crisis epilépticas en a) auto-limitadas: de inicio generalizado o de inicio focal y, b) *status epilepticus* (SE)³. Para el caso particular del SE, éste representa una falla en los mecanismos homeostáticos que suprimen las crisis de manera natural, lo que conduce a crisis epilépticas continuas o crisis epilépticas intermitentes sin la recuperación completa de la conciencia del individuo entre las crisis. Aspectos relativos al SE no se discuten en esta revisión. En los siguientes apartados se describen los puntos más relevantes para las crisis generalizadas y parciales.

LAS CRISIS EPILÉPTICAS PARCIALES O DE INICIO FOCAL

Las crisis parciales, focales o relacionadas con localización se caracterizan porque la actividad eléctrica anormal inicia y se queda restringida en cierta área cerebral y forma el foco epiléptico, pudiendo restringirse a un hemisferio cerebral. A su vez, las crisis parciales se clasifican teniendo en cuenta si se altera o no la conciencia. Las crisis parciales simples son aquellas en las que la conciencia no se ve alterada; mientras que en las crisis parciales complejas existe pérdida de la conciencia y generalmente se involucra al sistema límbico, que incluye estructuras como el hipocampo y la amígdala^{13,14,19}. No obstante, una crisis parcial simple puede convertirse en una crisis parcial compleja o en una generalizada^{13,14}.

LOS MECANISMOS DE GENERACIÓN DE LA EPILEPSIA FOCAL

La capacidad de algunas poblaciones de neuronas de generar descargas sincrónicas, excesivas y de alta frecuencia determina

el desarrollo de la epileptogénesis focal^{20,21} y depende de la interacción de varios factores que incluyen los siguientes mecanismos:

1) Generación de descargas en ráfaga. Ésta (trenes de potenciales de acción) es un mecanismo de amplificación de las señales, ya que las neuronas que generan múltiples impulsos en respuesta a un estímulo tenderían a liberar más neurotransmisores desde su terminal sináptica²⁰. En condiciones en que los eventos sinápticos excitatorios aumentan o los inhibitorios disminuyen, la actividad de las descargas en ráfaga en las células marcapaso, como las células piramidales de las áreas CA1-CA3 del hipocampo^{22,23} y las células corticales de las capas IV-V^{24,25}, pueden ejercer una despolarización intensa y la generación repetida y sincrónica de espigas en otras neuronas o en ellas mismas^{26,27,28}.

2) Disminución de mecanismos inhibitorios. La inhibición postsináptica está ampliamente distribuida en los circuitos corticales y es el mecanismo de control que previene el desarrollo de descargas epilépticas sincrónicas. Este evento inhibitorio es mediado por el GABA (ácido gama-amino butírico) y funciona para: restringir la propagación de la actividad epiléptica a través de la corteza (área de inhibición)^{29,30}; disminuir la propagación a otras estructuras distantes; prevenir la generación de descargas en ráfaga por un incremento en las conductancias de Cl⁻ y K⁺ y por el control del potencial de membrana³¹; y disminuir la actividad de circuitos excitatorios³². La reducción en la inhibición mediada por el GABA interfiere en estos mecanismos y podría conducir al desarrollo de epileptogénesis^{33,34}.

3) Potenciales postsinápticos excitatorios. Los circuitos sinápticos excitatorios en estructuras corticales representan un tercer elemento que determina el desarrollo de la epileptogénesis focal. Los potenciales postsinápticos excitatorios (PPE) participan en este proceso y son evidentes cuando la inhibición está disminuida²⁰.

Los PPE se relacionan con la generación de eventos intrínsecos de membrana como las descargas en ráfaga en neuronas susceptibles³¹. Además, la propagación de los impulsos en circuitos excitatorios tales como las arborizaciones de neuronas tálamo-corticales, o las conexiones excitadoras recurrentes entre las neuronas piramidales del hipocampo o la corteza, sirven para sincronizar la población neuronal tras la activación de PPE. Cuando los PPE se suman a través de la activación de circuitos excitatorios recurrentes poli-sinápticos, se generan múltiples despolarizaciones postsinápticas largas, lo que conduce a la generación de potenciales de acción repetidos de alta frecuencia y a una cascada de excitación en dichos circuitos³⁵.

La suma de las corrientes de membrana sinápticas e

intrínsecas generadas por la activación de múltiples grupos de células producen un potencial de campo extracelular característico de las espigas epilépticas presentes en el electroencefalograma. Es decir, dichas espigas se generan cuando la despolarización transitoria de las dendritas apicales de una población neuronal se sincroniza altamente¹¹. La activación de PPE en circuitos corticales complejos es el principal factor de sincronización²⁰. Aunado a lo anterior, existen mecanismos “no sinápticos” (aquellos que son independientes de la transmisión sináptica química) que participan en la sincronización de la actividad neuronal durante las crisis epilépticas. Estos mecanismos incluyen el acople eléctrico a través de las uniones estrechas entre las células, los efectos del campo eléctrico y cambios en el volumen extracelular (transmisión efáptica), así como las interacciones iónicas (incremento de la concentración extracelular de K⁺)³⁶.

En la epilepsia relacionada con la localización del área afectada el fenómeno ictal depende de la complejidad de las estructuras anatómicas involucradas en la generación de las descargas epilépticas (zona epileptogénica)³⁷. Específicamente, en las crisis parciales que se propagan desde estructuras límbicas, el *claustrum* participa en la activación de los mecanismos motores del hemisferio ipsilateral, mientras que los dos tercios anteriores del cuerpo calloso son necesarios para la propagación bilateral de las crisis motoras parciales³⁸.

LAS CRISIS EPILÉPTICAS GENERALIZADAS O DE INICIO GENERALIZADO

En las crisis generalizadas, la descarga incontrolable de las neuronas involucra a ambos hemisferios cerebrales. La crisis epiléptica inicia en un área del cerebro y se propaga a toda la masa encefálica. La conciencia se altera como posible manifestación inicial y se presentan conductas motoras bilaterales. El patrón electroencefalográfico ictal es bilateral al inicio y presumiblemente refleja descarga neuronal, la cual involucra a ambos hemisferios. Las crisis generalizadas pueden además subdividirse en crisis convulsivas (crisis tónico-clónicas, tónicas y clónicas) y en crisis no convulsivas (crisis de ausencia, mioclónicas y atónicas)^{13,14}.

LOS MECANISMOS DE GENERACIÓN DE LA EPILEPSIA GENERALIZADA

Los mecanismos patológicos de la epilepsia generalizada involucran interacciones complejas entre estructuras corticales y subcorticales²⁰. Algunos de los mecanismos involucrados en la génesis de la epilepsia generalizada incluyen: 1) una respuesta anormal de la corteza hiperexcitable a las proyecciones de

entrada inicialmente normales del tálamo; 2) la existencia de un generador subcortical primario; 3) inervaciones corticales anormales desde estructuras subcorticales³⁹.

Las diferentes formas de las crisis epilépticas dependen de la región y las proyecciones anatómicas involucradas. Algunos modelos experimentales indican que en la generación y la propagación de las crisis generalizadas están implicadas estructuras del tallo cerebral, incluyendo el cuerpo geniculado lateral, las vías ascendentes a través de los cuerpos mamilares, el tálamo anterior, la sustancia negra y circuitos relacionados^{39,40}.

La evidencia experimental indica que el cerebro anterior, principalmente en regiones relacionadas con el sistema límbico, es necesario para la inducción de las convulsiones caracterizadas por crisis clónicas faciales y de los miembros anteriores, pero no para otros componentes de las crisis clónicas y tónicas. En contraste, la formación reticular y el tallo cerebral están implicados en el componente tónico de las crisis⁴¹.

LOS PERÍODOS DE LA ACTIVIDAD EPILÉPTICA

La actividad epiléptica se caracteriza por tres períodos:

1) El período ictal o *ictus*, que corresponde a la crisis epiléptica *per se*, es un evento intermitente y breve que puede durar desde segundos hasta minutos⁴² y que presenta un patrón electroencefalográfico hipersincrónico asociado con cambios conductuales⁵. Las crisis recurrentes inducen mecanismos homeostáticos que actúan para disminuir la hiperexcitabilidad. Estos mecanismos terminan con el evento ictal, previenen la propagación de la actividad epiléptica y mantienen el estado interictal⁴³ (ver más adelante). Los factores fisiológicos que influyen en la transición del estado interictal al ictal son la sincronización y la excitabilidad neuronal¹¹.

2) El período postictal es aquel que se presenta inmediatamente después de la crisis epiléptica y cuya duración varía desde unos minutos hasta días¹¹. El período postictal sigue a la mayoría de las crisis convulsivas parciales y generalizadas¹¹. Durante este período se presenta la depresión postictal, que se caracteriza por la inmovilidad corporal y representa el umbral de una crisis epiléptica (refractoriedad postictal)^{44,45}. Además, se observan algunas alteraciones conductuales tales como parestias (parálisis ligera o incompleta), automatismos, así como amnesia anterógrada y analgesia, las cuales se asocian a la activación del sistema de los opioides endógenos^{46,47,48}. Otro sistema involucrado en el período postictal es el GABAérgico^{49,50}.

3) El período interictal es el transcurrido entre crisis y crisis. Se ha propuesto que los cambios asociados con éste son consecuencia de mecanismos inhibitorios que se desarrollan para disminuir la hiperexcitabilidad epiléptica e impedir la aparición de nuevas crisis^{11,43}. Algunas veces es difícil identificar

el estado interictal¹¹, porque ciertas conductas como depresión y agresividad se presentan durante este período, en el que además se ha propuesto la participación de los péptidos opioides^{42,43}.

CONCLUSIONES

La prevalencia de epilepsia en nuestro país representa más de un millón de pacientes, por lo que utilizar la terminología adecuada que mejor describe el padecimiento en cuestión, así como entender los mecanismos que la desencadenan, permitirán al especialista médico el diagnóstico y tratamiento más preciso de la misma. Sin embargo, debe señalarse que varias clasificaciones y términos resultan complejos, ambiguos, o bien no involucran todos los aspectos, ya sea clínico o molecular, de interés para una correcta identificación de la epilepsia. Resulta obvio que aún quedan numerosos esfuerzos por realizar para satisfacer estas carencias.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de repatriación a MLLM (75211).

BIBLIOGRAFÍA

- Bell GS, Sander JW. The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure* 2001; 10: 306-16.
- Ávila Áviles JM. Comorbilidad del trastorno compulsivo en pacientes con epilepsia. *Arch Neurociencia* 2004; 9: 94-9.
- Engel J Jr. Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia* 2006; 47: 1558-68.
- Fisher RS, Frost JJ. *Epilepsy. The Journal of Nuclear Medicine* 1991; 32: 651-59.
- Engel, Jr. Concepts of epilepsy. *Epilepsia* 1995; 36 (Suppl) 1: S23-S29.
- Engel Jr, Pedley TA. What's the epilepsy? *Epilepsy: a comprehensive textbook* Engel J, Pedley TA, editores. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1995: 1-7.
- Rubio DF. Aspectos generales y clasificación de la epilepsia. En: Feria VA, Martínez de Muñoz D, Rubio DF, editores. *Epilepsia, aspectos neurobiológicos, médicos y sociales*. México: Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía; 1997: 1-24.
- Mody I. The molecular basis of kindling. *Brain Pathology* 1993; 3: 395-403.
- Olsen RW, Avoli M. GABA and epileptogenesis. *Epilepsia* 1997; 38: 399-407.
- Dichter MA. Overview: The Neurobiology of Epilepsy. *Epilepsy: a comprehensive textbook*. Engel J Jr, Pedley TA, editores. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers; 1997. pp. 233-35.
- Engel Jr. *Seizures and Epilepsy*. Philadelphia: Davis Company; 1989. P. 3-7, 71-84.
- Temkin NR. Antiepileptogenesis and seizures prevention trials with antiepileptic drugs. *Epilepsia* 2001; 42: 515-24.
- Commission on classification and Terminology of the International League Against Epilepsy: Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* 1989; 30: 389-99.
- Commission on classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* 1981; 22: 489-501.
- Engel J Jr. International League Against Epilepsy (ILAE). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2001; 42: 796-803.
- Haglund MM, Ojemann GA, Hochman DW. Optical imaging of epileptiform and functional activity in human cerebral cortex. *Nature* 1992; 358: 668-71.
- Mayberg HS y cols. Quantification of Mu and Non-Mu opiate receptors in temporal lobe epilepsy using positron emission tomography. *Annals Neurology* 1991; 30: 3-11.
- Ondarza R y cols. Evaluation of Opioid peptide and muscarinic receptors in human epileptogenic neocortex: An autoradiographic study. *Epilepsia* 2002; 43 (Suppl 5): 230-34.
- Engel J Jr. Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1996; 26: 141-150.
- Prince DA. Basic mechanisms of focal epileptogenesis. En: Avanzini G, Fariello R, Heinemann U, Mutani R, Editores. *Epileptogenic and excitotoxic mechanisms*. London: John Libbey & Company; 1993: 17-27.
- De Curtis M, Avanzini G. Interictal spikes in focal epileptogenesis. *Prog. Neurobiol* 2001; 6: 541-67.
- Schwartzkroin PA, Prince DA. Effects of TEA on hippocampal neurons. *Brain Res* 1980; 185: 169-81.
- Mutani R. Neurophysiological mechanisms underlying epileptogenesis. *Funct. Neurol* 1986; 1: 385-89.
- Connors BW. Initiation of synchronized neuronal bursting in neocortex. *Nature* 1984; 310: 685-87.
- Chagnac-Amititai Y, Luhmann H, Prince DA. Burst generating and regular spiking layer 5 pyramidal neurons of rat neocortex have different morphological features. *J Comp Neurol* 1990; 296: 598-613.
- Traub RD, Wong RKS. Cellular mechanisms of neuronal synchronization in epilepsy. *Science* 1982; 216: 745-47.
- De Curtis M, Radici C, Forti M. Cellular mechanisms underlying spontaneous interictal spikes in an acute model of focal cortical epileptogenesis. *Neuroscience* 1999; 88: 107-17.
- Bragin A, Wilson CL, Engel Jr. Chronic epileptogenesis requires development of network of pathologically interconnected neurons clusters: a hypothesis. *Epilepsia* 2000; 41 Suppl 6: S144-152.
- Prince DA, Wilder BJ. Control mechanisms of cortical epileptogenic foci "surround" inhibition. *Arch Neurol* 1967; 16: 194-202.
- Dichter M, Spencer WA. Penicillin-induced interictal discharges from the cat hippocampus. II. Mechanisms underlying origin and restriction. *J Neurophysiol* 1969; 380: 175-89.
- Wong RSK, Prince DA. Dendritic mechanisms underlying penicillin-induced epileptiform activity. *Science* 1979; 204: 1228-31.
- Miles R, Wong RKS. Inhibitory control of focal excitatory circuits in guinea-pig hippocampus. *J Physiol* 1987; 388: 611-29.
- Andersen P. Basic mechanisms of penicillin-induced epileptiform discharges. *Prog Clin Biol Res* 1983; 124: 3-13.
- Campbell AM, Holmes O. Bicuculline epileptogenesis in the rat. *Brain Res* 1984; 323: 239-46.
- Traub RD, Wong RKS, Miles R, Knowles WD. Neuronal interactions during epileptic events in vitro. *Fed Proc* 1985; 44: 2953-55.
- Dudek FE, Yasumura T, Rash JE. Non-synaptic mechanisms in seizures and epileptogenesis. *Cell Biol Int* 1989; 22: 793-805.
- Avanzini G, Moshe SL, Schwartzkroin PA, Engel J Jr. *Animal models of localization-related epilepsy. Epilepsy: a comprehensive Textbook*. Engel Jr, Pedley TA, editores. Philadelphia: Lippincott-Raven

- Publisher; 1997. pp. 427-42.
38. Wada J. Forebrain convulsive mechanisms examined in the primate model of generalized epilepsy: emphasis on the claustrum. En: Malafosse A, Genton P, Hirsch E, Marescaux C, editores. Idiopathic generalized seizures: clinical, experimental and genetic aspects. London: John Libbey; 1994: 349-71.
 39. Zifkin BG, Dravet C. Generalized convulsive seizures. En: Engel J Jr, Pedley TA, editores. Epilepsy: a comprehensive textbook. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997: 567-77.
 40. Noebels JL. A single-gene error of noradrenergic axon growth synchronizes central neurons. *Nature* 1984; 14: 11-16.
 41. Gale K. Animal models of generalized convulsive seizures. En: Avoli M, Gloor P, Kostopoulos G, Naquet R, editores. Generalized epilepsy. Neurobiological approaches. Michigan: Birkhäuser Press; 1990: 329-43.
 42. Engel J Jr, Rocha L. Interictal behavioral disturbances: a search for molecular substrates. *Epilepsy Res Suppl* 1992; 9: 341-49.
 43. Engel J Jr, Blander R, Griffith NC, Caldecott-Hazard S. Neurobiological evidence for epilepsy-induced interictal disturbances. *Advances in neurology* 1991; 55: 97-109.
 44. Mucha RF, Pinel JPJ. Postseizure inhibition of kindled seizures. *Exp Neurol* 1977; 54: 266-82.
 45. Caldecott-Hazard S y cols. Behavioral and electrographic effects of opioid on kindling seizures in rats. *Brain Res* 1982; 251: 237-33.
 46. Caldecott-Hazard S. Interictal changes in behavior and cerebral metabolism in the rat: Opioid involvement. *Exp Neurol* 1998; 99: 73-83.
 47. Frenk H y cols. Endogenous opioids may mediate post-ictal behavioral depression in amygdaloid-kindling rats. *Brain Res* 1979; 167: 435-40.
 48. Cottrell B, Bohus B. Immediate and long-term effects of opiate antagonist on postictal behavior following amygdala kindling in the rat. *Eur J Pharmacol* 1987; 150: 417-21.
 49. Adamec RE, Stark-Adamec, C. Limbic kindling and animal behavior- Implications for human psychopathology associated with complex partial seizures. *Biological Psychiatry* 1983; 18: 269-93.
 50. Titulaer MN y cols. Kindling induces time-dependent and regional specific changes in the [3H]muscimol binding in the rat hippocampus: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience* 1994; 59: 817-26.



COMUNICACIÓN CIENTÍFICA

Instrucciones para los autores

La Revista Médica de la Universidad Veracruzana es el órgano oficial del Instituto de Ciencias de la Salud, Hospital Escuela y Facultad de Medicina-Xalapa; es un foro abierto a científicos, médicos, investigadores, docentes, estudiantes y otros profesionales de la salud que deseen expresar y compartir experiencias en temas desarrollados por esta comunidad de científicos. Se edita semestralmente e incluye: editoriales, artículos originales, especiales, de revisión bibliográfica, comunicaciones breves, comentarios, cartas al editor, reportes de casos clínicos, reporte de artículos publicados, una sección de historia de la medicina, arte y medicina y un vocabulario inglés-español de términos médicos. Debido a lo multidisciplinario de estos temas, se cubre una amplia gama de actividades médicas, procedimientos de laboratorio y actividades desarrolladas en las facultades y hospitales. Los editoriales sólo se considerarán por invitación.

La aceptación de publicar un trabajo es decisión exclusiva del comité editorial. Los manuscritos deben acompañarse de una carta cediendo los derechos editoriales a la revista, mencionando que no han sido publicados en otras revistas y ninguna publicación parcial o total del material enviado puede ser publicada o empleada en otro sitio sin autorización expresa de la revista. Los artículos en inglés deben ser previamente revisados por un corrector de estilo que tenga experiencia en el campo médico y/o biológico; en caso necesario en la oficina de la Revista se pueden obtener nombre y dirección de algunos expertos.

Toda correspondencia o escrito debe dirigirse a:

Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Instituto de Ciencias de la Salud.

Av. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n.

Col. Industrial las Ánimas.

C. P. 91190, Xalapa, Veracruz, México.

Tel. (228)8418925, fax (228)8418926.

Correos electrónicos: revista_medica@uv.mx

rev_meduv@hotmail.com

Todos los manuscritos deberán enviarse en original y dos copias, acompañados de un disquete o CD que contenga la versión original en Microsoft Word, con letra Times New Roman 11, a doble espacio, en papel blanco tamaño carta por una sola cara, y las figuras en archivos JPG.

Cada sección o componente del manuscrito debe iniciar en una nueva página siguiendo la siguiente secuencia: (1) página del título, (2) resumen y palabras clave, (3) texto, (4) agradecimientos, (5) referencias, (6) cuadros (cada uno en una página con su título y pies por separado en otra hoja) y (7) pies de figuras. Todas las páginas deben ir numeradas, incluyendo la página del título, cuadros, figuras y referencias. Deben incluirse los permisos para reproducir material publicado previamente o para ilustraciones que puedan identificarse a alguna persona.

Página del título

El título deberá escribirse en español e inglés. En esta sección deben incluirse los nombres completos de los autores, grados académicos sin abreviaturas, la institución a la que pertenecen y fuentes de apoyo recibido. En la parte inferior debe señalarse nombre, dirección, apartado postal y teléfono, así como correo electrónico del autor responsable, a quien se le enviará cualquier notificación, pruebas de galeras y solicitud de sobretiros.

Resumen y palabras clave

Artículos originales: el resumen y el abstract deben ser menores de 250 palabras y deberán estructurarse con los subtítulos: introducción, objetivos, material y métodos, resultados y conclusiones. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Artículo de revisión: el resumen y el abstract deben ser menores de 250 palabras. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Texto

Cada parte debe iniciar en una página por separado manteniendo el siguiente orden: introducción, materiales y métodos, ética, resultados, discusión y, cuando sea necesario, conclusiones y recomendaciones. Hacemos un llamado para evitar la jerga exagerada de la especialidad, así como el abuso de las iniciales. Las instrucciones se presentan de acuerdo con el International Committee of Medical Journal Editors que se publicó en el *Ann Intern Med* 1982: 96 766-71 y en el *Br Med J.* 1982; 284: 1877-90. Los nombres de equipo y fármacos deben hacer referencia a la compañía con su nombre completo. En caso de medicamentos, los nombres genéricos deben ir seguidos del nombre comercial entre paréntesis.

Bibliografía

Las referencias bibliográficas deben numerarse en el orden que fueron citadas en el texto y usar para su identificación números arábigos como superíndices. La lista de referencias también debe ir a doble espacio. Cuando haya más de 4 autores, se escribirá sólo el nombre del primero seguido por: y cols. Apegarse a las normas del Index Medicus <http://www.encolombia.com/medicina/infectologia/infectologia4100sup-requisitos3.htm>, como es el caso de las abreviaturas de revistas. Las comunicaciones personales y los resultados no publicados deben incorporarse al texto y no como referencias.

Cuadros

Deben contener los resultados más importantes. Sus títulos y pies deben ir en página aparte.

Figuras

Las figuras e ilustraciones deben ir en papel ilustración, papel albanene o equivalente. Las fotografías deben ser impresas en alto contraste, en blanco y negro y ser de tamaño postal (127 x 173 mm). Todas las figuras y fotos deben ir debidamente identificadas en su parte posterior con una etiqueta adherible, no escribir directamente sobre las figuras o fotografías. Toda figura debe ir acompañada de su texto o pie en hoja aparte.

Los artículos aceptados serán sometidos a una revisión editorial que puede incluir, en caso necesario, la condensación del texto, la corrección del estilo y la supresión o adición de cuadros, ilustraciones y anexos, sin modificarse el sentido del artículo.

La aceptación de los artículos será comunicada por escrito a los autores en un periodo no mayor a un mes desde la fecha de recepción. Para ello, deberán indicar claramente la dirección, teléfono, fax, correo electrónico y domicilio donde laboren los autores principales.

