

VOL 82 - Nº3
Mayo - Agosto de 2018
Ciudad de Bs. As. Argentina
ISSN 1515-6761 Ed. Impresa
ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM

Bioquímica y Patología Clínica



Alexander Fleming
Compartió con Florey y Chain el premio Nobel por el
“descubrimiento de la penicilina y su efecto curativo
sobre las enfermedades infecciosas” en 1945.

Revista de la Asociación Bioquímica Argentina.
Publicación cuatrimestral.





Analizador Multiparamétrico Totalmente automatizado

ChorusTRIO

- Dispositivo individual de un solo uso que contiene todos los reactivos necesarios para realizar el ensayo.
- Capacidad multiparamétrica: Procesa hasta 30 diferentes pruebas por corrida.
- La velocidad permite obtener resultados simultáneos de diferentes paneles.
- El primer resultado se obtiene antes de 90 minutos.
- Volumen de muestra:
La muestra se dispensa manualmente.
ELISA: Mínimo de muestra 60 uL
Fijación de complemento: Mínimo de muestra 120 uL



Enfermedades Infecciosas

Adenovirus IgG	Legionella Pneumophyla 1-6 IgG
Adenovirus IgA	Measles IgG
Chlamydia Pneumoniae IgG	Measles IgM
Chlamydia Pneumoniae IgM	Mycoplasma Pneumoniae IgA
Chlamydia Pneumoniae IgA	Mycoplasma Pneumoniae IgG
Cytomegalovirus IgG	Mycoplasma Pneumoniae IgM
Cytomegalovirus IgG Avidity	Mumps IgG
Cytomegalovirus IgM	Mumps IgM
Epstein-Barr VCA IgG	Respiratory Syncytial Virus IgG
Epstein-Barr VCA IgM	Respiratory Syncytial Virus IgG
Epstein-Barr EBNA IgG	Rubella IgG
Epstein-Barr Early Antigen IgG	Rubella IgG Avidity
Epstein-Barr Early Antigen IgM	Rubella IgM
Helicobacter Pylori IgG	Syphilis Screen Recombi
Helicobacter Pylori IgA	Treponema IgG
HSV 1 Screen	Treponema IgM
HSV 2 Screen	Toscana Virus IgG (Sandfly Fever Virus)
Herpes Simplex 1+2 IGM	Toscana Virus IgM (Sandfly Fever Virus)
Herpes Simplex 1+2 IgG	Toxoplasma IgG
Influenza A IgG	Toxoplasma IgG Avidity
Influenza A IgG	Toxoplasma IgM
Influenza B IgG	Toxoplasma IgA
Influenza B IgG	Varicella IgG
Legionella Pneumophyla IgM	Varicella IgM
Legionella Pneumophyla 1 IgG	

Autoinmunidad

AINA-8	Gliadin-B
ENA-6-S	Deaminated Gliadin
ANA Screen	Preptide-G
SM	Deaminated Gliadin
SS-A	Preptide -A
SS-B	tTg-A
Sci-70	tTg-G
Cemp-B	ASCA-A
Jo-1	ASCA-G
dsDNA-G	PR3
dsDNA-M	MPO
CCP	GBM
RF-G	a-TG
RF-M	a-TPO
Cardiolipin-IgG	TG
Cardiolipin-IgM	LKM-1
Beta 2-Glycoprotein-G	AMA-M2
Beta2-Glycoprotein -M	Insulin
Gliadin-A	

Fijación del Complemento

Bordetella Pertussis	Chlamydia
Borrelia	Echo Virus P Mix
Brucella	Influenza A Virus
Campylobacter Jejuni	Influenza B Virus
Legionella Pneumophyla	Mycoplasma Pneumoniae
Leptospira Mix	Parainfluenza Mix
Listeria Monocytogenes	Q-Fever
Shigella Flexneri	Reovirus
Yersinia Enterocolitica	Respiratory Syncytial Virus
Echo Virus N Mix	Coxsackie Virus A Mix
Poliovirus Mix	Coxsackie Virus B Mix
Adenovirus	Achinococcus

Próximamente disponibles: Borellia IgG - IgM, Vitamina D, Chlamydia Trachomatis IgG - IgA, Parvovirus IgG - IgM, Panel Vacunacion (Tetanos - Difteria - polio IgG), EBV VCA Recombinante.



Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" C1107APB - Buenos Aires Argentina Tel./Fax: +54 11 4300-9090

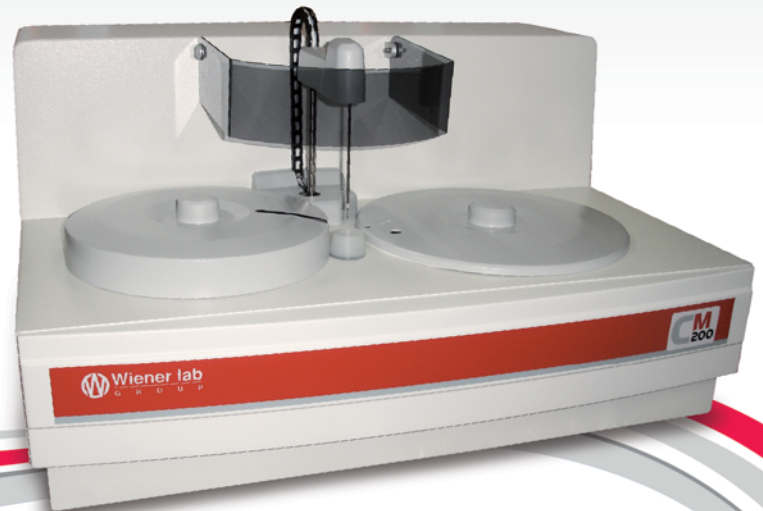
info@biodiagnostico.com.ar www.biodiagnostico.com.ar

CM 200

¿Qué haría Ud. con 2 horas más 5 veces a la semana?

**Analizador automático
para bioquímica clínica**

- › Velocidad: 200 test/h
- › Consumo de agua: <0,5 litros/h
- › Posiciones para muestra: 48
- › Posiciones para reactivos: 48
- › Capacidad para resolver urgencias
- › Dilución automática de muestras
- › Control de calidad



El **CM200** es el primer instrumento diseñado específicamente para ser la "primera elección" en el momento que Ud. decida automatizar su rutina de Química Clínica.

De manejo sencillo y amigable, con capacidad para procesar hasta 200 test/hora, le asegura años de servicio de rendimiento excelente. Y lo más importante: **sin complicaciones**.

No obstante, es bueno saber que **Wiener lab.** cuenta con la **mayor red de distribución, asistencia técnica y asesoramiento bioquímico del país**. Que todos nuestros reactivos han sido **completamente adaptados al instrumento** siguiendo todas las normativas internacionales y que finalmente, el **CM200 está integralmente producido en la Argentina** por la empresa que lo acompañó desde siempre.

Consulte por nuestra oferta especial y planes de financiación en pesos.

Y vaya pensando qué hacer en su nuevo tiempo libre



Asistencia Técnica WL



www.wiener-lab.com
marketing@wiener-lab.com



Wiener Laboratorios SAIC
Riobamba 2944,
S2003GSD Rosario, Argentina
Tel.: +54 341 4329191/6

Moreno 1850, 2° piso,
C1094ABB Buenos Aires, Argentina
Tel.: +54 11 43754151/4

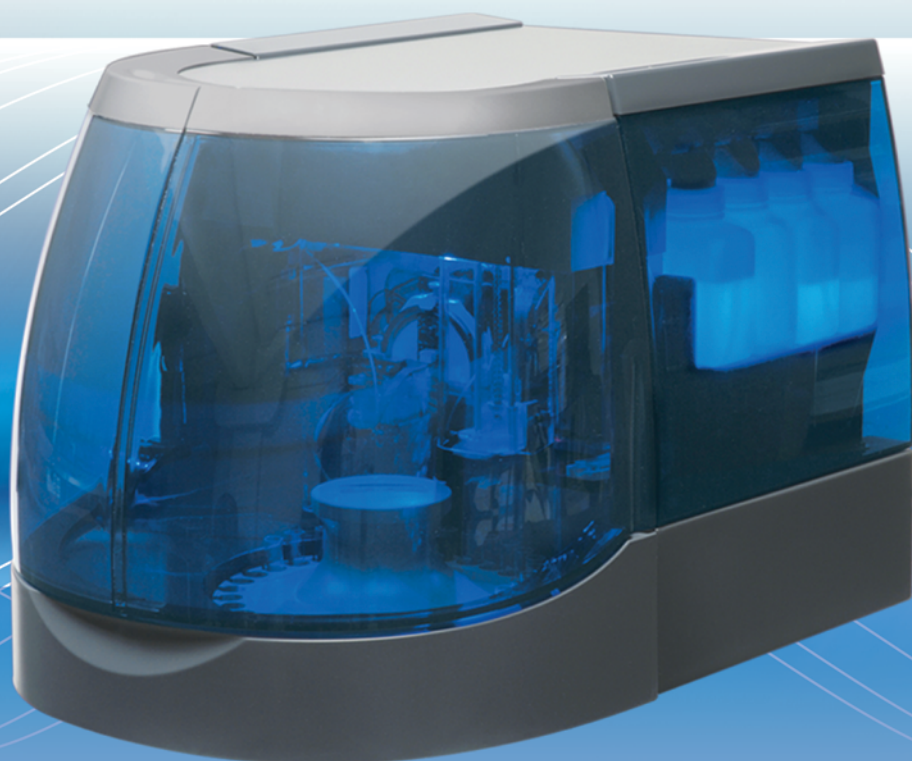
 **Wiener lab**
G R O U P

www.wiener-lab.com

MINICAP

**UNA NUEVA DIMENSION EN
ELECTROFORESIS CAPILAR**

ÚLTIMA GENERACIÓN



MINICAP

30 tests / hora.

Dos muestras simultáneas.

Tubo primario.

Lector de códigos de barra.

Completa trazabilidad de muestras

**Transferencia de resultados vía
módem.**

Proteínas

Inmunotyping

Proteínas Alta Resolución

Hemoglobina

CDT

Orinas.

sebia

Sucursal Buenos Aires
Aráoz 86 | C1414DPB | C. A.B.A. | Argentina
Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876 | Fax: 54-11 4856-5652
bga@bganalizadores.com.ar - www.bganalizadores.com.ar


Sucursal Neuquén
Santa Cruz 1629 | CP 8300
Neuquén | Argentina | Tel.: 0299-4471385
bganqn@bganalizadores.com.ar




BG Analizadores
Soluciones Personalizadas

Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación Bioquímica Argentina

SUMARIO

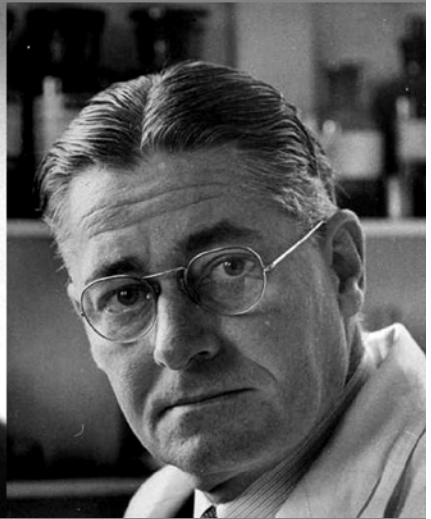
- Pág. 11 **Editorial**
La Bioquímica, expansión sin límites
Dra. Silvia B. González
Presidente Asociación Bioquímica Argentina (ABA)
- Pág. 12 **Nueva prueba diagnóstica para autoanticuerpos en Miastenia Gravis basado en un sistema de micropartículas fluorescentes libre de células**
Paz, Mariela Laura; Manuelli, Paula Natalia; González Maglio, Daniel Horacio; Aguirre, Florencia; Villa, Andrés; Leoni, Juliana; Barrantes, Francisco José.
- Pág. 18 **Factores de riesgo cardiometabólico en embarazadas, niños y adolescentes**
Ponce, Graciela Mabel; García, Jorge Alberto; Quezada, Andrés Orlando; Rodríguez, María Alejandra.
- Pág. 22 **Western blot parcialmente desnaturalizante de Transtirretina en plasmas de portadores de la mutación V30M**
Cardini, Juan; Sáez, María Soledad; Llanos, Macarena; Sorroche, Patricia Beatriz; Lorenzón, María Victoria; Ainda, Maximiliano; Grigera, Pablo Rafael.
- Pág. 28 **Sífilis: situación entre los años 2014 y 2018 en un hospital de la ciudad de La Plata**
Copparoni, Guido; González, Julieta Anahí; Zubillaga, Marina Yael, Rivera, Amelia Juliana; Farah Azul; Ferranti Samantha; Guzzetti Pilar; Bernal, Natalia Elisabet; Goñi, Silvia Inés; Marcuzzo, Graciela Dina; Etchegoyen, María Cecilia.
- Pág. 34 **Biotecnología aplicada a la salud: el caso de la Esclerosis Múltiple. PARTE 1**
Báez, Francisco; Cardini Rocca, Juan Martín; Ferrari, Irina Jazmín; Llanos, Macarena; Elías, María José ina; Sterin Prynch, Aída Edith.
- Pág. 43 **Cronograma de Cursos 2019**



Sir Alexander Fleming



Ernst Boris Chain



Sir Howard Walter Florey

TAPA

Fleming fue elegido miembro de la Royal Society en 1942, recibió el título de Sir dos años más tarde y, por fin, en 1945, compartió con Florey y Chain el premio Nobel por el “descubrimiento de la penicilina y su efecto curativo sobre las enfermedades infecciosas”.

Sir Alexander Fleming nació el 6 de agosto de 1881 en Lochfield, Escocia, en el seno de una familia campesina. Fleming recibió, hasta 1894, una educación rudimentaria, obtenida con dificultad, de la que sin embargo parece haber extraído el gusto por la observación detallada y el talante sencillo que luego habrían de caracterizarle.

La carrera profesional de Fleming estuvo dedicada a la investigación de las defensas del cuerpo humano contra las infecciones bacterianas. Su nombre está asociado a dos descubrimientos importantes: la lisozima y la penicilina. En 1906, entró a formar parte del equipo del bacteriólogo sir Almroth Wright, con quien estuvo asociado durante cuarenta años. En 1908, obtuvo la medalla de oro de la Universidad de Londres. Fue nombrado profesor de bacteriología y, en 1928, pasó a ser catedrático, retirándose como emérito en 1948, aunque ocupó hasta 1954 la dirección del Wright-Fleming Institute of Microbiology, fundado en su honor.

Su afiliación al momento del premio era London University, Londres, Reino Unido.

Entre los microorganismos, la vida es una batalla constante por la supervivencia. Alexander Fleming se interesó en esto. Solía dejar cuencos con cultivos de bacterias de pie junto a su mesa de trabajo. En 1928, vio que además de las bacterias, un hongo de moho había comenzado a crecer en un tazón y que el crecimiento de las bacterias se había impedido en las cercanías del moho. Concluyó que el moho contenía una sustancia que era

eficaz contra las bacterias. La sustancia recibió el nombre de penicilina y se convirtió en la base de los medicamentos para tratar infecciones bacterianas.

Después del descubrimiento de Alexander Fleming en 1928, de que cierto moho produjo una sustancia llamada penicilina que inhibía el crecimiento de bacterias, no fue un gran salto pensar que la penicilina podría usarse como un producto farmacéutico. Sin embargo, la sustancia demostró ser inestable y difícil de producir en forma pura. Ernst Boris Chain, Howard Walter Florey y sus colegas tuvieron éxito en la producción sistemática de una forma pura de penicilina a principios de la década de 1940 y en la investigación de sus propiedades con más detalle. Los esfuerzos adicionales llevaron a un producto farmacéutico que podría producirse en grandes cantidades.

Fleming fue elegido miembro de la Royal Society en 1942, recibió el título de sir dos años más tarde y, por fin, en 1945, compartió con Florey y Chain el premio Nobel por el “descubrimiento de la penicilina y su efecto curativo sobre las enfermedades infecciosas”. Falleció en Londres el 11 de marzo de 1955.

Bibliografía:

MLA style: Sir Alexander Fleming – Facts. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2018. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1945/fleming/facts/>

<https://www.biografiasyvidas.com/monografia/fleming/>

Bioquímica y Patología Clínica

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

Venezuela 1823 - Piso 3 - CP (1096)
Buenos Aires - Argentina
Tel/ fax: 4384-7415 / Tel: 4381-2907
e-mail: info@aba-online.org.ar
www.aba-online.org.ar
Registro Nacional de Derechos de Autor N° 034772
Publicación cuatrimestral

COMISIÓN DE REVISTA

Director:

Dr. Fernando D. Brites

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Argentina.

Secretaria:

Dra. Fabrina Capecce

Hospital General de Niños Pedro Elizalde, Argentina.

Comité Editorial:

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Hospital Carlos G. Durand. Hospital Italiano de Buenos Aires. Instituto Universitario,
Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina.

Dra. Isabel Desimone

Hospital Interzonal General de Agudos Evita de Lanús. Universidad Kennedy. Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Hospital Arturo U. Illia, Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. Carrera de Medicina,
Universidad Nacional de la Matanza. Argentina.

Dr. Julián Verona

Hospital de Balcarce Dr. Felipe A. Fossati. Argentina.

Correctoras:

Lic. Inés Carozza (Castellano)

Lic. María Victoria González Eusevi (Inglés)

Secretarios Administrativos:

Sr. Gastón Goldberg

Sr. Jorge Signorelli

ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA - Fundada el 3 de septiembre de 1934

COMISION DIRECTIVA

Presidente: Dra. Silvia B. González

Vicepresidente: Dra. Patricia Otero

Secretaria: Dra. Viviana Osta

Tesorera: Dra. Isabel Desimone

1º Vocal Titular: Dr. Orlando G. Carballo

2º Vocal Titular: Dr. Alberto Villagra

3º Vocal Titular: Dra. María José Rial

1º Vocal Suplente: Dra. María Rugiero

2º Vocal Suplente: Dr. Eduardo Mormandi

3º Vocal Suplente: Dr. Santiago Fares Taie

COMISION REVISORA DE CUENTAS

Titular 1º: Dra. Silvia Morilla

Titular 2º: Dra. Estella Meyer

Titular 3º: Dra. Silvia Cajiao

1º Vocal Suplente: Dra. Graciela Astarita

2º Vocal Suplente: Dra. Claudia Ayuso

COMISIONES INTERNAS

PRENSA Y DIFUSIÓN

Presidente: Dra. Laura Colitto

Secretario: Dr. Santiago Fares Taie

Vocales:

Dr. Eduardo Mormandi

CERTIFICACION

Presidente: Dr. Alberto Villagra

Secretario: Dra. Viviana Osta

Vocales:

Dra. María José Rial

CURSOS

Presidente: Dra. Silvia González

Secretaria: Dra. María Soledad Caldirola

Vocales:

Dra. María de la Paz Domínguez

Dra. Liliana Maggi

Dra. María José Rial

Dra. Alejandra Svartz

Dra. Marysia Szefer

COMITÉ CIENTÍFICO ASESOR

Dra. Mónica Aixalá

Dr. Gloria Alvarez

Dra. Liliana Arias

Dra. Alicia Blanco

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Dra. Silvia González

Dr. Gabriel Migliarino

Dr. Eduardo Mormandi

Dra. Raquel Osatinsky

Dr. Jorge Rey

Dra. María José Rial

Dra. Sandra Rozental

Dra. Gabriela Santizo

Dra. Nora Slobodianik

PREMIOS Y DISTINCIONES

Dra. Alicia Blanco

Dr. Fernando Brites

Dra. Nilda Fink

Dr. Nestor Litwin

Dra. Raquel Osatinsky

REGLAMENTO DE PUBLICACIONES DE BIOQUÍMICA Y PATOLOGÍA CLÍNICA, REVISTA DE LA ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

Bioquímica y Patología Clínica (ByPC), Revista de la Asociación Bioquímica Argentina, tiene el objetivo de difundir artículos inéditos y originales relacionados con aplicaciones de la bioquímica clínica en todas sus especialidades en el campo asistencial y de investigación clínica humana, así como en bioquímica animal y vegetal. ByPC está destinada a todos los profesionales de la salud interesados en estas áreas. ByPC se publica cuatrimestralmente en ambos formatos, impreso [ISSN 1515-6761] y electrónico [ISSN 2250-5903], sin costo para los autores y no posee propósitos comerciales.

La Comisión de Revista de ByPC está integrada de la siguiente manera:

Director:

Dr. Fernando D. Brites. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Argentina.

Secretaria:

Dra. Fabrina Capece
Hospital General de Niños Pedro Elizalde, Argentina.

Comité Editorial:

Dr. Orlando Gabriel Carballo
Hospital Carlos G. Durand. Hospital Italiano de Buenos Aires. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina.
Dra. Isabel Desimone
Hospital Interzonal General de Agudos Evita de Lanús. Universidad Kennedy. Argentina.
Dr. Jaime Kovensky
Hospital Arturo U. Illia, Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. Carrera de Medicina, Universidad Nacional de la Matanza. Argentina.
Dr. Julián Verona
Hospital de Balcarce Dr. Felipe A. Fossati. Argentina.

Correctoras:

Lic. Inés Carozza [Castellano]
Lic. María Victoria González Eusevi [Inglés]

Secretarios Administrativos:

Sr. Gastón Goldberg
Sr. Jorge Signorelli

Los trabajos enviados a la Revista ByPC no deben haber sido publicados en otra revista u órgano de difusión científica nacional o extranjero, tanto en forma impresa como electrónica. Para la preparación de manuscritos, se siguen los requerimientos del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) disponible en <http://www.icmje.org>. Se pueden consultar guías para publicaciones en <http://www.equatornetwork.org>, en castellano en <http://www.espanol.equator-network.org>. Una vez aprobada la publicación del trabajo, ByPC retiene los derechos de su reproducción total o parcial. Quienes deseen reproducir material publicado en la revista deben solicitar permiso a ByPC. Igualmente, para incluir material de otras fuentes con derechos de autor en artículos a publicar en la revista, se debe obtener el correspondiente permiso, y adjuntar copia del mismo al artículo propuesto para publicación. Para mayor información respecto a los derechos de los autores, se recomienda consultar el documento disponible en <http://www.accesoabierto.net/es/node/62>.

1. Descripción del proceso de revisión y edición

La modalidad de revisión es por pares académicos a doble ciego. Específicamente, la Comisión de Revista realiza una primera evaluación del trabajo recibido y lo envía a 2 revisores, quienes deben ser especialistas reconocidos en el área de incumbencia del trabajo y no deben pertenecer a la misma institución de los autores ni guardar alguna relación conocida con los mismos. Los artículos son enviados a los revisores sin el nombre de los autores, lugar de trabajo, dirección de correspondencia, ni los agradecimientos. Los revisores reciben el trabajo completo acompañado de un formulario guía para la realización de la revisión con tópicos que la Comisión de Revista considera imprescindibles para elaborar el dictamen final. La evaluación efectuada por los revisores debe ser remitida a la Comisión de Revista dentro de los 30 días. El dictamen de los revisores es reservado, así como su identidad, y debe fundamentarse de modo explícito. En caso de discrepancia en el dictamen de los revisores, la Comisión de Revista acudirá a un tercer revisor que cumpla los mismos requisitos que los anteriores. El dictamen es decidido por la Comisión de Revista y es comunicado a los autores. Los resultados del dictamen pueden ser: a) Aceptación sin necesidad de modificaciones adicionales; b) Sugerencia de cambios mayores; c) Sugerencia de cambios menores; y d) Rechazo. Las críticas efectuadas al trabajo, así como un eventual rechazo deben estar debidamente justificados. Los resultados de la evaluación son inapelables.

Una vez que el trabajo ha sido aceptado y se ha efectuado la comunicación a los autores, se procede a la corrección de estilo y ortográfica del mismo, tanto en castellano como en inglés. A continuación, se elabora la prueba de galera, la cual es enviada a los autores, junto con instrucciones para efectuar la corrección de la misma. Los autores cuentan con 5 días hábiles para devolver la prueba de galera corregida.

2. Requisitos para la remisión de manuscritos

- Doble espacio en todas las partes del manuscrito.
- Empezar cada sección o componente en una nueva página.
- Revisar la secuencia: título; autores; lugares de trabajo; datos del autor de correspondencia; resumen y palabras clave en castellano; título, resumen y palabras clave en inglés americano; introducción; materiales y métodos; resultados; discusión; agradecimientos, referencias bibliográficas, leyendas de las figuras; tablas; y figuras (cada uno en páginas separadas).
- Las ilustraciones no deben ser más grandes que 203 x 254 mm.
- Incluir los permisos para reproducir material publicado previamente o usar ilustraciones que pueden identificar a las personas.
- Incluir las transferencias de derechos de autor y otras solicitudes.

3. Carta

Carta dirigida al Director de la Revista en la cual se solicita la publicación del artículo. Debe contener el título del trabajo, categoría a la cual pertenece (ver ítem 4), nombre y apellido de todos los autores, dirección, teléfonos y dirección de e-mail del autor de contacto, una dirección de e-mail alternativa, una frase con valor de declaración jurada en la que se manifieste que el artículo cumple con todos los requisitos de publicación en ByPC, y que la última versión del manuscrito ha sido leída y aprobada por todos los autores.

Los trabajos deberán ser enviados por e-mail a la dirección: revista@aba-online.org.ar.

4. Categorías a las cuales deberán ser presentados los trabajos

- a) Artículos originales.
- b) Casos clínicos.
- c) Revisiones.
- d) Cartas al Editor.
- e) Informes.
- f) Guías o Consensos.

5. Preparación de los manuscritos

5.1. Generalidades:

El archivo deberá ser nombrado solamente con el apellido del primer autor y la leyenda "y col." si correspondiese [Ej.: Pérez y col.]. El texto debe estar dividido en secciones con los títulos de Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los artículos extensos pueden requerir subtítulos dentro de algunas secciones (especialmente en las secciones de Resultados y Discusión) para aclarar sus contenidos. Debe estar escrito en procesador de texto Word, en tamaño de página A4, con márgenes de al menos 25 mm, empleando letra Arial tamaño 12. Usar doble espacio, incluyendo la página del título, resumen, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas, tablas individuales y leyendas. Numerar las páginas consecutivamente empezando con la página del título. Poner el número de la página en la esquina inferior derecha de cada página.

5.2. La primera página debe contener:

- a) El título que debe ser conciso pero informativo.
- b) El apellido y luego, separado por coma, los nombres completos de los autores, lo cual debe ir seguido de punto y coma, y los datos del siguiente autor. A continuación del nombre de cada autor, se debe colocar, a modo de superíndice, el número que haga referencia al lugar de trabajo al que pertenece dicho autor. El autor al cual debe ir dirigida la correspondencia debe ser destacado con un asterisco también a modo de superíndice [Ej.: Ramírez, Juan Carlos1*; Benítez, Laura2; Romero, Mario1.].
- c) Cada lugar de trabajo con el número asignado al autor correspondiente. No se deben emplear abreviaturas. Debe constar primero el nombre del servicio o laboratorio, luego el correspondiente al departamento y por último el de la institución, todo separado por comas y seguido de punto. A continuación, se debe incluir el nombre de la ciudad, la provincia y el país, también separados por comas y con punto final [Ej.: Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.].
- d) Descargos, si hubiere.
- e) Nombre completo del autor responsable de recibir la correspondencia, su lugar de trabajo, la dirección postal, y la dirección de e-mail.
- f) Fuente (s) de financiamiento en la forma de betas, equipos, medicamentos o todos estos.

5.3. La segunda página debe contener:

- a) El resumen en castellano de no más de 250 palabras. Debe estar estructurado de la siguiente manera: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones. Se deben incluir dichos subtítulos de manera explícita. El resumen debe establecer los propósitos del estudio o investigación, procedimientos básicos (selección de los sujetos de estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y analíticos), los hallazgos principales y las conclusiones más relevantes. Debería enfatizarse en los aspectos nuevos e importantes del estudio u observaciones. Se recomienda incluir los valores correspondientes a los hallazgos más relevantes acompañados de la forma de expresión de los mismos [Ej.: Media \pm D.E.] y el tratamiento estadístico, si correspondiese. En el resumen no se deben utilizar abreviaturas.
- b) Palabras clave. Los autores deben colocar, e identificar como tales,

tres a diez palabras clave o frases cortas que servirán para la indicación cruzada del artículo y deben ser publicadas con el artículo.

5.4. La tercera página debe contener:

- a) Título en inglés americano. Debe cumplir los mismos requisitos que el título en castellano.
- b) Resumen en inglés americano (Abstract). Debe cumplir los mismos requisitos que el resumen en castellano e incluir los siguientes subtítulos: *introduction, objectives, materials and methods, results y conclusions*.
- c) Palabras clave en inglés americano (Key words). Deben cumplir los mismos requisitos que las palabras clave en castellano.

5.5. Las páginas subsiguientes, comenzando cada sección en página aparte, deben contener:

- a) Introducción. En la introducción, se debe expresar el contexto o los antecedentes del estudio (por ejemplo, la naturaleza del problema y su importancia) y enunciar el propósito específico u objetivo de la investigación o la hipótesis que se pone a prueba en el estudio u observación. A menudo, la investigación se centra con más claridad cuando se plantea como pregunta. Tanto los objetivos principales como los secundarios deberán estar claros, y deberá describirse cualquier análisis de subgrupos predefinido. Se deben incluir sólo las referencias que sean estrictamente pertinentes y no añadir datos o conclusiones del trabajo que se presenta.
- b) Materiales y Métodos. Debe describir detalladamente los sujetos experimentales, el equipamiento, los reactivos y los procedimientos utilizados, con la inclusión de las marcas registradas cuando corresponda y referencias al utilizar métodos establecidos. Indicar las consideraciones éticas que correspondan si han participado en el estudio seres humanos (Aprobación por comités de ética y obtención de consentimiento informado). Se recomienda dividir la sección Materiales y Métodos mediante el empleo de subtítulos en el caso de ser demasiado extenso. Incluir una sección de "Análisis de datos" en la cual se describan las formas de expresión de los resultados y los métodos estadísticos empleados, si correspondiese. Estos deben ser descriptos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados (como los intervalos de confianza). Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores P, que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos clásicos (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el *software* utilizado.
- c) Resultados. Presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica en el texto, tablas e ilustraciones, y destacando en primer lugar los hallazgos más importantes. No repetir en el texto los datos de las tablas o ilustraciones; resaltar o resumir sólo las observaciones más importantes. Los materiales extra o suplementarios y los detalles técnicos pueden situarse en un anexo donde se puedan consultar para no interrumpir la secuencia del texto. Cuando los datos se resumen en este apartado, los resultados numéricos no sólo deben presentarse los derivados (por ejemplo, porcentajes), sino también los valores absolutos a partir de los cuales se calcularon, y especificar los métodos estadísticos utilizados para analizarlos. Limitar el número de tablas y figuras a las estrictamente necesarias para ilustrar el tema del artículo y para evaluar su grado de apoyo. Usar gráficos como alternativa a las tablas con muchas entradas; no duplicar datos en los gráficos y tablas. Evitar usos no técnicos de términos estadísticos, como "azar" (que implica un dispositivo de aleatorización), "normal," "significativo," "correlaciones" y "muestra". Cuando

sea científicamente adecuado, incluir análisis en función de variables como la edad y el sexo.

d) **Discusión.** Destacar los aspectos más novedosos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se deducen, contextualizándolos en el conjunto de las evidencias más accesibles. No repetir en detalle datos u otro material que aparezca en la Introducción o en el apartado de Resultados. En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los principales resultados; a continuación, explorar los posibles mecanismos o explicaciones de dichos hallazgos, comparar y contrastar los resultados con los de otros estudios relevantes, exponer las limitaciones del estudio, y explorar las implicaciones de los resultados para futuras investigaciones y para la práctica clínica. Relacionar las conclusiones con los objetivos del estudio, evitando hacer afirmaciones rotundas y sacar conclusiones que no estén debidamente respaldadas por los datos. En particular, evitar afirmaciones sobre los costes y beneficios económicos a menos que el manuscrito incluya datos económicos con sus correspondientes análisis. Evitar afirmaciones o alusiones a aspectos de la investigación que no se hayan llevado a término. Cabe la posibilidad de establecer nuevas hipótesis cuando tengan base, pero calificándolas claramente como tales.

e) **Agradecimientos.** Una o más declaraciones deben especificar (a) Las contribuciones que necesitan agradecerse pero que no justifican una autoría, tales como apoyo general por una jefatura de departamento; (b) Agradecimientos al apoyo técnico; (c) Agradecimiento al apoyo financiero y material, que debe especificar la naturaleza del apoyo; (d) Las relaciones que pueden tener un conflicto de intereses. Las personas que han contribuido intelectualmente al artículo, pero cuyas contribuciones no justifican una autoría, pueden ser mencionadas y sus funciones o contribuciones pueden ser descritas -por ejemplo, "asesor científico", "revisión crítica de los propósitos del estudio", "recolección de información" o "participación en el ensayo clínico"; tales personas deben haber dado sus permisos para ser mencionadas. Los autores son responsables de obtener los permisos escritos de las personas a quienes se agradece, porque los lectores pueden inferir su endosamiento de la información y conclusiones. La ayuda técnica debe ser agradecida en un párrafo aparte de los agradecimientos de otras contribuciones.

6. Aspectos que deben tenerse en cuenta en la redacción del manuscrito (Normas Vancouver actualizadas al 2016)

6. 1. Citas bibliográficas:

Es la presentación textual o resumida, de ideas expresadas por otros autores que sirven de apoyo al investigador, se contraponen a lo que él dice o aportan mayor información sobre un tema determinado. Las citas son un tipo de texto incrustado en otro texto.

Las citas en estilo Vancouver por lo general utilizan un sistema de secuencia numérica. Son numeradas consecutivamente en el orden de aparición en el texto. Se identifican con números arábigos entre corchetes, ejemplo [1].

a) Tipo de citas

- Cita directa: La que se transcribe textualmente. Ejemplo: "La cita textual breve, de menos de cinco renglones, se inserta dentro del texto entre comillas, y el número correspondiente se coloca al final, después de las comillas y antes del signo de Puntuación" [3].

- Cita corta: Menos de cinco renglones.

- Cita larga: Más de cinco renglones. Se escribe fuera del texto, dejando doble espacio y sangría, entre comillas y en bastardilla.

- Cita indirecta: Mención de las ideas de un autor con palabras de quien escribe. Se escribe dentro del texto sin comillas, el número de la referencia se escribe inmediatamente después de citar su idea. Ejemplo: La mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5].

b) Tipo de cita según redacción

- Cita integral: Es aquella donde el nombre del autor forma parte de la oración. El nombre se integra dentro del texto. El número de la referencia se escribe después del apellido del autor y antes de citar su idea. Ejemplos:

Como dice Londoño [5] la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín. Cita Indirecta

Según Sanz Pinyol [1] "Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros" Cita directa

- Cita no integral: No se menciona el nombre del autor dentro del texto. Ejemplos:

ε la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5]. Cita Indirecta

"Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros" [1]. Cita directa

6. 2. Referencias bibliográficas:

- Conjunto de datos suficientemente detallados que permite identificar un documento. Deben ser numeradas consecutivamente en el orden en que son mencionadas en el texto. Identificar las referencias en el texto, cuadros y leyendas con números arábigos entre corchetes. Las referencias citadas sólo en los cuadros o en las leyendas de las figuras deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto del cuadro o figura particular.

- Usar el estilo basado en los formatos utilizados por el US National Library of Medicine (NLM) en el Index Medicus. Los títulos de las revistas deben ser abreviados de acuerdo al estilo que utiliza el Index Medicus. Consultar la lista de revistas indizadas en el Index Medicus, publicado anualmente como una separata por la NLM y como una relación en el volumen del mes de enero del Index Medicus.

- Evitar el uso de los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos aceptados pero no publicados deben ser designadas como "en prensa" o "en avance"; los autores deben obtener permiso por escrito para citar tales artículos así como la verificación de que ellos han sido aceptados para publicación. La información de los manuscritos remitidos pero no aceptados debe ser citada en el texto como "observaciones no publicadas" con el consentimiento escrito de los autores.

- No citar una "comunicación personal" a menos que proporcione información esencial no disponible de una fuente pública, en cuyo caso el nombre de la persona y la fecha de la comunicación deben ser citados entre paréntesis en el texto. Para los artículos científicos, los autores deben obtener permiso por escrito y confirmación de exactitud de la fuente de la comunicación personal.

- Las referencias deben ser verificadas por el autor o autores en los documentos originales.

- El estilo de Requisitos Uniformes (de Vancouver) se basa principalmente en el estilo estándar ANSI adaptado por la NLM para su base de datos.

a) Artículos de revistas

- Mencionar los seis primeros autores seguidos por et al (Nota: la NLM ahora menciona hasta 25 autores; si hay más de 25 autores, la NLM menciona los 24 primeros, luego el último autor seguido de et al): Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996;jun 1; 124 [11]: 980-3.

Como una opción, si una revista lleva paginación continua a través de un volumen (como muchas revistas médicas lo hacen), el mes y el número del volumen pueden ser omitidos: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996; 124: 980-3.

- Más de seis autores:

Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. Br J Cancer 1996; 73: 1006-12.

• La organización como autor:

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guide-lines. Med J Aust 1996; 164:2824.

• Sin autor mencionado:

Cancer in South Africa [editorial]. S Afr Med J 1994; 84: 14.

• Artículo no escrito en inglés:

Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral inftapatellar seneruptur hos tidligere frisk kv-vinne. Tdsskr Nor Laegeforen 1996; 116: 412.

• Volumen con suplemento:

Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and occupational lung cancer Environ Health Perspect 1994; 102 Suppl 1: 275-82.

• Número con suplemento:

Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. Semin Oncol 1996; 23 [1 Suppl 2. 89-97].

• Volumen con parte:

Ozben T, Nacirhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. Ann Clin Biochem 1995; 32 (Pt 3): 303-6.

• Número con parte

People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. N Z Med J 1994; 107 (986 PH): 377-8.

• Número sin volumen

Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. Clin Orthop 1995; [320]: 110-4.

• Sin número, ni volumen:

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. Curr Opin Gen Surg 1993; 325-33.

• Compaginación en números romanos:

Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. Hematol Oncol Clin North Am 1995 Apr 9(2): xi xii.

• Tipo de artículo indizado tal como es requerido:

Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. Lancet 1996; 347 1337.

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] Kidney Int 1992; 42: 1285.

• Artículo conteniendo una retractación:

Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: Nat Genet 1994; 6.: 426-31]. Nat Genet 1995; 11: 104.

• Artículo retractado:

Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBP gene expresion during mouse development [retractado en Invest Ophtholmo Vis Sci 1994; 35: 31271. Invest Ophtholmol Vis Sci 1994; 35: 1083-8.

• Artículo con errata publicada:

Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients following inguinal hernia repair [publicado con errata en West J Med 1995; 162. 2781]. West J Med 1995; 162 28-31.

b) Libros y otras monografías

• Autor (o autores) personal:

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; 1996.

• El editor (es), compilador (es) como autor:

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York; Churchill Livingstone; 1996.

• Una organización como autor y editor:

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medical program. Washington (DC): The Institute; 1992].

• Un capítulo en un libro:

Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.

• Libro de congreso:

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

• Ponencia de un congreso:

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degouler P, Piemme TE, Rienhoff O, editors MEDINFO 92 m Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10, Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

c) Informe científico o técnico

• Emitido por la agencia financiante o auspiciadora:

Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Oficce of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report N° HHSIGOE169200860.

• Emitido por la agencia ejecutante:

Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract N° AHCP282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.

d) Disertación

Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ; 1995.

e) Patente

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, assignance. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5.529,067, 1995 Jun Material publicado.

f) Artículo de periódico

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 5000 admissions annually. The Washington Post 1996; jun 21; Sect. A:3 (col5).

g) Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassettel. St Louis (MO): Mosby-Year Book 1995.

c) Material legal

h) Ley Pública

Preventive Health Amendments of 1993, Publ. N° 103-183, 107 Stat, 2226 (Dec. 14, 1993).

i) Dispositivo no decretado

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1st Sess (1995).

j) Código de regulaciones federales

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 (1995).

k) Material inédito

• En prensa o "en avance":

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Eng J Med. En prensa 1997

l) Material electrónico

• Artículo de una revista en formato electrónico:

Morse SS. Factors in the emergence of infections diseases. Emerg Infect Dis [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5], 1(1): [24 screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.

• Monografía en formato electrónico:

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 20. San Diego: CMEA; 1995.

• Archivo computarizado:

Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

7. Tablas

Todas las tablas deben agruparse a continuación de las leyendas de las figuras, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números romanos, contener un título y aclaraciones al pie de la tabla, si fuese necesario. Al pie de cada tabla debe figurar la aclaración de las abreviaturas empleadas, así como toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. Las tablas deben ser comprensibles por sí mismas. Para la elaboración de las tablas, se recomienda utilizar el procesador de texto Word y seleccionar el Estilo de Tabla "Tabla básica 1".

8. Figuras

Todas las figuras deben agruparse a continuación de las tablas, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números arábigos. Las fotografías y las figuras podrán tener colores, aunque en el caso de las figuras el fondo debe ser blanco. El título de las figuras no debe incluirse junto a las mismas sino en la sección "Leyendas de Figuras". En dicha leyenda debe incluirse el título de la figura, la aclaración de las abreviaturas empleadas y toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. En caso de figuras, fotografías o tablas tomadas de otra publicación, se debe citar la fuente y además enviar el permiso escrito otorgado por el propietario intelectual de dicho material para que el mismo sea publicado en ByPC.

9. Revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos

Las revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos serán usualmente solicitados por el Comité Editorial de la Revista a autores considerados expertos en el campo, la disciplina o la especialidad en cuestión. Sin embargo, serán consideradas para su publicación las que fueran enviadas espontáneamente. Deberán seguir los lineamientos expuestos para la publicación de artículos originales, con la diferencia de que su texto no necesitará contar con resultados y discusión. En el caso particular de las revisiones, deben contener un mínimo de 20 referencias bibliográficas completas y actualizadas a los fines del tema tratado.

10. Ortografía y formas de expresión

- Se debe evitar la utilización de palabras en otros idiomas y, cuando ello sea indispensable, deberán ser colocadas en itálica [Ej.: *in vitro*].
- El estadístico "p" debe ser escrito en minúscula.
- En la expresión de los resultados, se debe dejar espacio entre la cifras y los símbolos o las unidades [Ej.: $p < 0,05$; $32 \pm 2 \text{ g/l}$].
- Unidades: se deben emplear las unidades utilizadas más frecuentemente en nuestro medio para cada analito [Ej.: glucosa, urea, ácido úrico, lípidos, lipoproteínas, apoproteínas en mg/dl].
- Las abreviaturas deben ser aclaradas la primera vez que aparecen en el texto ubicándolas entre paréntesis, a pesar de que se trate de abreviaturas ampliamente conocidas [Ej. hemoglobina (Hb.)]. A su vez, siempre deben ir seguidas de un punto.
- En la expresión de los resultados, tanto la media como la mediana deben contener la misma cantidad de decimales que sus respectivos desvíos estándar, errores, percentilos o rangos [Ej. $9,25 \pm 0,78$].
- En la expresión de los resultados, la separación entre el entero y los decimales se debe hacer mediante comas y no con puntos lo cual es propio del idioma inglés [3,25], excepto para el resumen en inglés (*Abstract*), en el cual se deben emplear puntos [3.25].
- En el texto, cuando un número aparece al principio de la oración, deberá ser escrito en letras [Ej. Veinte pacientes...].

La Bioquímica, expansión sin límites

Este será el lema del 73° Congreso Argentino de Bioquímica, organizado por la Asociación Bioquímica Argentina para el mes de agosto de 2019.

En los últimos años, la bioquímica ha contribuido con muchos descubrimientos revolucionarios, inventos y métodos innovadores que han ensanchado los límites del conocimiento con gran repercusión para la salud y el bienestar.

Hoy, sus avances son usados en cientos de áreas, desde la genética hasta la biología molecular, de la agricultura a la medicina. La comprensión de los mecanismos implicados en el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, las enfermedades raras y la búsqueda de nuevas vías para desarrollar fármacos han cambiado la mirada de la ciencia. Hay que dedicar, además, una especial atención a los procesos relacionados con el envejecimiento y profundizar la investigación para encontrar los caminos del presente y el futuro.

Por otra parte, la tecnología ha influido en la bioquímica. La industria ha logrado optimizar los instrumentos, permitiendo aplicar métodos de análisis de alta sensibilidad y exactitud como los que suministran información en tiempo real y un mayor desarrollo científico.

Los avances tecnológicos en la automatización de instrumentos han sido notables. Los sistemas miniaturizados, o sea la reducción de los componentes electrónicos al mínimo para ahorrar espacio en los equipos electrónicos, permitieron la utilización de tecnologías más avanzadas.

Las técnicas de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la electroforesis capilar, la PCR en tiempo real, el ensayo de inmunoenzima con nano-sensores, y las técnicas inmunométricas para haptenos que tienen bajo peso molecular también nos hablan del progreso y el cambio.

En la última década hemos asistido a un rápido avance en proteómica, por el uso de los "microarrays" o "arrays" de proteínas; mikro (del griego, pequeño) y array (del inglés, distribución ordenada). Estos son una colección de biomoléculas ordenadas en filas y columnas sobre un soporte sólido miniaturizado. Es una de las tecnologías más prometedoras para el estudio a gran escala de proteomas complejos.

La secuenciación del genoma ha significado un avance muy importante en el terreno del conocimiento. Aunque todavía no se han logrado predecir, diagnosticar y tratar muchas enfermedades, la medicina se ha transformado como nunca gracias a este hallazgo.

Por otro lado, los anticuerpos monoclonales son una poderosa herramienta para el diagnóstico de laboratorio y un instrumento cada vez más utilizado en el tratamiento de diversas enfermedades. La tecnología actual de fabricación de estos anticuerpos permite nuevos diseños que pueden ampliar sus posibles aplicaciones en medicina. Desde su invención han dejado de ser una curiosidad biológica para ser una forma de tratamiento y diagnóstico muy importante en diversas enfermedades. Siempre es un orgullo recordar que por el aporte que hizo a

la ciencia en el estudio de los anticuerpos monoclonales, el Dr. Cesar Milstein recibió el premio Nobel de Medicina en 1984.

También los roles del bioquímico en la gestión han ido cambiando. Así el bioquímico puede intervenir con fuerza, interactuando con los equipos de salud en el marco de un nuevo paradigma en el ejercicio profesional, que es el modelo de la "gestión clínica". Según la definición del John Hopkins Hospital (USA), la gestión clínica es un rediseño organizativo cuyo objetivo es involucrar al profesional sanitario en la toma de decisiones en la práctica clínica, orientada a obtener el máximo beneficio para el paciente, abandonando el viejo modelo bioquímico centrado en la técnica analítica, para dar lugar a uno nuevo, centrado en la atención del paciente.

Un gran cambio ha tenido el laboratorio de urgencias con la llegada de los sistemas multiparamétricos que permiten la determinación simultánea de gases en sangre, oximetría, electrolitos, metabolitos como la glucosa, el lactato, la urea y creatinina, ofreciendo un perfil del medio interno con 50 µl de sangre, en menos de un minuto.

Otro de los grandes cambios es el concepto de "Gestión de Calidad", por medio del cual se coordinan adecuadamente todos los recursos del laboratorio. La apuesta por la calidad implica una organización estructurada, con una secuencia cíclica de decisiones y acciones basadas en una Política de Calidad. También los laboratorios han logrado, o están encaminados a la certificación o a la acreditación por organismos internacionales o nacionales.

Las soluciones informáticas para Laboratorio a través de los softwares LIS (*Laboratory Information Systems*) surgieron en la década de los 70, pero se siguen perfeccionando dinámicamente acompañando la evolución de la organización de los laboratorios para cubrir las nuevas necesidades.

Los colegas bioquímicos tienen una "adicción" a la formación, habiéndose multiplicado en la última década con la llegada de la educación a distancia, la que amplía las posibilidades de participación, generando oportunidades en un universo más amplio para los muchos profesionales que no podían capacitarse, ya sea porque residen en lugares distantes de los grandes centros urbanos, porque no disponen de tiempo para estudiar durante su jornada normal o porque no pueden afrontar el costo o el tiempo de traslado a los centros de educación. Para todos ellos, la educación a distancia es una solución que asegura la equidad en las oportunidades de capacitación.

Por último, no quiero dejar de mencionar un logro importante para nuestra querida profesión, ocurrido cuando el Ministerio de Salud de la Nación aprueba las Especialidades de la Bioquímica Clínica por sus Resoluciones: 1186/2013 y 1341/2013.

Hoy hablamos de una profesión consolidada y sumamente dinámica. Es un arma cargada de futuro, por eso podemos decir "Bioquímica, expansión sin límites".

Dra. Silvia B. González
Presidente Asociación Bioquímica Argentina (ABA)

ARTÍCULO ORIGINAL

Nueva prueba diagnóstica para autoanticuerpos en Miastenia Gravis basado en un sistema de micropartículas fluorescentes libre de células

Paz, Mariela Laura^{1,2}; Manuelli, Paula Natalia¹; González Maglio, Daniel Horacio^{1,2}; Aguirre, Florencia³; Villa, Andrés³; Leoni, Juliana²; Barrantes, Francisco José.⁴

¹Laboratorio de Inmunología Básica, Aplicada y Patológica, Departamento de Microbiología, Inmunología y Biotecnología, Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

²CONICET-Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

³Sección de Neuroinmunología y Electrofisiología, División Neurología, Hospital Ramos Mejía, CABA, Argentina.

⁴Laboratorio de Neurobiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas, UCA-CONICET, CABA, Argentina.

Dirección de correspondencia: marielaurapaz@gmail.com

Resumen

Introducción: Se ha desarrollado una novedosa prueba diagnóstica para la detección de autoanticuerpos en pacientes con miastenia gravis. Este nuevo método, libre de células, es relativamente simple y consume menos tiempo y materiales que el radioinmunoensayo estándar, método de referencia utilizado actualmente en la clínica. **Materiales y métodos:** La prueba consiste en el uso de micropartículas de poliestireno recubiertas con el receptor de acetilcolina (se probaron dos fuentes de receptor de diferente origen), marcación específica del receptor con ligandos fluorescentes de alta afinidad (α -bungarotoxina-AlexaFluor o anticuerpos anti-receptor policlonales provenientes de los sueros de pacientes diagnosticados con la enfermedad, seguidos de anticuerpos secundarios conjugados con fluorocromos), y detección por citometría de flujo. **Resultados:** Los valores de intensidad de fluorescencia media para los sueros positivos por la técnica de referencia *versus* un pool de sueros humanos normales: mostraron una diferencia estadísticamente significativa para los dos tipos de micropartículas sensibilizadas utilizadas. **Conclusión:** Las dos estrategias diferentes evaluadas fueron exitosas para la detección de autoanticuerpos en el suero de pacientes con miastenia gravis. Adicionalmente esta prueba tiene el potencial para distinguir entre las distintas formas de los anticuerpos anti-receptor de acetilcolina, y los resultados podrían correlacionarse con la severidad de la miastenia gravis, pudiendo resultar un elemento predictivo de gran utilidad en el seguimiento de la evolución clínica de la enfermedad.

Palabras clave: receptor de acetilcolina, anticuerpos anti-receptor de acetilcolina, citometría de flujo, micropartículas, miastenia gravis.

Abstract

Introduction: A new diagnostic test for the detection of autoantibodies for myasthenia gravis was developed. The new cell-free test is relatively simple and less time- and material-consuming than the standard radioimmunoassay-based methodologies in current clinical practice. **Materials and methods:** The test involves the use of polystyrene microbeads coated with the nicotinic acetylcholine receptor protein (two different sources of the receptor were tested), specific labeling of the protein with high-affinity fluorescent ligands (AlexaFluor- α -bungarotoxin or polyclonal anti-receptor antibodies from sera of already diagnosed patients, followed by secondary fluorescent-labeled antibodies), and detection by fluorescence flow cytometry. **Results:** mean fluorescence intensity for positive sera *versus* a pool of human normal sera: showed statistically significant differences for the two receptor's source types used. **Conclusion:** The two different approaches tested were successful for the detection of autoantibodies in sera from patients with myasthenia gravis. The new test has the potentiality to distinguish between different autoantibody isoforms and subtypes, and the results may be correlated with the severity of myasthenia. The test may be eventually applied to predict the clinical evolution of this pathology.

Key words: acetylcholine receptor, anti-acetylcholine receptor autoantibodies, flow cytometry, microbeads, myasthenia gravis.

Introducción

La miastenia gravis (MG) es una enfermedad autoinmune mediada por autoanticuerpos patogénicos (ACRA) dirigidos contra el receptor acetilcolina nicotínico (nAChR), la cual se manifiesta clínicamente con debilidad muscular [1,2]. La técnica actual de referencia para detectar ACRA es el radioinmunoensayo (RIA), un método costoso y nocivo para el medioambiente. Se han realizado intentos para sustituir al RIA con ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), pero, hasta el momento, no se ha podido alcanzar la alta sensibilidad que posee el RIA [3,4].

El objetivo principal de este trabajo fue desarrollar un método alternativo, simple y ecológicamente amigable, para la medición de ACRA. La metodología se basa en la inmovilización del nAChR en partículas de poliestireno, su interacción con sondas fluorescentes y su detección por citometría de flujo.

El nAChR es un canal iónico pentamérico regulado por ligando con dos isoformas: la neuronal y la muscular. La última está conformada por tres cadenas diferentes (β , δ , γ o ϵ) y dos cadenas α idénticas, las cuales poseen el sitio de unión a los ligandos [5]. El ligando natural del receptor es la acetilcolina, pero las subunidades alfa pueden también unir antagonistas, como la neurotoxina altamente específica derivada de un veneno de víbora, denominada α -bungarotoxina (BTX) [6,7]. Los pacientes con MG poseen autoanticuerpos anti-receptor de acetilcolina (ACRA) que son los marcadores serológicos de la enfermedad [1]. Existen tres tipos de ACRA: de unión, bloqueantes y moduladores. Los primeros pueden unirse a cualquier sitio del receptor, los segundos se unen al sitio de unión a ligandos en la interface de la subunidad α con una subunidad no- α , y el tercer tipo no sólo es capaz de unirse al nAChR, sino que además desencadena su internalización y reciclado [8].

El objetivo a largo plazo de este desarrollo es poder detectar de manera simultánea y en un mismo ensayo los ACRA de unión y bloqueantes, utilizando sondas fluorescentes con diferente longitud de onda de emisión para distinguirlos.

Materiales y Métodos

Pacientes

Las muestras de suero de pacientes y de voluntarios sanos se obtuvieron del Servicio de Neuroinmunología del Hospital Ramos Mejía, Consultorio de Miastenia Gravis, Buenos Aires, Argentina. Todos los estudios se llevaron a cabo bajo un protocolo aprobado por el Comité de Ética de dicho Hospital y todas las muestras se obtuvieron con un consentimiento informado firmado por los individuos involucrados. El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los estándares éticos declarados en el Código de Ética de la Declaración de Helsinki de 1964.

Sensibilización de micropartículas

El primer paso del procedimiento de esta nueva técnica analítica consistió en recubrir (sensibilizar) la superficie de micropartículas de poliestireno de 4 μm (Spherotech, Inc) con el nAChR ($70 \mu\text{g} / 100 \text{cm}^2$ de micropartículas). Dos

fuentes diferentes de receptor fueron evaluadas: nAChR del órgano eléctrico de *Torpedo californica* (Tc, Aquatic Research Consultants) purificado por cromatografía de afinidad [9,10]; y nAChR de un extracto de músculo bovino (Bm) purificado por cromatografía de intercambio iónico [11,12].

Para la preparación de las micropartículas sensibilizadas se mezclaron 1,4 μl de micropartículas de poliestireno (1 cm^2 o 2×10^6 partículas) con 2,3 μl de nAChR de Tc (0,6 μg) o 1 μl de Bm (0,7 μg), en un volumen final de 20 μl en buffer isotónico salino (IBS) (2,3 mM NaH_2PO_4 ; 14,2 mM Na_2HPO_4 ; 140 mM NaCl; 3,8 mM KCl), y se incubaron durante 16 hs a 4 °C en un agitador orbital. La mezcla luego fue centrifugada a 5.000 x g por 10 min y el sobrenadante fue descartado. El pellet fue resuspendido en 20 μl de IBS-BSA (0,5 % p/v seroalbúmina bovina en IBS) y la suspensión incubada por 1 h a temperatura ambiente en un agitador orbital, con el objetivo de bloquear todos los sitios libres no sensibilizados con el receptor. La preparación fue centrifugada a 5.000 x g por 10 min nuevamente, el sobrenadante fue descartado y el pellet resuspendido en 20 μl de IBS (resultando en una suspensión de 1×10^5 micropartículas-nAChR por μl). La suspensión se almacenó a 4 °C hasta su uso.

Microscopía de Fluorescencia

Cubreobjetos de vidrio de 15 mm No. 1,5 fueron limpiados intensamente y secados [13]. Luego los mismos fueron recubiertos con una solución de polilisina (0,1 mg/mL) por 5 min a temperatura ambiente y el exceso de solución se dejó escurrir y secar totalmente.

Las micropartículas (1×10^4) sensibilizadas con nAChR de Tc o músculo bovino respectivamente, fueron colocadas sobre los cubreobjetos recubiertos con polilisina, permitiendo su inmovilización durante 16 hs a 4 °C. Todas las incubaciones fueron realizadas en cámara húmeda. Los cubreobjetos fueron luego lavados e incubados con los siguientes ligandos fluorescentes por 1h a temperatura ambiente: i) α -BTX-AlexaFluor⁴⁸⁸ (1 μM , Invitrogen), ii) α -BTX-AlexaFluor⁵⁵⁵ (1 μM , Invitrogen) y iii) un suero ACRA positivo de un paciente diagnosticado con MG, como anticuerpo primario (suero A, 1:100, valor ACRA por RIA 3,71 nmoles/l). En el último caso fueron realizados dos lavados con buffer fosfato salino (PBS) antes del agregado del anticuerpo secundario anti-IgG humanas-FITC (1:200, Bethyl), con 1 h de incubación a temperatura ambiente en oscuridad. Luego de dos lavados más con PBS. Los cubreobjetos se montaron en cámaras de perfusión especialmente diseñadas, se agregó PBS y finalmente la fluorescencia fue observada en un microscopio de epifluorescencia hecho a medida. Este microscopio fue construido por uno de los grupos de trabajo (F.J. Barrantes), y funciona actualmente en el laboratorio de Neurobiología Molecular a su cargo. Dicho microscopio, el primero de su tipo en el país, opera en epifluorescencia de campo ancho, microscopía estocástica de molécula única (STORM) y de fotoactivación (PALM) en super-resolución. Las imágenes fueron adquiridas utilizando un objetivo de inmersión 100

X de 1,49 N.A. [Nikon] bajo una iluminación con diodos de emisión de luz (LED) [Tolket, Argentina], utilizando el paquete de software de imágenes SlideBook [Intelligent Imaging Innovations].

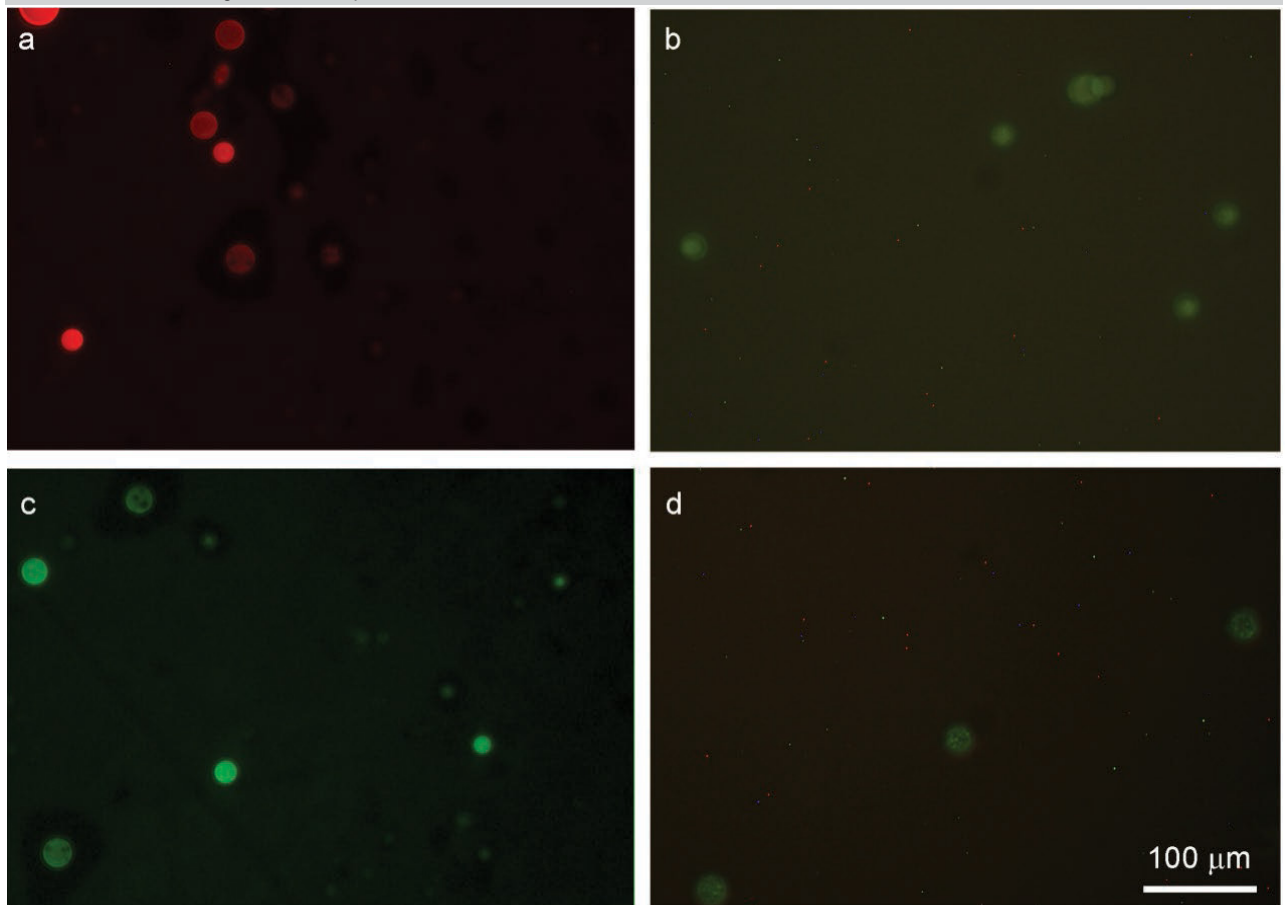
Citometría de Flujo

En otra serie de experimentos, las micropartículas sensibilizadas con nAChR de Tc o músculo bovino respectivamente, fueron marcadas en solución y sometidas a una citometría de flujo utilizando un citómetro PAS III PARTEC. Brevemente, cada tubo conteniendo 1×10^5 micropartículas sensibilizadas fue incubado con α -BTX-AlexaFluor⁴⁸⁸ [1 μ M] o diferentes sueros humanos normales (SHN, 1:50) o diferentes sueros ACRA + [1:50] y anticuerpos secundarios-FITC [1:100]. Debe mencionarse que los sueros ACRA + evaluados de pacientes con MG (n = 5, A a E) fueron previamente valorados por RIA, y clasificados como ACRA + (> 0,5 nmol/l). Lo mismo se realizó para las muestras de SHN (n = 5), que resultaron ser todas negativas por RIA (< 0,1 nmol/l) y luego, también, por citometría de flujo. Posteriormente, se juntaron alícuotas de cada uno de ellos para conformar un *pool* negativo, para su uso futuro y se le midió nuevamente su valor de ACRA por RIA, resultando también negativo (< 0,1 nmol/L).

Para el ensayo de citometría de flujo, 1 μ l de las micropar-

tículas de poliestireno sensibilizadas se mezclaron con el volumen apropiado de cada sonda fluorescente primaria y se incubaron durante 16 hs a 4 ° C en un agitador orbital en un volumen final de 50 μ l. Después, las suspensiones fueron lavadas dos veces con PBS utilizando un equipo que consta de placas de 96 pocillos y su correspondiente sistema de vacío [MultiScreenHTS, Millipore]. Cada suspensión - muestra se coloca en un pocillo, donde cada pocillo posee un filtro de PVDF de 0,45 μ m, a continuación se aplica vacío, eliminándose de este modo la porción líquida de la suspensión y quedando retenidas las micropartículas. De este modo pueden realizarse varios lavados de manera muy sencilla y rápida, evitando los pasos de centrifugación con su consecuente pérdida de material. Las micropartículas fueron resuspendidas adicionando 20 μ l de PBS a cada pocillo y luego incubadas con los anticuerpos secundarios por 1 h a temperatura ambiente en un agitador orbital [100 rpm], en el caso que correspondiese. Las micropartículas fueron lavadas tres veces con PBS, resuspendidas en 100 μ l de PBS y sometidas a la citometría de flujo. Alrededor de 20.000 eventos se registraron para cada condición. La Intensidad de Fluorescencia Media (IFM) fue calculada para cada muestra [incluyendo el control de autofluorescencia, conteniendo sólo micropartículas sensibilizadas sin marcar].

Figura 1. Imágenes de microscopía de fluorescencia mostrando las micropartículas sensibilizadas con nAChR-Tc, incubadas con a) α -BTX-AlexaFluor⁵⁵⁵ y c) suero del paciente A con MG, ACRA+. Las micropartículas sensibilizadas con nAChR-Bm, incubadas con b) α -BTX-AlexaFluor⁴⁸⁸ y d) suero del paciente A con MG, ACRA+.



Análisis Estadístico

Los datos de citometría de flujo fueron analizados con el software FlowJo. El análisis estadístico se llevó a cabo con el software GraphPad-Instat, y los gráficos de barras con GraphPad-Prism. Para comparar grupos se aplicó un ANOVA unidireccional con post-test de Tukey. Los resultados se encuentran expresados como la media \pm desvío estándar de tres ensayos independientes.

Resultados

Las imágenes de microscopía de fluorescencia muestran que las micropartículas se sensibilizaron eficazmente con los dos tipos de nAChR, ya que ambos tipos de receptores pudieron ser reconocidos por la α -BTX marcada con fluorocromo, así como también por los ACRA presentes en el suero del paciente A con MG (Figura 1).

Cuando los SHN fueron evaluados por citometría de flujo ($n = 5$) con los dos tipos de partículas sensibilizadas, su IFM resultó muy similar entre ellos, y con señales inferiores a las muestras positivas (Figura 2).

El *pool* conformado por los cinco SHN se usó luego como control negativo, siendo su valor de ACRA por la técnica de referencia también negativo [$< 0,1$ nmol/l]. El control de unión inespecífica del anticuerpo secundario anti-IgG humanas conjugado con FITC a las partículas sensibilizadas, arrojó un valor de IFM similar al del control de autofluorescencia (datos no mostrados).

Los análisis de las citometrías de flujo muestran resultados positivos para los dos tipos de micropartículas sensibilizadas. Para Tc, IFM: autofluorescencia vs BTX ($p < 0,05$), SHN vs sueros C, D, E ($p < 0,001$) A, B ($p < 0,05$). Para Bm, IFM: AF vs BTX ($p < 0,01$), SHN vs sueros A, C, D ($p < 0,001$) E ($p < 0,01$) B ($p < 0,05$) (Figura 3).

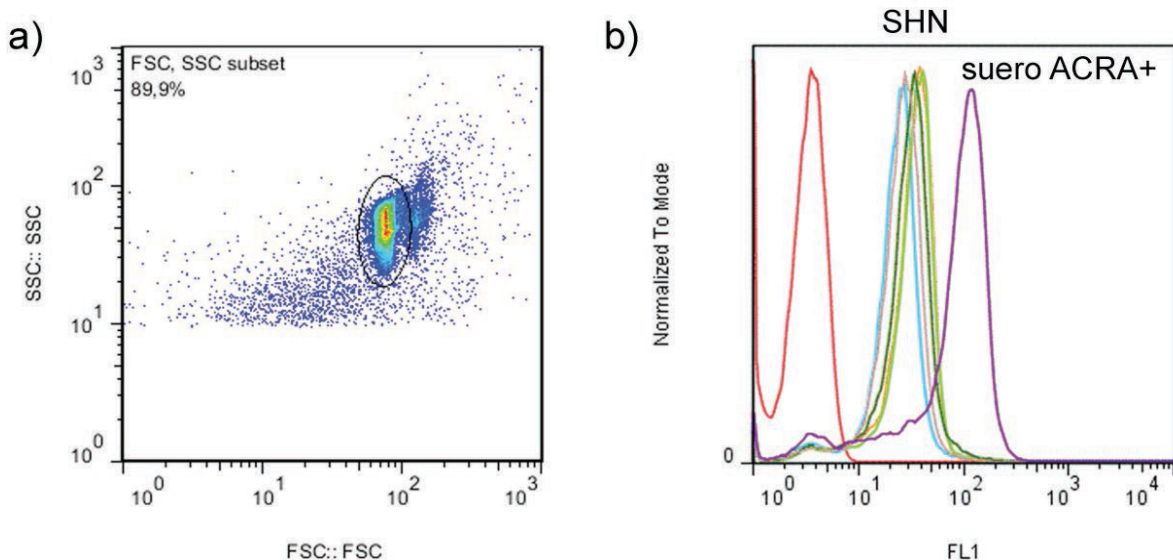
Discusión

Las imágenes obtenidas por microscopía de fluorescencia con las micropartículas sensibilizadas y marcadas con las diferentes sondas confirman que ambos tipos de receptor, provenientes de distintas fuentes biológicas (órgano eléctrico y músculo esquelético), se han adherido a la superficie de las micropartículas de poliestireno. La microscopía se realizó de manera cualitativa para estimar el estado de sensibilización de las micropartículas, ya que la cuantificación puede realizarse de manera exitosa y automática en el citómetro de flujo. Los resultados fueron positivos, corroborados por el hecho de que las micropartículas sensibilizadas con Tc y Bm pudieron ser reconocidas no sólo por un suero ACRA+, sino también por diferentes α -BTXs marcadas con distintos fluorocromos.

El análisis cuantitativo realizado por citometría de flujo muestra que los sueros de diferentes pacientes con MG ACRA+ fueron capaces de reconocer las micropartículas sensibilizadas con nAChR, proveniente tanto de órgano eléctrico como de músculo esquelético. Cuando las micropartículas sensibilizadas fueron incubadas con sueros humanos normales, también pudo detectarse una fluorescencia mayor al valor del control de autofluorescencia, pero menor a las señales positivas. Esta observación es muy común cuando se trabaja con sueros humanos, debido a las interacciones inespecíficas que suelen ocurrir. Estos sueros utilizados como controles negativos fueron también negativos por la técnica de referencia [$< 0,1$ nmol/l].

Los sueros utilizados como muestras positivas fueron confirmados también por RIA, observándose valores positivos de entre 1,1 y 82 nmol/l [$> 0,50$ nmol/l se considera positivo].

Figura 2. Citometría de flujo de micropartículas sensibilizadas con nAChR-Bm. a) Gráfico de puntos que muestra la selección de la población de micropartículas individuales sobre las que se mide posteriormente la IFM. b) Histograma que muestra la detección de fluorescencia en el canal FL1 para FITC. Las micropartículas se incubaron con diferentes sueros humanos normales ($n = 5$, SHN) y un suero del paciente C con MG, ACRA+, seguido de un anticuerpo secundario anti-IgG humana marcado con FITC.



Cuando se analizó la correlación entre la IFM, obtenida con los dos tipos de micropartículas sensibilizadas y los valores de ACRA por RIA, no se pudo establecer una correlación estadísticamente significativa. Como estos ensayos son los primeros realizados para la evaluación de esta nueva metodología, se asume que deben ensayarse más sueros para validar el método, y para verificar si hay una real correlación entre las dos técnicas.

El objetivo final del trabajo es detectar de manera simultánea los dos tipos de ACRA (de unión y bloqueantes) y, luego, transferir la técnica a los centros de salud. Esto podría ser beneficioso especialmente en un país como la Argentina, donde actualmente en la clínica no se discrimina el tipo de ACRA que se mide y los médicos sólo son informados sobre el estado ACRA positivo o negativo de los pacientes.

Metodologías alternativas evaluadas previamente para detectar ACRA por citometría de flujo consistieron en el uso de células viables [14,15]. El uso de células viables en una técnica para el uso diario en la clínica tiene muchas limitaciones, incluyendo las dificultades en la estandarización. Esto se debe a variaciones entre lotes de células por causa de diferentes condiciones de cultivo; la necesidad de un cultivo viable inmediatamente previo al procedimiento diagnóstico, el cual puede demorar hasta una semana si el trabajo comienza con un vial congelado de un banco de células; y finalmente la impracticabilidad de controles de calidad inter-laboratorios para validar los resultados. Todas estas desventajas pueden obviarse utilizando métodos alternativos que no dependan del uso de células viables, como el que se propone en el presente trabajo.

Esta nueva prueba diagnóstica libre de células ha sido exitosa en la detección de autoanticuerpos en sueros de diferentes pacientes con MG, los cuales fueron positivos

por la técnica de referencia. Los dos tipos de preparaciones del receptor, provenientes de diferentes fuentes biológicas utilizadas para sensibilizar las micropartículas, fueron igualmente reconocidas por las sondas fluorescentes que se usaron, incluyendo los autoanticuerpos.

Este método está todavía en proceso de desarrollo y es necesario ensayar más sueros para corroborar totalmente su validez y reproducibilidad, calcular los parámetros de especificidad y sensibilidad, y establecer una correlación con la técnica de referencia.

La aplicación de la metodología alternativa aquí descrita podría facilitar la correlación entre los títulos ACRA y los subtipos ACRA con la gravedad de la enfermedad. Esto, a su vez, podría utilizarse para predecir la evolución clínica de la patología y, eventualmente, junto con otros biomarcadores que reflejen el comportamiento clínico de la MG, resultar en un manejo terapéutico más apropiado de esta enfermedad.

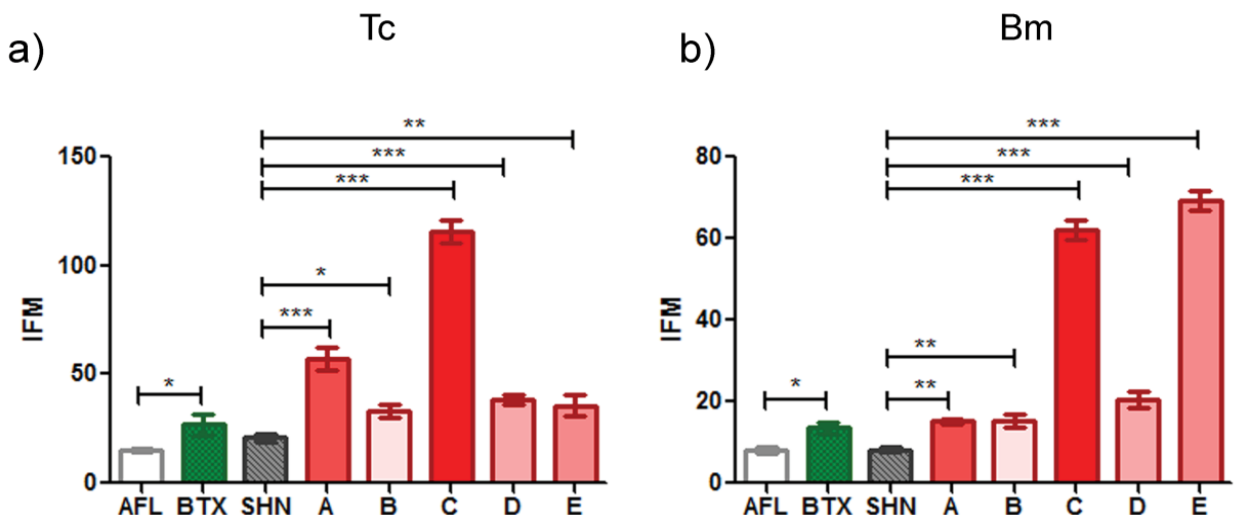
Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por un subsidio de la Universidad de Buenos Aires (UBACyT20020150200007BA subsidio 2016-2018) a M.L.P. y los subsidios PIP 11220150100858 del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Argentina (CONICET) y PICT 2011-0604 del MinCyT a F.J.B.

Referencias bibliográficas

1. Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA, Whittingham S, Duane DD. Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis: Prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. *Neurology* 1976;26(11):1054–1054.
2. Berrih-Aknin S, Frenkian-Cuvelier M, Eymard B. Diagnostic and clinical classification of autoimmune myasthenia gra-

Figura 3. Citometría de flujo de micropartículas sensibilizadas con nAChR purificado de a) Torpedo californica (Tc) y b) músculo bovino (Bm). El gráfico de barras muestra la IFM y el análisis estadístico: ANOVA unidireccional con post-test de Tukey, * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001. Las micropartículas se incubaron con: PBS (control de autofluorescencia -AFL), α -BTX-AlexaFluor⁴⁸⁸ (BTX), pool de suero humano normal (SHN), diferentes sueros de pacientes con MG, ACRA+ (A a E).



- vis. *Journal of Autoimmunity* 2014;48–49:143–8.
3. Franciotta D, Martino G, Brambilla E, Zardini E, Locatelli V, Bergami A, Tinelli C, Desina G, Cosi V. TE671 cell-based ELISA for anti-acetylcholine receptor antibody determination in myasthenia gravis. *Clin Chem.* 1999;45(3):400-5.
 4. Dwyer DS, Bradley RJ, Urquhart CK, Kearney JF. An enzyme-linked immunoabsorbent assay for measuring antibodies against muscle acetylcholine receptor. *Journal of immunological methods* 1983;57(1–3):111–9.
 5. Barrantes FJ. Recent developments in the structure and function of the acetylcholine receptor. *International review of neurobiology* 1983;24:259–341.
 6. Changeux JP, Kasai M, Lee CY. Use of a snake venom toxin to characterize the cholinergic receptor protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1970;67(3):1241–7.
 7. Vincent A, Jacobson L, Curran L. Alfa-Bungarotoxin binding to human muscle acetylcholine receptor: Measurement of affinity, delineation of AChR subunit residues crucial to binding, and protection of AChR function by synthetic peptides. *Neurochemistry International* 1998;32(5–6):427–33.
 8. Howard F, Lennon V, Finley J, Matsumoto J, Elveback L. Clinical correlations of antibodies that bind, block, or modulate human acetylcholine receptors in myasthenia gravis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1987;505:526–38.
 9. Bermúdez V, Antollini SS, Fernández Nieves G a, Aveldaño MI, Barrantes FJ. Partition profile of the nicotinic acetylcholine receptor in lipid domains upon reconstitution. *Journal of lipid research* 2010;51(9):2629–41.
 10. Nieves GAF, Barrantes FJ, Antollini SS. Modulation of Nicotinic Acetylcholine Receptor Conformational State by Free Fatty Acids and Steroids. *Journal of Biological Chemistry* 2008;283(31):21478–86.
 11. Ferrero B, Aimo G, Pagni R, Bergamasco B, Bongioanni MR, Bergamini L, Durelli L. Modified and improved anti-acetylcholine receptor (AChR) antibody assay: comparison of analytical and clinical performance with conventional anti-AChR antibody assay. *Clin Chem.* 1997;43(5):824-31.
 12. Wu JT, Miya TG, Knight JA, Bringhurst C. Acetylcholine receptors from normal human muscle: concentration, purification, and use in radioreceptor assays for autoantibodies. *Journal of clinical laboratory analysis* 1991;5(2):79–85.
 13. Barrantes FJ. Single-Molecule Localization Super-Resolution Microscopy of Synaptic Proteins. In: Shukla A, editor. *Membrane Proteins: Chemical and Synthetic Approaches*, Springer Protocols Handbooks. Springer Science+Business Media; 2016. p. 1–42.
 14. Lozier BK, Haven TR, Astill ME, Hill HR. Detection of Acetylcholine Receptor Modulating Antibodies by Flow Cytometry. *American Journal of Clinical Pathology* 2015;143(2):186–92.
 15. Cromar A, Lozier BK, Haven TR, Hill HR. Detection of Acetylcholine Receptor Blocking Antibodies by Flow Cytometry. *American journal of clinical pathology* 2016;145(1):81–5.

ARTÍCULO ORIGINAL

Factores de riesgo cardiometabólico en embarazadas, niños y adolescentes

Ponce, Graciela Mabel; García, Jorge Alberto; Quezada, Andrés Orlando; Rodríguez, María Alejandra.

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

Dirección de correspondencia: graciela.mabel.ponce@gmail.com

Resumen

Los cambios en el estilo de vida han incrementado la prevalencia de obesidad mundial asociada al aumento de la morbimortalidad, generando costos irracionales. El objetivo de este estudio fue evaluar los factores de riesgo para Síndrome Metabólico en una población patagónica argentina. Se estudiaron tres grupos de la ciudad de Comodoro Rivadavia. G1: 67 embarazadas (semana 16 de gesta); G2: 317 niños (6 a 11 años) y G3: 496 adolescentes (12 a 16 años). Se evaluó peso, talla, índice de masa corporal y circunferencia de cintura y en las embarazadas, altura uterina (semana 20). Se midió la tensión arterial sistólica y diastólica y se determinó glucemia, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos (espectrofotometría). Se consignaron datos sobre estilo de vida (encuesta validada). G1 presentó 28,1 % de sobrepeso y 10,6 % de obesidad (índice de masa corporal vs edad gestacional) y correlación estadísticamente significativa entre el índice de masa corporal y la tensión arterial sistólica y diastólica ($r = 0,36$; $r = 0,44$, respectivamente, $p < 0,01$). G2: 53,2 % de varones y 50,5 % de niñas eran sobrepeso / obesos y los factores de riesgo más prevalentes fueron la hipertrigliceridemia, hipertensión arterial y disminución de C-HDL. G3: 40 % presentó sobrepeso u obesidad y mayores niveles de tensión arterial sistólica y diastólica, glucemia y trigliceridemia y menor concentración de C-HDL ($p < 0,01$). El consumo de alimentos densamente calóricos y escasa actividad física fueron característicos en esta población. Resulta urgente implementar políticas basadas en programas de prevención de la obesidad y factores de riesgo asociados.

Palabras clave: Factores de riesgo, población infantojuvenil, embarazo, síndrome metabólico, Patagonia.

Abstract

Lifestyle changes have increased the prevalence of obesity all over the world. Obesity, which is in turn associated with chronic diseases, is one of the main problems of public health, causing high costs in the sanitary systems. **Objective:** To determine risk factors for metabolic syndrome in a population from Argentine Patagonia. **Materials and methods:** We studied three groups from Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina: Group 1: 67 pregnant women (16 weeks of gestation); Group 2: 317 children (6 to 11 years old); and Group 3: 496 adolescents (12 to 16 years old). Weight, height, body mass index and waist circumference were evaluated. In pregnant women, uterine height was also measured (20 weeks of gestation). Blood pressure was evaluated and a fasting blood sample was taken. Glycemia, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides were measured (spectrophotometry). Lifestyle data were evaluated (validated survey). **Results:** Group 1: 28.1 % were overweight while 10.6 % were obese (body mass index by gestational week) and there was a statistical correlation between body mass index and systolic and diastolic blood pressure ($r = 0.36$; $r = 0.44$ respectively; $p < 0.01$). Group 2: 53.2 % of boys and 50.5 % of girls were overweight / obese and the most prevalent risk factors for metabolic syndrome were hypertriglyceridemia, hypertension and low HDL-C. Group 3: 40.0 % were overweight / obese and presented higher systolic and diastolic blood pressure, glycemia and triglyceride levels, in addition to lower HDL-C concentration ($p < 0.01$). Consumption of food with high caloric density and low physical activity were the main characteristics of this population. **Conclusion:** The implementation of policies based on programs for both prevention and management of obesity and associated risk factors should become a public health priority.

Key words: risk factors, children and adolescent population, pregnant, metabolic syndrome, Patagonia.

Introducción

La obesidad está asociada a varias enfermedades crónicas, entre las que se destaca el síndrome metabólico (SM), cuyos factores de riesgo han sido observados en fases iniciales de la vida favoreciendo el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Entre los factores de riesgo se consideran el aumento de triglicéridos, la disminución de colesterol HDL, la hipertensión arterial y la obesidad abdominal, los que se asocian a la resistencia insulínica. Todos estos factores en conjunto predicen mejor el riesgo cardiometabólico que de manera individual. La patogénesis del SM tiene múltiples orígenes, pero la obesidad y el estilo de vida combinados con una dieta desequilibrada, además de factores genéticos interactúan claramente para producir SM1.

Los cambios en los patrones de alimentación y de actividad física han incrementado el desarrollo de obesidad a nivel mundial. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) esta se encuentra entre las primeras diez causas de riesgo. En países en vías de desarrollo, su prevalencia, ocupa el quinto lugar, siendo las mujeres en edad reproductiva el grupo, cuyas cifras oscilan entre el 20 y el 34 %, mientras que en niños y adolescentes rondan el 40 %². En esta última franja etaria, la obesidad parece ser el desencadenante más importante de la resistencia a la insulina, lo que convierte a los niños y adolescentes obesos en un grupo de riesgo para desarrollar SM³. En el caso de las embarazadas la ganancia de peso gestacional (GPG) es un fenómeno complejo influenciado no sólo por cambios fisiológicos y metabólicos maternos, sino también por el metabolismo placentario.

El mayor acceso a alimentos de bajo costo con alto contenido energético, la poca actividad física diaria y una creciente dependencia de la tecnología, son algunos aspectos que caracterizan la vida moderna, sobre todo en el medio urbano.

El componente hereditario de los procesos multifactoriales y complejos, involucrado en la obesidad, no puede ser explicado sólo por cambios en la secuencia del ADN. Actualmente, se sabe que la epigenética, definida como una forma de regulación génica en células especializadas, que no implica cambios en la secuencia del ADN, podría ser responsable de la expresión de estas enfermedades crónicas a través de varios tipos de marcas, que se agregan al ADN o a la cromatina y que afectan la transcripción de un gen de manera transitoria o persistente⁴. Por ello, el ambiente intrauterino, cobra vital importancia en el epigenotipo del recién nacido.

El tejido adiposo se desarrolla en el feto humano a nivel intrauterino. La adipogénesis se caracteriza por dos rebotes adipocitarios; el primero, representado por el aumento en el tamaño del adipocito y; el segundo, en el que se incrementa su número, hecho que se observa entre los 6 y los 10 años de edad. La edad en la que ocurre el rebote de adiposidad en el escolar es crítica para el desarrollo posterior de la obesidad. La aparición de un rebote de adiposidad temprano se

asocia con un IMC más elevado en la adolescencia y al inicio de la edad adulta⁵.

Educación en etapas tempranas de la vida en torno a la adopción de un estilo de vida saludable permite consolidar determinadas conductas que marcarán el comportamiento en el adulto. Este momento constituye una oportunidad única para reducir el impacto que la obesidad y los factores de riesgo asociados al SM provocan sobre el propio individuo y los sistemas de salud. Por ello, el objetivo del presente estudio es determinar los factores de riesgo que favorecen el desarrollo de SM en una población patagónica argentina, con el fin de proporcionar resultados que permitan establecer políticas sanitarias tendientes a modificar su trayectoria.

Materiales y Métodos

Se trabajó con un diseño de tipo descriptivo de corte transversal. El muestreo realizado en todos los grupos fue no probabilístico consecutivo debiendo cumplirse los siguientes criterios de selección:

De inclusión para G1: embarazadas entre 19 y 35 años que asistieron a centros públicos y privados de salud de la ciudad de Comodoro Rivadavia, y que fuesen residentes al menos 5 años en la localidad. Para G2 y G3: alumnos entre 6 y 11 años (G2) y entre 12 y 16 años (G3) que concurrieran a un establecimiento educativo, padres que dieran el consentimiento informado por escrito, niños y adolescentes que firmaran su asentimiento.

De exclusión para G1, G2 y G3: presentar alguna patología aguda al momento del estudio o antecedentes de enfermedad crónica, renal, hepática o tiroidea, o haber recibido medicamentos que pudieran afectar el metabolismo energético y/o lipídico 6 meses previos a la realización del trabajo. El desarrollo del protocolo siguió las normas éticas internacionales (Declaración de Helsinki) y contó con la aprobación del Comité de Bioética de la Universidad Nacional de la Patagonia, San Juan Bosco.

Determinaciones antropométricas

Se midió el peso y la talla manteniendo a los voluntarios de pie, con vestimenta ligera y descalzos en una balanza modelo CAM[®] con una precisión de $\pm 0,5$ kg y $\pm 0,5$ cm, respectivamente. Se calculó el índice de masa corporal (IMC) como la proporción peso [kg] / talla² [m²].

Para categorizar a los grupos como sobrepeso / obesos se utilizaron en G1, las tablas proporcionadas por el Ministerio de Salud de la Nación Argentina⁶ y en G2 y G3 el indicador ZIMC (criterio OMS)⁷. Además, en G1 se midió la altura uterina en la semana 16, mediante el uso de una cinta métrica, tomando la distancia entre el hueso púbico y la parte anterior del útero⁸.

En G2 y G3, se tomó la medida de circunferencia de cintura a la mitad de la distancia que separa la última costilla de la cresta ilíaca utilizando como puntos de corte los propuestos por el CDC⁹.

Determinaciones bioquímica

En una muestra de sangre obtenida con ayuno de 12 horas se evaluaron los siguientes parámetros:

- Glucemia (G): método enzimático (glucosa oxidasa).
- Colesterol total (CT): método enzimático (colesterol oxidasa / peroxidasa).
- Colesterol-HDL (HDL): método enzimático directo con empleo de enzimas modificadas por polietilenglicol.
- Colesterol-LDL (LDL): se calculó mediante el empleo de la fórmula de Friedewald: $LDL = CT - [HDL + (TG / 5)]$.

En aquellas muestras cuyos valores de triglicéridos superaban los 250 mg/dl, el colesterol-LDL se determinó por el método enzimático.

- Triglicéridos (TG): método enzimático (lipoproteinlipasa).

En todos los casos, el producto final de cada reacción se midió en un analizador automatizado de química seca Vitros 350®.

Determinación de presión arterial

Se utilizó un tensiómetro semidigital OM-ROM HEM-431®, validado por la sociedad Europea de Hipertensión Arterial para esta finalidad. Antes de la evaluación, se solicitó a los voluntarios sentarse con la espalda apoyada en el respaldo, con las piernas descruzadas y el brazo derecho descubierto relajado y apoyado a la altura del corazón. Se les indicó que no hablaran mientras se inflaba y desinflaba el manguito. Se obtuvieron inicialmente tres tomas de presión, separadas por un minuto cada una de ellas. De las tres tomas se promedió la segunda y la tercera para determinar

la tensión arterial media. Ésta es la que se tuvo en cuenta para categorizar a la población en estudio como normotensa o hipertensa en la consulta.

Encuesta semiestructurada

Se interrogó sobre hábitos alimentarios, actividad física realizada (cuestionario IPAQ)¹⁰ y horas de permanencia frente a pantalla.

Análisis estadístico

Los resultados descriptivos se expresaron como mediana, cuartiles 25 (Q₂₅) y 75 (Q₇₅). La asociación univariada entre variables se estudió a través del empleo de la correlación de Spearman (Rank-Order-Correlation). Se evaluó la diferencia de medias de cada variable por el método de Wilcoxon-Man-Whitney. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Stata 11.0 (StataCorp LP, CollegeStation, Texas)¹¹.

Resultados

En la tabla I se observan las características físicas y metabólicas de los tres grupos estudiados. Alrededor de un tercio de los participantes de cada grupo presentaron sobrepeso u obesidad. Como puede observarse en la tabla, se encontraron mayores niveles de glucemia y menores de HDL en los grupos Sob / Ob, a pesar de que la diferencia no se pudo demostrar estadísticamente.

En los tres grupos, se observó un incremento de la TAD en aquellos voluntarios que mostraron Sob / Ob.

Tabla I. Características físicas y metabólicas de los tres grupos estudiados.

	G1		G2		G3	
	NP n = 41	Sob / Ob n = 26	NP n = 153	Sob / Ob n = 164	NP n = 310	Sob / Ob n = 186
AU (cm)	11,0 (10,0 – 12,0) ^a	12,5 (10,5 -17,5) ^a	----	----	----	----
CC (cm)	----	----	56,0 (60,0 – 64,3) ^a	76,0 (70,0 – 84,0) ^b	75,0 (70,0 – 79,0) ^a	89,0 (83,0 – 97,5) ^b
G (mg/dL)	75,0 (70,0 – 82,0) ^a	80,0 (71,5 – 84,5) ^a	85,0 (80,0 – 92,0) ^a	88,0 (84,0 – 93,0) ^a	82,0 (76,0 – 88,0) ^a	86,0 (79,0 – 92,0) ^a
CT (mg/dL)	159 (147 – 179) ^a	185 (156 – 192) ^a	163 (145 – 184) ^a	164 (149 – 183) ^a	156 (143 – 175) ^a	154 (139 – 175) ^a
HDL (mg/dL)	52,0 (47,0 – 60,0) ^a	48,0 (45,0 – 52,6) ^a	60,0 (53,0 – 71,0) ^a	57,0 (48,0 – 66,0) ^a	55,0 (48,0 – 62,0) ^a	49,0 (43,0 – 59,0) ^a
LDL (mg/dL)	90,0 (80,0 – 101) ^a	100 (83,0 – 103) ^a	86,0 (75,0 – 100) ^a	88,0 (72,0 – 106) ^a	89,0 (73,0 – 102) ^a	89,0 (73,0 – 108) ^a
TG (mg/dL)	105 (67,0 – 128) ^a	118 (100 – 130) ^a	61,0 (47,0 – 80,0) ^a	82,0 (56,0 – 118) ^b	55,0 (44,0 – 80,0) ^a	71,0 (53,0 – 105) ^a
TAS (mmHg)	103 (93,7 – 112) ^a	110 (100 – 113) ^a	95,0 (90,0 – 100) ^a	100 (92,0 – 110) ^a	104 (101 – 116) ^a	116 (110 – 124) ^b
TAD (mmHg)	61,4 (56,6 – 66,2) ^a	66,1 (58,4 – 73,8) ^b	55,0 (49,0 – 60,0) ^a	55,0 (52,0 – 60,0) ^b	65,0 (59,0 – 70,0) ^a	66,0 (62,0 – 72,0) ^b

► Mediana (Q₂₅ - Q₇₅). Q₂₅: cuartilo 25, Q₇₅: cuartilo 75, G1: Grupo 1, G2: Grupo2, G3: Grupo 3, NP: normopeso, Sob / Ob: sobrepeso / obesidad, AU: altura uterina, CC: circunferencia de cintura, G: glucemia, CT: colesterol total, HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, TG: triglicéridos, TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica. Superíndices distintos indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0,01).

Discusión

La epidemia de obesidad no excluye a las mujeres en edad reproductiva. Numerosas publicaciones muestran que las mujeres que al momento de embarazarse tienen un IMC normal, presentan mejor evolución en el embarazo y el parto que aquellas que lo inician con sobrepeso u obesidad¹². En este estudio, teniendo en cuenta el IMC en función de la edad gestacional, el 28,1 % de las mujeres embarazadas presentaron sobrepeso mientras que un 10,6 % eran obesas. Los riesgos asociados con esta condición incluyen hipertensión, diabetes gestacional, complicaciones durante el parto y macrosomía, entre otras¹³. Se encontró una correlación estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre el IMC y la TAS ($r = 0,36$) y la TAD ($r = 0,44$). El grupo de mujeres con Sob / Ob presentó una TAD significativamente superior ($p < 0,01$).

Considerando el ZIMC, en G2 un 30,8 % de los varones presentó sobrepeso y un 22,4 % obesidad, mientras que, en las niñas, 22,4 % tenían sobrepeso y 28,1 % eran obesas. En los adolescentes, un 40 % presentó sobrepeso u obesidad. El síndrome metabólico, que incluye entre otros factores de riesgo a la obesidad, aumenta la aparición de futuras enfermedades crónicas. En este estudio, la frecuencia de aparición de factores de riesgo en niños y niñas (G2), respectivamente, fue: hipertrigliceridemia (21,7 % y 19,0 %), disminución de HDL (6,99 % y 4,02 %), hipertensión (6,99 % y 19,0 %). En G3, aquellos que presentaron sobrepeso u obesidad tenían mayores niveles de TAS, TAD, G y TG, y menor concentración de HDL ($p < 0,01$).

Los factores ambientales, son determinantes en el incremento de la prevalencia de la obesidad¹⁴. Dado que durante los primeros años de vida se forman conductas y hábitos, resulta indispensable educar en adopción de estilos de vida saludable. En las encuestas realizadas a los voluntarios se observó que el 15,7 % de las mujeres embarazadas no desayunaban habitualmente y que de las que lo hacían, un 31,3 % consumían desayunos no equilibrados. El 56,3 % de las madres no realizaban actividad física y su dieta se caracterizaba por consumo de alimentos con alto contenido calórico y escaso consumo de frutas y verduras. Todo el grupo permanecía más de 2 horas frente a algún tipo de pantalla, principalmente teléfonos celulares. Tanto en el grupo de infantes como en el de adolescentes, se observó prácticamente el mismo comportamiento, inactividad física y consumo de alimentos con alto contenido calórico.

Este estudio muestra la alta prevalencia de sobrepeso, obesidad y factores de riesgo asociados en la población estudiada. Se requiere la colaboración de diversos actores, entre ellos las familias, escuela y demás entornos sociales junto a la acción responsable del estado, en la implementación de políticas de control sobre la industria y la promoción, de manera de poder proteger a la población de la exposición a ambientes obesogénicos. De esta forma se contribuiría a frenar el crecimiento epidémico de los factores de riesgo para el síndrome metabólico.

Referencias bibliográficas

- 1 Ruano Nieto CI, Melo Pérez JD, Mogrovejo Freire L, De Paula Morales KR y Espinoza Romero CV. Prevalencia de Síndrome Metabólico y factores de riesgo asociados en jóvenes universitarios Ecuatorianos. *Nutr Hosp* 2015;31(4):1574-1581.
- 2 Hanson M, Gluckman P, Bustreo F. Obesity and the health of future generations. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;4(12):966-967.
- 3 Rome ES. Obesity prevention and treatment. *Pediatr Rev* 2011;32:363-373.
- 4 Fleisch AF, Wright RO, Baccarelli AA. Environmental epigenetics: a role in endocrine disease. *J Mol Endocrinol* 2012;49(2):R61-R70.
- 5 Moreno Aliaga MJ, Martínez JA. El tejido adiposo: órgano de almacenamiento y órgano secretor. *Am Sis Sanit Navar* 2002;25(1):29-39.
- 6 Ministerio de Salud de la Nación. Nutrición y Embarazo. Recomendaciones en Nutrición para los equipos de salud. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. Buenos Aires: Ministerio de Salud, 2012.
- 7 Organización Mundial de la Salud. Centro de prensa. Obesidad y sobrepeso [consultado 29 de Mayo de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>.
- 8 Recomendaciones para la práctica del control preconcepcional prenatal y puerperal. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. Ministerio de la Salud Argentina. Edición 2013.
- 9 Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Mei Z y col. 2000 CDC growth charts for the United States: Methods and development. *National Center for Health Statistics. Vital Health Stat* 2002;11(246).
- 10 Pate R, Pratt M, Blair S, Haskell W, Macera C, Bouchard C y col. Physical Activity and public health. A recommendation from Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995;273:402-427.
- 11 Pagano M y Gauvreau A. Fundamentos de Bioestadística. 2º ed. International Thomson Editores SA. 2001.
- 12 Abrams B, Altman SL, Pickett KE. Pregnancy weight gain: Still controversial. *Am J Clin Nutr* 2000;71 (5):1233-1241.
- 13 Bhattacharya S, Campbell DM, Liston WA. Effect of body mass index on pregnancy outcomes in nulliparous women delivering singleton babies. *BMC Public Health* 2007;7:168.
- 14 Han J, Lawlor D, Kimm S. Childhood obesity. *Lancet* 2010;375:1737-1748

ARTÍCULO ORIGINAL

Western blot parcialmente desnaturizante de Transtirretina en plasmas de portadores de la mutación V30M

Cardini, Juan¹; Sáez, María Soledad¹; Llanos, Macarena¹; Sorroche, Patricia Beatriz¹; Lorenzón, María Victoria¹; Grigera, Pablo Rafael².

¹ Instituto Universitario y Laboratorio Central (IUHI, LCHI), Hospital Italiano, Buenos Aires, Argentina.

² CEVAN/ ICT Milstein-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Dirección de correspondencia: prgrigera@conicet.gov.ar

Resumen

La transtirretina humana (TTR) es una proteína homotetramérica esencial para el transporte de tiroxina y retinol en individuos sanos. Mutaciones puntuales, particularmente sustituciones de valina por metionina en posición 30 (V30M), desestabilizan los complejos de TTR y dan lugar a la liberación de monómeros (14 Kd, TTRm), responsables de la creación de depósitos amiloideos en el intersticio de tejidos cardiacos y cerebrales. El análisis en Western inmunoblot de plasmas humanos desnaturizados por alta temperatura (95 C°, 10 minutos) en presencia del detergente iónico dodecyl sulfato de sodio (SDS) y utilizando anticuerpos monoclonales (Mabs) contra la molécula total o suero policlonal p71/98 dirigido contra la secuencia de aminoácidos 71 a 98 de TTR, detectan la presencia de TTRm, tanto en individuos positivos (portadores) como negativos para la mutación V30M. El suero policlonal p71/98 también identifica un polipéptido de 55-60 KD (TTRt) que corresponde a tetrámeros de TTR resistentes al tratamiento combinado de SDS y alta temperatura. El procesamiento de las muestras en presencia de SDS, pero a temperatura ambiente, (desnaturización parcial) produce un notable incremento de TTRt y desaparición paralela de la banda correspondiente a TTRm en plasmas de individuos normales, pero no en plasma de portadores V30M-positivos, en los que TTRm continúa siendo claramente detectable. Los resultados sugieren que una simple modificación en el procesamiento de las muestras plasmáticas puede convertir al Western inmunoblot en una herramienta de utilidad para el screening de plasmas de portadores de ésta y otras mutaciones desestabilizantes de la estructura multimérica de TTR en el laboratorio clínico.

Palabras clave: amiloidea, transtirretina, Western inmunoblot, plasma humano, tetrámeros.

Abstract

Human transthyretin (TTR) is a homotetrameric protein essential for the transport of thyroxine and retinol in plasma of healthy individuals. Point mutations, mainly a substitution of valine to methionine at position 30 (V30M), result in disruption of TTR complexes and release of TTR monomers responsible for building amyloid deposits in the interstice of heart and brain tissues. Denaturing immunoblot analysis of plasma samples, with either monoclonal antibodies (MABs) raised against the whole TTR molecule or with monospecific serum directed to the C-terminal track containing amino acid residues 71 to 98 (p71/98), readily identified the 14 Kd monomeric form of TTR in both V30M mutant-carrier and in non-carrier individuals. P71/98 also identified a 55-60 Kd polypeptide (TTRt) corresponding to a fraction of TTR tetramers that either escape disruption by the combined use of SDS and heat treatment and/or refolded during the first stages of PAGE/SDS running. A milder treatment avoiding the heating of plasma samples prior to immunoblot resulted in a notable increase in TTRt and disappearance of monomeric TTR in samples from V30M-negative individuals but not in those from V30M-positive carriers where free TTR monomers are systematically detected by p71/98 serum. Our results suggest that minimizing the TTR complex disruption before PAGE-SDS/ immunoblot analysis could be simple strategy to sort plasmas from V30M-positive and V30M-negative individuals in the clinical laboratory.

Keywords: amyloid, transthyretin, Western immunoblot, human plasma, tetramers

Introducción

La polineuropatía amiloidótica familiar (FAP) es una enfermedad autosómica dominante caracterizada por el depósito de material fibrilar formado por moléculas de TTR (TTR, 14 Kd, transportador plasmático de tiroxina y retinol), que se acumulan en el espacio intersticial de nervios periféricos y tejido muscular cardíaco. Mutaciones de sustitución en la secuencia de TTR interfieren con su capacidad para asociarse en tetrámeros estables, dando por resultado un exceso relativo de monómeros libres, disponibles para la formación de depósitos amiloideos y el subsiguiente daño tisular [2,3,4]. La más común, entre cientos de mutaciones puntuales ya descritas, es la que codifica para la sustitución Val30Met en el extremo N terminal de la secuencia TTR [5,6].

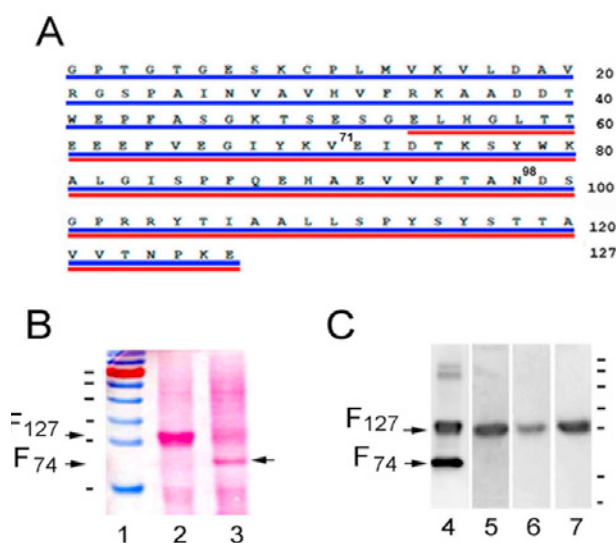
Entre las principales contribuciones del laboratorio clínico al diagnóstico de la enfermedad amiloidótica se destacan la inmunohistoquímica (IHC) y la espectroscopía de masas (MS), en la identificación de TTR en biopsias; así como también la secuenciación del ADN genómico en sangre periférica para detectar posibles portadores mutantes [7,8,9,10,11]. El Western blot desnaturizante (SDS-PAGE seguido de inmunoblot) [12] también ha demostrado ser una herramienta analítica útil para detectar e identificar la TTR monomérica en plasma y material amiloideo [13,14]. Sin embargo, esta técnica es inadecuada para diferenciar moléculas de TTR mutantes de las formas no mutadas, ya que en general no muestran diferencias en su comportamiento migratorio ni inmunológico. Por lo tanto, se describe aquí una modificación simple en el protocolo de Western blot, con potencial para identificar plasmas de portadores de la mutación V30M y eventualmente otras también desestabilizantes de la estructura multimérica de TTR.

Materiales y métodos

Muestras de plasma: se obtuvieron plasmas de pacientes positivos o negativos para la mutación V30M según la secuenciación del genoma del exón 2 del gen de la TTR en el Laboratorio Central del Hospital Italiano de la Ciudad de Buenos Aires, a partir de muestras de sangre entera con EDTA, y se almacenaron a -20°C hasta su análisis.

-Análisis en SDS-PAGE e inmunotransferencia: el procedimiento general para el análisis SDS-PAGE e inmunoblots en un formato mini Bio-Rad se describió anteriormente [15]. En un experimento típico, 10 µl de plasma de portadores V30M e individuos control (negativos para la mutación V30M) se mezclaron independientemente con 10 µl de buffer muestra 2X Laemmli (Tris 0,05 M pH: 6,5, SDS 6%, mercaptoetanol al 10%) seguido de la adición de 80 µl de 1X del mismo tampón. La mezcla de 100 µl se dividió luego en dos alícuotas idénticas que se calentaron a 95°C durante 10-15 minutos (muestra desnaturizada, D) o se dejaron a temperatura ambiente (parcialmente desnaturizadas, PD) hasta la carga del gel. Aproximadamente 20-25 µl de la muestra total (equivalente a 2-3 µl de la muestra de plasma

Figura 1.



- A) Secuencia completa de TTR (ácidos 1 a 127) expresada en células BL21DE3. Se destacan en azul y rojo las secuencias de aminoácidos correspondientes a las proteínas recombinantes F127 y F74, respectivamente. B) Perfil de tinción con Ponceau Red de proteínas recombinantes, F127 y F74 que expresan la secuencia completa y 71 aminoácidos C terminales de TTR (calles 2 y 3, respectivamente) y transferidos a nitrocelulosa después del análisis en 12% PAGE-SDS y antes de la incubación con anticuerpos apropiados. Las bandas de marcador en la calle 1 corresponden a pesos moleculares de 17, 25, 35, 40, 55, 70, 100 y 130 Kd, respectivamente. C) Reactividad de F127 y F74 con anticuerpos comerciales. Se mezclaron alícuotas equivalentes de lisados de bacterias que expresan independientemente F127 y F74, se procesaron en PAGE / SDS, se transfirieron y se analizaron contra el suero p71 / 98 (calle 4) y los anticuerpos monoclonales MAbs #A, #B y #C (ver Mat y Métodos, en calles 5, 6 y 7, respectivamente).

inicial) se cargaron en mini PAGE-SDS 12% y se transfirieron a nitrocelulosa (80mA / 17 V, 12 hs), que se bloqueó con BSA al 3% PBS seguido de incubación con anticuerpos primarios conjugados correspondientes, y desarrollo de señal con quimioluminiscencia (Pierce-ECL) y registro de datos con GBox (Syngene-Sinoptics). Se usaron eventualmente peines de gel más anchos (12 mm en lugar de los 5 mm normales) para permitir la carga de mayores volúmenes de muestras de plasma (ver Figura 3A).

- **Clonación y expresión en bacterias BL21-DE3:** los fragmentos de ADN que codifican para la secuencia de la TTR completa de 127 aminoácidos o aminoácidos terminales 74-C, se amplificaron mediante la técnica de la cadena de la polimerasa (PCR, polymerase chain reaction) usando un ADN sintético (IDT) que contiene la secuencia de codificación TTR [16] como templado. Los fragmentos amplificados se clonaron en sitios Bam HI-Hind III del vector pET30a (Novagen-RifeSciences) y se expresaron como proteínas recombinantes F127 y F74 en bacterias BL21-DE3 tras la inducción con IPTG.

- Anticuerpos: cuatro anticuerpos comerciales dirigidos contra la TTR humana, un anticuerpo policlonal de conejo y 3 MAb de ratón, se ensayaron frente a fragmentos recombinantes F127 y F74 en Western inmunoblot. Los anticuerpos monoclonales se codificaron con letras en el texto como: #A: MAb 7505 RyD, #B: clon MAb 10E1, Santa Cruz y #C: Universidad Estatal de Iowa-MAb CPTC-TTR-1. Los tres MAb se generaron contra la molécula de TTR completa utilizada como inmunógeno de acuerdo con sus respectivos proveedores. El conejo policlonal p71 / 98 (PAS 35315, Thermo) se generó contra un péptido sintético que contiene los residuos de ácidos 71 a 98 de la mitad C-terminal de TTR.

Resultados y discusión

Reactividad de anticuerpos comerciales frente a TTR recombinante

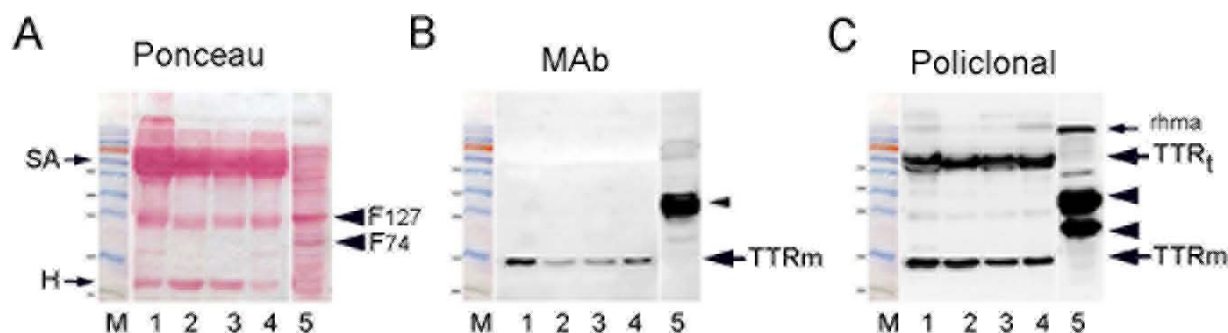
La Figura 1A representa 74 residuos de aminoácidos del C-terminal y la secuencia completa de TTR (127 aminoácidos) en azul y rojo, respectivamente. Ambas secuencias se expresaron en los polipéptidos recombinantes F74 y F127, respectivamente. Las respectivas secuencias de ADN se clonaron en el plásmido de expresión pET30a bajo el promotor T7 y se expresaron en bacterias BL21DE3 tras la inducción con IPTG (véase Materiales y Métodos). La tinción de Ponceau en la Figura 1B muestra el perfil de ambos recombinantes después de corrida por separado en PAGE/SDS y transferencia a membrana de nitrocelulosa (F127 y F74, calles 2 y 3, respectivamente). La Figura 1C muestra el perfil inmunorreactivo del par recombinante F127 y F74

ante 4 anticuerpos específicos anti TTR. El anticuerpo de conejo mono específico P71/98 producido contra un péptido sintético que contiene los restos de aminoácidos 71 a 98 de la secuencia de TTR, reaccionó con ambos recombinantes F127 y F74 (calle 4). Cada uno de los otros tres MAb alternativos, generados contra TTR entera, mostraron reactividad con F127, pero no con F74, sugiriendo que su sitio de unión mapea en los primeros 53 aminoácidos N-terminales de TTR. Los resultados demuestran que el suero p71/98 es el anticuerpo de elección para la identificación de fragmentos C terminales de TTR (8).

Western blot de muestras de plasma post desnaturalización completa o parcial

Se probó la reactividad del suero p71/98 y una mezcla de los tres MAb anti TTR (MAb) contra 4 muestras de plasma de individuos V30M-negativos, obtenidos en el LCHI. La Figura 2A muestra el perfil del polipéptidos totales teñido con rojo Ponceau correspondientes a las alícuotas de cuatro plasmas independientes desnaturalizados (D) por calentamiento en buffer de Laemmli (95-98°C 10 min), separadas en SDS-PAGE al 12% y transferidas a nitrocelulosa. Se detectan una banda mayoritaria entre los marcadores de 55 y 70 Kd correspondiente a seroalbúmina (SA) y una banda menor que corre más rápido que el marcador de 17 Kd e identificada como subunidad de hemoglobina (H). Las Figuras 2B y 2C muestran el perfil de quimioluminiscencia después de incubaciones secuenciales con la mezcla MAb y con suero p71 / 98, respectivamente. Como se esperaba la mezcla de MAb detectó una sola banda ligeramente más rápida que el marcador de 17 Kd e identificada como el

Figura 2.



- A) Perfil de tinción de Ponceau Red de muestras plasmáticas. Cuatro muestras de plasma de individuos V30M negativos se desnaturalizaron con calor [95-100 C°, 10 minutos] en buffer reductor de Laemmli, se analizaron en un mini gel SDS PAGE al 12%, se transfirieron a nitrocelulosa y se tiñeron (ver Mat y Métodos). La seroalbúmina (SA, 65 Kd) y la cadena de hemoglobina (H, 12 Kd) son componentes principales (calles 1 a 4). En la calle 5, una mezcla de lisados desnaturalizados de bacterias BL21-DE3 que expresan F127 y F74 después de la inducción con IPTG. Las puntas de flecha apuntan a los dos fragmentos expresados teñidos con reactivo Ponceau Red. B) Inmunorreactividad con MAb anti TTR. Perfil de quimioluminiscencia obtenido después de la incubación de la membrana mostrada en A, con una mezcla equivalente de los tres MAb anti-TTR #A #B, y #C (1: 200 cada uno, ver Mat y Métodos). TTRm: TTR monomérica y punta de flecha para el F127 detectado por la mezcla de MAb en la calle 5. C) Inmunorreactividad contra suero de conejo p71 / 98. Perfil quimio luminiscente obtenido después de una segunda incubación seguida a la descrita en el punto B, con anticuerpo policlonal de conejo dirigido a la secuencia aminoacídica 71-98 en el C-terminal de TTR (ver Materiales y Métodos). Las puntas de flecha apuntan a F127 y F74, ambas reaccionan con pol 71/98. TTRt y TTRm son las formas tetraméricas y monoméricas de TTR, respectivamente.

monómero plasmático de TTR de 14 Kd [Fig. 2B, TTRm en las calles 1 a 4]. En la calle 5 se muestra la fuerte reactividad de la mezcla de MAb con la recombinante F127, pero no con la F74.

El policlonal p71-98 mostró reactividad con TTR monomérico, pero también con una banda heterogénea de 55-60 Kd (TTRt) correspondiente a TTR tetramérica, que escapa a la ruptura con el tratamiento desnaturizante y/o que se reasocia durante las primeras etapas de la corrida en SDS-PAGE [Figura 2C, policlonal, calles 1 a 4; 10,17].

Los resultados muestran la presencia de cantidades significativas de TTR tetramérica, a pesar de las condiciones relativamente drásticas del procesamiento de las muestras. El carácter específico de la banda designada como TTRt esta justificada por su marcada disminución cuando la corrida se hace en presencia de urea 6M en el gel separador y por la falta de reactividad del policlonal p71/98 con cantidades equivalentes o incluso mayores de BSA, que muestran una migración similar a la TTRt en estos geles [resultados no mostrados].

Por otra parte, los resultados confirman que tanto los MAb anti TTR, como el suero p71/98 son capaces de detectar TTR monomérica en muestras de plasma desnaturizado por tratamiento térmico y con SDS. También muestran la presencia de moléculas de TTR tetraméricas resistentes al tratamiento combinado con SDS, calor y agente reductor destinado, al menos en

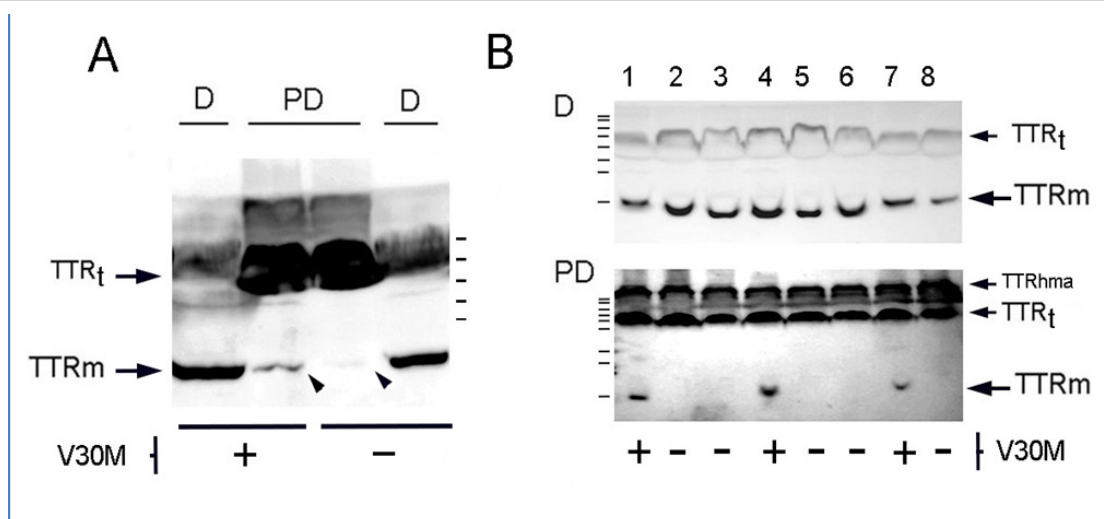
teoría, a maximizar la ruptura de estructuras cuaternaria, terciaria y secundarias y a generar monómeros de TTR [12].

A continuación, se indagó si un tratamiento menos drástico de las muestras podría tener un impacto diferencial en el perfil inmunológico de los plasmas provenientes de individuos positivos (portadores) y negativos para la mutación V30M.

La Figura 3A muestra el perfil inmunorreactivo con antisuero p71/98 de plasmas provenientes de un individuo V30M-positivo y otro negativo para la mutación después de tratamiento con buffer, muestra con SDS y calentamiento a 95-100 C° (desnaturizados, D) o incubación a temperatura ambiente (desnaturización parcial, PD) por 15 minutos previos al análisis con SDS-PAGE (ver Materiales y Métodos). De acuerdo con lo esperado, se observó la presencia de monómeros y tetrámeros de TTR en ambos plasmas procesados en condiciones de desnaturización total (calles D). El análisis de idénticas alícuotas de los mismos plasmas, después de desnaturización parcial (Figura 3A, calles PD) se detectó TTR monomérico sólo en la muestra del portador positivo de la mutación V30M. La intensidad de las bandas correspondientes a TTRt fue significativamente mayor en ambas muestras, en comparación con sus respectivas contrapartes sujetas a alta temperatura.

El resultado sugiere que minimizar la ruptura de oligómeros de TTR durante el procesamiento de la muestra podría ser

Figura 3.



► A) Western blotting de plasmas procesados por separado en condiciones desnaturizantes (D) y parcialmente desnaturizantes (PD). Alícuotas de plasmas pertenecientes a un portador V30M positivo (V30M+) y a un individuo negativo para la mutación (V30M-) se mezclaron respectivamente con volúmenes equivalentes de buffer muestra 2X conteniendo SDS y beta-mercaptoetanol, se dividieron en dos y se calentaron durante 10 minutos a 95-100 Co o se mantuvieron a temperatura ambiente (D y PD, respectivamente (véase Materiales y Métodos) previo a su análisis por separado en inmunoblot con suero policlonal p71 / 98. TTRhma: agregados de alto peso molecular. TTRt: TTR tetramérica. TTRm: TTR monomérica. Las cabezas de flechas en las dos calles centrales de PD señalan la banda de TTR monomérica claramente detectable en la muestra V30M positiva pero apenas detectable, en niveles de background, en la control V30M negativa. Las bandas TTR monoméricas mostraron un comportamiento de migración idéntico independientemente del origen de la muestra o del tipo de procesamiento. B) Análisis de inmunoblot de alícuotas plasmáticas idénticas (3 ul equivalentes) obtenidas de 8 individuos independientes, tres portadores de la mutación V30M y 5 controles negativos analizados en condiciones desnaturizantes (D) y parcialmente desnaturizantes (PD). La fracción de marca específica asociada a las formas monoméricas (TTRm) fue consistentemente menor a la de las formas poliméricas (TTRt y TTRhma), pero siempre claramente superior al basal definido por los las muestras provenientes de carriers V30M negativos. Además, la detección diferencial de TTRm en muestras plasmáticas de 6 carriers V30M positivos, analizadas bajo condiciones parcialmente desnaturizantes (PD) al tiempo del procesamiento editorial de este manuscrito (no mostrado), confirma en su totalidad la hipótesis postulada en este trabajo.

una estrategia válida para evidenciar el exceso de monómeros libres esperable en plasmas de portadores con mutaciones como la V30M, desestabilizadora de su estructura cuaternaria.

Esta hipótesis fue testeada con tres muestras alternativas de plasmas provenientes de individuos no relacionados e identificados como portadores de V30M por secuenciación genómica.

La Figura 3B (panel superior D) muestra el perfil inmunorreactivo de ocho alícuotas idénticas de plasmas de tres portadores V30M-positivos y de cinco controles negativos, analizados en condiciones de desnaturalización (D). Como se esperaba, las ocho muestras desnaturalizadas por calor muestran presencia de TTRm y una banda relativamente más débil de TTRt (distorsionada por la sobrecarga de HSA en las calles respectivas). Por el contrario, el análisis de alícuotas idénticas procesadas a temperatura ambiente (panel PD) revelan bandas de TTRm de 14 Kd sólo en las calles 1, 4 y 7 correspondientes a plasmas de portadores V30M-positivos. Como se mostró en la Figura 3A, la cantidad de formas poliméricas de TTR (principalmente TTRt y hma) está claramente aumentada en comparación con las muestras desnaturalizadas por calor.

Los resultados sugieren que una simple modificación en el procesamiento de plasmas provenientes de individuos en estudio puede convertir al Western blot en una herramienta útil para identificar a los portadores de la mutación V30M, y eventualmente a portadores con mutaciones alternativas que tengan impacto en la estabilidad de TTRt.

A diferencia de la secuenciación genómica y la asignación de mutaciones, que no son predictores absolutos de la formación de amiloides [18], la modificación del protocolo de Western blot propuesta aquí, apunta al análisis de una característica fenotípica directamente relacionada con el potencial para formación de amiloides, es decir la cantidad efectiva de TTR monomérica libre en plasma. El análisis de un mayor número de muestras es necesario para validar este protocolo para su uso clínico y confirmar si es capaz de detectar cambios en función del tiempo en la concentración de monómeros de TTR libres en plasma de individuos tratados con estabilizadores TTR [19] y/o establecer una correlación significativa con la progresión de la enfermedad.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por STAN 1464/2480, otorgado a P.R.G. en el CEVAN/ICTMilstein- CONICET. J.C. y M.L. son estudiantes de posgrado de la Carrera de Bioquímica en el Instituto Universitario del Hospital Italiano (IUHI). M.S.S y P.B.S son Bioquímicos (UBA), directora y profesional asociado respectivamente, de la División de Proteínas del Laboratorio Central del Hospital Italiano de Buenos Aires (LCHI). M.W y P.R.G son miembros de la Carrera del Investigador en el CEVAN-ICT Milstein, CONICET, Argentina.

Referencias bibliográficas

- Merlin G, Seldin DC, Geertz MA. Amyloidosis: pathogenesis and new therapeutic options. *J Clin Uncool* 2011; 29:1924–33.
- Jiang X, Buxbaum JN, Kelly JW. The V122I cardiomyopathy variant of transthyretin increases the velocity of rate limiting tetramer dissociation, resulting in accelerated amyloidosis. *Proc. Natl Acad Sic USA*. 2001; 98:14943–8.
- Kelly JW. Alternative conformations of amiloidogénica proteins govern their behavior. *Cur Open Strict Boil* 1996; 6:11–17.
- Purification and characterization of amyloid-related transthyretin associated with familial amiloidoti cacardiomyopathy. Leonia F. Hermapjisen', Tomas Bergman', Hans Jornvall', Gunnar Husby', Ida Ranlov, and Knut Sletten, *Eur. J. Biochem*. 227, 772-779 (1995).
- Anabela C. Teixeira a, María J. Saraiva. Presence of N-glycosylated transthyretin in plasma of V30M carriers in familial amyloidotic polyneuropathy: an escape from ERAD. *J. Cell. Mol. Med*. Vol 17, No 3, 2013 pp. 429-4352.
- Thomas Rudolph, Martin Wilhelm Kurz, and Elisabeth Farbu. Late-Onset Familial Amyloid Polyneuropathy (FAP) Val30Met without Family History. *Clin Med Res*. 2008 Sep; 6(2): 80–82.
- Per Westermark, Eva Davey, Karolina Lindbom, Stina Enqvist. Subcutaneous fat tissue for diagnosis and studies of systemic amyloidosis. *Acta histochemica* 108 (2006) 209–213.
- Elisabeth Ihse, Ole B. Suhr, Ulf Hellman and Per Westermark. Variation in amount of wild-type transthyretin in different fibril and tissue types in ATTR amyloidosis. *J Mol Med* (2011) 89:171–180.
- Diana Canetti, Nigel Brian Rendell, Lucia Di Vagno, Janet A. Gilbertson, Dorota Rowczenio, Tamar Rezk, Julian D. Gillmore, Phillip N. Hawkins, Guglielmo Verona, Palma Patrizia Mangione, Sofia Giorgetti, Pierluigi Mauri, Sara Motta, Antonella De Palma, Vittorio Bellotti & Graham W. Taylor. Misidentification of transthyretin and immune globulin variants by proteomics due to methyl lysine formation in formalin-fixed paraffine embedded amyloid tissue. *Amyloid* Vol. 24, Iss. 4, 2017.
- Jeffrey N. Higaki, Avi Chakrabarty, Natalie J. Galant, Kevin C. Hadley, Bradley Hammerson, Tarlochan Nijjar, Ronald Torres, Jose R. Tapia, Joshua Salmans, Robin Barbour, Stephen J. Tam, Ken Flanagan, Wagner Zago, and Gene G. Kinney. Novel conformation-specific monoclonal antibodies against amyloidogenic forms of transthyretin. *Amyloid*, 2016; 23(2): 86–97.
- Lendoire JC, Trigo P, Aziz H, Romero MC, Inventarza O, Ando Y, Tashima K, Ohlsson P-I, Cederquist K, Holmgren G, Suhr OB. Variant transthyretin (TTR) amyloidosis in Argentina. Detection of the trait by electrospray ionization mass spectrometry of lyophilized TTR immune precipitate. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 613.
- Blackshear, P. Systems for Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Methods in enzymology*, vol. 104. 1984.
- Asa Gustavsson, Ulla Engstrom and Per Westermark. Mechanisms of Transthyretin Amyloidogenesis Antigenic Mapping of Transthyretin Purified from Plasma and

- Amyloid Fibrils and within in Situ Tissue Localizations. *American Journal of Pathology*, Vol. 144, No. 6, June 1994.
14. Hans E. Purkey, Michael I. Dorrell, and Jeffery W. Kelly. Evaluating the binding selectivity of transthyretin amyloid fibril inhibitors in blood plasma. *PNAS* u May 8, 2001 u vol. 98.
 15. Sorroche, P.B.; Cucci, M., Wilda, M.; Ruggiero, M. F.; Bettini, M.; Giménez, M.I.; Christiansen, S; P.R. Grigera. Uso del inmunoblot (Western blot) en el laboratorio clínico para la detección de distrofina, disferlina y calpaína 3: tres proteínas de relevancia en el diagnóstico de miopatías hereditarias. *Bioquímica y Patología Clínica* 80(2), Mayo-Agosto 2016.
 16. Kimiaki Matsubara, Mineyuki Mizuguchi, and Keiichi Kawano. Expression of a synthetic gene encoding human transthyretin in *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification* 30 (2003) 55–61.
 17. Christine E. Bulawaa, Stephen Connelly, Michael DeVit, Lan Wang, Charlotte Weigel, James A. Fleming, Jeff Packman, Evan T. Powerse, R. Luke Wiseman, Theodore R. Foss, Ian A. Wilson, Jeffery W. Kellye and Richard Labaudinière . Tafamidis, a potent and selective transthyretin kinetic stabilizer that inhibits the amyloid cascade. *PNAS*, June 12, 2012, vol. 109, 24, 9629–9634.
 18. da Costa G, Gomes RA, Guerreiro A, Mateus E ´, Monteiro E, et al. (2011) Beyond Genetic Factors in Familial Amyloidotic Polyneuropathy: Protein Glycation and the Loss of Fibrinogen's Chaperone Activity. *PLoS ONE* 6(10).
 19. Laura Obici and Giampaolo Merlini (2014). An overview of drugs currently under investigation for the treatment of transthyretin-related hereditary amyloidosis. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, Volume 231.

ARTÍCULO ORIGINAL

Sífilis: situación entre los años 2014 y 2018 en un hospital de la ciudad de La Plata

Copparoni, Guido; González, Julieta Anahí; Zubillaga, Marina Yael; Rivera, Amelia Juliana; Farah, Azul; Ferranti, Samantha; Guzzetti, Pilar; Bernal, Natalia Elisabet; Goñi, Silvia Inés; Marcuzzo, Graciela Dina; Etchegoyen, María Cecilia

Servicio de Laboratorio H.I.G.A. Prof. Dr. Rodolfo Rossi. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Dirección de correspondencia: silviagoni@hotmail.com

Resumen

La sífilis es una enfermedad causada por *Treponema pallidum*. Es frecuente la coinfección entre sífilis y el virus de la inmunodeficiencia humana. En los últimos años se ha percibido un aumento de nuevos casos de sífilis en el Hospital Interzonal General de Agudos Prof. Dr. Rodolfo Rossi de la ciudad de La Plata. Objetivo: evaluar la frecuencia de casos de sífilis y analizar la coinfección con VIH, en el periodo comprendido entre enero de 2014 y julio de 2018, en este hospital de La Plata. Estudiar la distribución según sexo, rango etario y los servicios solicitantes. Materiales y métodos: estudio retrospectivo longitudinal. Se recopilaron datos de resultados de serología para sífilis, coinfección con VIH, sexo, edad y servicio solicitante, entre enero de 2014 y julio de 2018. Se incluyeron pacientes mayores de 16 años. Resultados: El total de nuevos casos fue de 3,42%, 2,69%, 3,26%, 4,16% y 5,46% en los años estudiados con un $p < 0,05$. De estos, 13,23%, 22,59%, 19,48%, 21,74% y 10,23% corresponden a pacientes coinfectados con VIH respectivamente. Del total de nuevos casos, 44%, 18%, 32%, 47% y 50% corresponden a sexo femenino. Los principales servicios solicitantes fueron Clínica médica [25,77%] y Unidad sanitaria [16,87%]. Un 68% de los nuevos casos se encontraban entre los 16 y 34 años. Conclusión: la frecuencia de los casos de sífilis aumentó significativamente en el hospital Dr. Rossi en el período estudiado. El porcentaje de coinfección con VIH fue de 17,56%. El rango etario donde se detectó el mayor número de casos se encuentra entre los 16 y 30 años. Los principales servicios solicitantes fueron clínica médica y unidades sanitarias.

Palabras claves: sífilis, virus de la inmunodeficiencia humana, coinfección.

Abstract

Syphilis is a disease caused by *Treponema pallidum*, whose coinfection with Human Immunodeficiency Virus (HIV) is frequent. At the Interzonal General Hospital of acute patients Prof. Dr. Rodolfo Rossi, from the city of La Plata, we have perceived an increase in the number of new cases of syphilis in the last years. Objective: To evaluate the frequency of syphilis cases and coinfection with HIV at our hospital between January of 2014 and July of 2018 and to study the distribution by sex, age range and requesting services. Material and methods: We performed a retrospective longitudinal study, for which we collected results of serology for syphilis, VIH coinfection, sex, age, and requesting services between January of 2014 and July of 2018, and included patients older than 16 years old. Results: The total number of new cases was 3.42%, 2.69%, 3.26%, 4.16% and 5.46% in 2014, 2015, 2016, 2017 and 2018 respectively with a $p < 0.05$. From these, 13.23%, 22.59%, 19.48%, 21.74% and 10.23% corresponded to patients coinfecting with HIV and 44%, 18%, 32%, 47% and 50% corresponded to females. The main requesting services were the Clinic [25.77%] and Sanitary Units [16.87%]. Also, 68% of the new cases were between 16 and 34 years old. Conclusions: The frequency of syphilis cases at Dr. Rossi hospital increased significantly between 2014 and 2018. The percentage of HIV coinfection was of 17.56%. The age range at which we detected the highest number of cases was between 16 and 30 years old. The main requesting services were the Clinic and Sanitary Units.

Key words: syphilis, human immunodeficiency virus, coinfection.

Introducción

La sífilis es una enfermedad sistémica crónica humana causada por la espiroqueta *Treponema pallidum*, subespecie *pallidum* (*T. pallidum*). Ocurre en todo el mundo, variando la incidencia con la distribución geográfica y el entorno socioeconómico. La enfermedad puede ser adquirida por contacto sexual, de forma congénita a través de la placenta, por transfusión de sangre humana contaminada y por inoculación accidental directa. La vía más frecuente es la sexual. De acuerdo al rango etario, el grupo de individuos más afectados comprende aquellos entre los 15 a 30 años [1-4].

Durante la década de los ochenta se produjo un resurgimiento de la enfermedad con un desproporcionado aumento de casos en los varones homosexuales que, poco a poco, fue decreciendo debido a la adquisición de prácticas sexuales más seguras asociadas a la pandemia del virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Actualmente, la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha reducido la morbimortalidad de esta infección, hasta ser considerada una enfermedad crónica. Paralelamente a esta reducción, se ha observado un aumento de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) debido a la pérdida del miedo al contagio del VIH y a un auge de las conductas de riesgo en el ámbito sexual [5].

T. pallidum es capaz de penetrar en el organismo a través de las membranas mucosas intactas o a través de heridas en la piel. A partir de aquí, el microorganismo se disemina por el cuerpo humano a través de los vasos linfáticos o sanguíneos.

Clínicamente, la sífilis se divide en una serie de etapas: fase de incubación, sífilis primaria, secundaria, latente y tardía. El período de incubación medio es de tres semanas (varía de tres a noventa días) [4].

La fase primaria consiste en el desarrollo de la primera lesión en la piel o las mucosas, conocida como chancro duro. El fluido seroso de la lesión contiene numerosos treponemas, los que son detectados por microscopía de campo oscuro, que es la prueba diagnóstica de elección en esta etapa. La fase secundaria comienza al cabo de dos a doce semanas después del contacto. En los condilomas, el diagnóstico puede hacerse por microscopía de campo oscuro, pero en general en este período el diagnóstico es serológico. Tras la sífilis secundaria, el paciente entra en un período latente durante el cual el diagnóstico sólo se puede hacer mediante pruebas serológicas. La sífilis tardía se desarrolla en más de un tercio de los pacientes no tratados. Aproximadamente el 71% de los pacientes con sífilis tardía presentan pruebas no treponémicas reactivas (la prueba de VDRL presenta títulos bajos o puede negativizarse), pero las pruebas treponémicas casi siempre son reactivas [4].

Las pruebas no treponémicas como la VDRL son las únicas reacciones útiles en el seguimiento serológico del paciente, mostrando la caída gradual del título en la curación o un incremento frente a un tratamiento inadecuado o una reinfección.

La VDRL es una reacción de floculación, en la que el antígeno utilizado está compuesto por colesterol, lecitina y cardiolipinas. Esta prueba no treponémica mide anticuerpos anti lipídicos IgG e IgM, los cuales son formados por el huésped en respuesta al material lipídico liberado de las células del huésped dañadas. A causa del antígeno utilizado, esta prueba puede presentar resultados reactivos en otras condiciones como colagenopatías, parasitosis, drogadicción, embarazo, vejez, entre otras, y tiene gran sensibilidad y baja especificidad.

Las pruebas treponémicas (PT) tales como TP-PA, FTA-abs o MHA-TP usan *T. pallidum* o sus componentes como antígeno son usadas primariamente para verificar la reactividad de las pruebas no treponémicas. Estos ensayos pueden ser utilizados para confirmar una impresión clínica de sífilis en pacientes con resultados no reactivos en ensayos no treponémicos.

Los ensayos treponémicos de uso actual consisten en técnicas que utilizan anticuerpos indirectos, técnicas de hemoaglutinación y aglutinación de partículas. También existen enzimoimmunoensayos como quimioluminiscencia que utilizan proteínas recombinantes de treponema. Las PT permanecen reactivas por muchos años, por ello no son adecuadas para el seguimiento serológico [6].

Las enfermedades de transmisión sexual (ETS), incluidas la sífilis y la infección por el VIH representan un problema de salud pública por su morbilidad y mortalidad.

Por otra parte, la sífilis comparte el mecanismo de transmisión con otras ETS. La coinfección entre sífilis y VIH no es rara en un mismo individuo y puede tener una trascendencia epidemiológica y clínica de gran importancia [7-10]. Otro aspecto importante a tener en cuenta es el posible impacto que la sífilis puede ejercer en la infección por el VIH, en cuanto a la situación inmunoviológica de los pacientes. De estos, los que padecen VIH tienen mayor probabilidad de recaídas [7,11].

Esta enfermedad puede favorecer la transmisión del VIH, probablemente a través de la incidencia aumentada de las úlceras genitales. Por este motivo, la detección y el tratamiento de la sífilis pueden ayudar a reducir la transmisión del VIH. Esta puede presentarse con hallazgos no típicos en pacientes VIH-positivos, como mayor índice de sífilis primaria asintomática y proporcionalmente más pacientes VIH-positivos con enfermedad secundaria. La infección secundaria puede ser más agresiva y hay una mayor tasa de afectación neurológica y oftalmológica temprana [7].

Según el boletín epidemiológico de Agosto del año 2018 publicado por el Ministerio de Salud en Argentina, se notificaron por PT a través del sistema de vigilancia de laboratorio (SIVILA) un total de 297 casos de sífilis en varones y de 445 en mujeres durante el año 2017. Hasta el mes de Junio de 2018 se notificaron un total de 147 casos de sífilis en varones y 256 en mujeres [12].

En la práctica diaria se percibe un aumento de casos de sífilis, por lo tanto se propone evaluar la frecuencia de po-

Tabla I. Total de pacientes ingresados al hospital y solicitudes de serología para sífilis. Distribución según sexo.

AÑO	INGRESOS AL HOSPITAL	SOLICITUDES		MUJERES		HOMBRES	
		n°	% ¹	n°	% ²	N	% ³
2014	192321	1990	1.03	1172	58,89	818	41,11
2015	206389	2305	1.12	1355	58,79	950	41,21
2016	186051	2364	1.27	1385	58,59	979	41,41
2017	167016	2764	1.65	1647	59,59	1117	40,41
2018	-	1611	-	948	58,85	663	41,15

► ¹Porcentaje de solicitudes de serología para sífilis respecto del total de ingresos al hospital.

²Porcentaje de solicitudes de serología para sífilis en mujeres respecto del total de solicitudes.

³Porcentaje de solicitudes de serología para sífilis en hombres respecto del total de solicitudes.

sitividad de los mismos, analizar la coinfección con el VIH y estudiar la distribución según sexo, servicio solicitante y rango etario en el periodo comprendido entre enero de 2014 y julio de 2018, en el hospital Dr. Rossi de la ciudad de La Plata. Se trata de un hospital interzonal general de agudos, que atiende una población mayor a 16 años. No cuenta con servicio de maternidad, pero recibe muestras derivadas de unidades sanitarias que corresponden principalmente a pacientes de ginecología/obstetricia.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo longitudinal. Se recopilaron datos de resultados de serología para sífilis, coinfección con VIH, sexo, edad y servicio solicitante en el período entre enero de 2014 y julio de 2018. Los resultados de la serología para sífilis fueron extraídos del sistema informático del laboratorio (LIS), mientras que los resultados de la serología para VIH fueron tomados de los libros de actas del servicio de Serología.

Se incluyeron pacientes mayores de 16 años, ambulatorios o internados, que concurren al hospital Dr. Rossi, con solicitud de estudio para sífilis, con y sin resultados previos de serologías negativas. Se excluyeron pacientes con diagnóstico conocido de dicha enfermedad.

El diagnóstico se realizó mediante los algoritmos vigentes, los que incluyeron pruebas no treponémicas (VDRL) y pruebas treponémicas (microhemoaglutinación, aglutinación de partículas de gelatina e inmuno-cromatografía) (6). Los resultados se agruparon en positivos, negativos y falsos positivos para sífilis. Se calculó la frecuencia de positividad de dicha enfermedad.

Se registró el porcentaje de coinfección con VIH. Se calcularon porcentajes de casos positivos y se los categorizó según sexo, rango etario y servicio solicitante. En caso de no contar con los datos correspondientes, se los agrupó dentro de la categoría "sin datos" (SD).

Para evaluar la proporción de solicitudes de serología para sífilis respecto al número de pacientes que asistie-

ron al hospital durante el período 2014-2018, se solicitó el registro del total de pacientes en el servicio de Estadística.

Se elaboraron tablas de contingencia de las variables nominales, categorizadas por sexo y diagnóstico de sífilis, y se calcularon los coeficientes de Cramer y Pearson para determinar diferencias significativas con un $p < 0.05$. Para el análisis estadístico se utilizó el programa InfoStat.

Resultados

El número de pacientes por año atendidos en el hospital fluctúa entre 167.016 a 206.389 en los años estudiados, mientras que el total de solicitudes para diagnóstico de sífilis varían entre 1970 (1.03%), en 2014 a 2764 (1.65%) en 2017. La cantidad de mujeres y hombres estudiados entre los años 2014 y 2018 se mantienen entre un 58.59% - 58.89% y 40.41% - 41.41% respectivamente. (Tabla I).

No se cuenta con el total de pacientes correspondiente al 2018 por tratarse del año en curso.

La frecuencia de casos positivos de sífilis fue de 68 (3,42%), 62 (2,69%), 77 (3,26%), 115 (4,16%) y 88 (5,46%) para los años antes mencionados (Figura 1).

Por otro lado, los porcentajes correspondientes a pacientes coinfectados con VIH varían entre 10.23% a 22.58%. (Tabla II).

En los años estudiados, la frecuencia de casos positivos correspondientes a sexo femenino fue de 44%, 18%, 32%, 47% y 50% respectivamente. El aumento de esta frecuencia en mujeres entre 2015 y julio de 2018 presentó diferencias significativas respecto del sexo masculino, con un $p < 0.05$ (Figura 2).

La distribución de las solicitudes de serología para sífilis según los servicios médicos se muestra en la Tabla III. Se agruparon en la categoría "Otros" a los servicios cuyas solicitudes fueron menores al 2% del total.

El total de casos positivos para sífilis según el rango etario muestra el mayor porcentaje, 37%, entre las edades de 16

Figura 1.

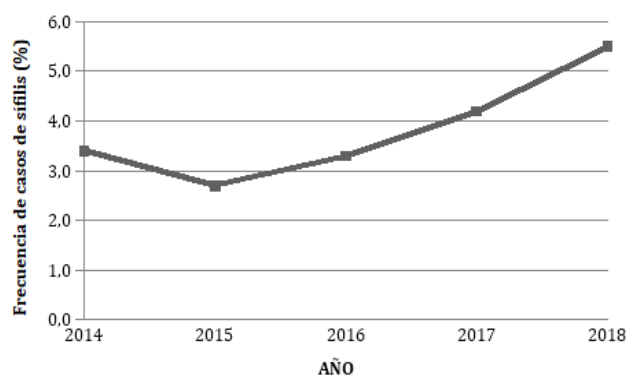


Figura 2.

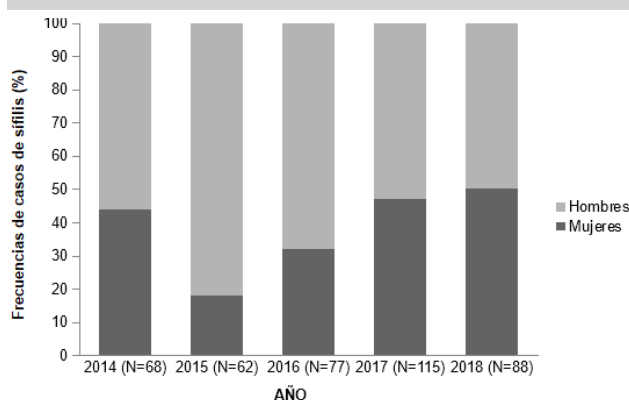
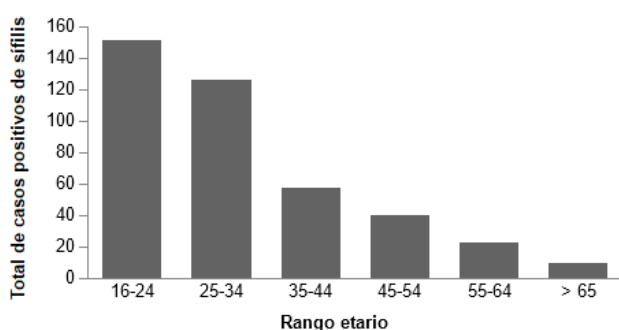


Figura 3.



a 24 años. Si bien, se detectaron casos positivos en todo el rango de edades de la población en estudio, un 68% corresponde a las edades comprendidas entre 16 y 34 años. (Figura 3).

Discusión

Se observó un aumento progresivo de los casos nuevos de sífilis en los últimos cuatro años en la población del hospital Dr. Rossi, principalmente a expensas del predominio de casos en mujeres. Es importante resaltar que la población estudiada incluyó alrededor del 60% de pacientes de sexo femenino, proveniente en su mayoría de ginecología y unidades sanitarias. En otros estudios se incluye un tipo de población diferente, como pacientes de sexo masculino, hombres que tienen sexo con hombres, reclusos o trabajadoras sexuales, por lo que no es posible realizar una comparación fiable [2, 3, 5, 21-23]. Por otro lado, las solicitudes médicas también se incrementaron, lográndose diagnosticar una mayor cantidad de pacientes. Con respecto al elevado porcentaje de casos positivos en el año 2014, se cree que es un valor sobreestimado. Este hecho puede deberse a que previamente no disponíamos del sistema informático de laboratorio y por lo tanto, de los antecedentes de los pacientes, razón por la cual se dificultaba la distinción entre los nuevos diagnósticos y los casos de seguimiento. En cuanto al porcentaje de coinfección con VIH, es similar al encontrado en otros estudios [5, 24-27]. En este caso observamos un 17,6% de coinfección. Estos resultados muestran un comportamiento fluctuante a lo largo de los años estudiados, hecho que no se logró vincular a una causa en particular. En cuanto a los servicios médicos, se observó que el mayor número de solicitudes proviene de clínica médica, dermatología, infectología y unidades sanitarias. Se cree que puede existir una relación con los motivos de consulta más frecuentes reportados por otros autores, como úlceras ano-ano-genitales y/u orales, estudio de contactos y exantemas [5, 21]. Puede agregarse que, si bien no se incluyó en este estudio la diferenciación entre mujeres embarazadas y no embarazadas, se considera que un elevado porcentaje de las solicitudes de las unidades sanitarias correspondían al control ginecológico del embarazo. Sin embargo, es impor-

Tabla II. Porcentaje de casos de coinfección entre sífilis y VIH.

AÑO	NUEVOS DIAGNÓSTICOS DE SÍFILIS	COINFECCIÓN CON VIH	%
2014	68	9	13,24
2015	62	14	22,58
2016	77	15	19,48
2017	115	25	21,74
2018	88	9	10,23
Total	410	72	17,56

Tabla III. Porcentaje de solicitudes respecto a los servicios.

SERVICIO SOLICITANTE	% DE SOLICITUDES
CARDIOLOGIA	2,86
CLÍNICA MÉDICA	29,60
DERMATOLOGIA	10,20
GASTROENTEROLOGIA	3,23
GINECOLOGIA	7,92
INFECTOLOGIA	8,98
UNIDAD SANITARIA	17,00
S/D Y DESCONOCIDOS	10,25
OTROS*	9,96

► *Alergia, Cirugía, Endocrinología, Nefrología, Neumonología, Neurología, Oftalmología, Oncología, Otorrinolaringología, Reumatología, Traumatología, Urología, Unidad de Terapia Intensiva, Unidad de Trasplante de Médula Ósea.

tante tener en cuenta que se contó con un 10% de solicitudes, de las cuales se desconoce el servicio de procedencia. Por último, el rango etario donde se detectó el mayor número de casos se encuentra entre 16 y 30 años, coincidente con la bibliografía consultada. En la literatura se plantea que la sífilis es más frecuente en edades menores a 35 años debido a que es el periodo con mayor actividad sexual [2, 3, 28-31].

Por lo tanto, se llega a la conclusión de que la frecuencia de positividad de sífilis aumentó significativamente en este hospital en el período estudiado, principalmente a expensas del sexo femenino. El porcentaje de coinfección con VIH fue de 17,56%. Se recibieron solicitudes de todos los servicios y de unidades sanitarias, siendo los principales Clínica Médica, Dermatología e Infectología. El rango etario donde se detectó el mayor número de casos se encuentra entre los 16 y 30 años.

Referencias bibliográficas

- Goh B. Syphilis in adults. *Sex Transm Infect.* 2005; 81: 448-452.
- Gómez Rodríguez B, Carrazana Rosello H. Incidencia de la sífilis en el área de salud del municipio. Guisa, enero 2014 – diciembre 2015. *Multimed.* 2017; 21(2).
- Bórquez C, Lobato I, Gazmuri P, Hurtado R, Llanqui V, Vivanco M, et al. Prevalencia del virus de la inmunodeficiencia humana, virus de la hepatitis B y *Treponema pallidum* en reclusos del centro de detención preventiva de Arica, Chile. *Rev chilena infectol.* 2017; 34(5); 453-457.
- Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica (SEIMC). López-Hontangas JL, Frasquet Artes J. Sífilis: una revisión actual. Disponible en [https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisioneste-](https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisioneste-maticas/serologia/sifilis.pdf)
- Fustá X, et al. "Emergencia de la sífilis: estudio descriptivo de pacientes diagnosticados de sífilis en un hospital de tercer nivel entre 2011 y 2015". *Med Clin (Barc).* 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2017.04.024>.
- Ministerio de salud Presidencia de la Nación. Centro Nacional de Referencia de Enfermedades de Transmisión Sexual. INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Manual de técnicas y procedimientos para el diagnóstico de sífilis. Abril 2010.
- Lynn WA, Lightman S. Syphilis and VIH: a dangerous combination. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4:456-66.
- Golden MR, Marra CM, Holmes KK. Update on syphilis: resurgence of an old problem. *JAMA.* 2003; 290:1510-4.
- Arora PN, Sastry CV. VIH infection and genital ulcer disease. *Indian J Sex Transm Dis.* 1992; 13:71-3.
- Parkes R, Renton A, Meheus A, Laukamm-Josten U. Review of current evidence and comparison of guidelines for effective syphilis treatment in Europe. *International Journal of STD & AIDS.* 2004; 15:73-88.
- Cohen MS. When people with VIH get syphilis: triple jeopardy. *Sex Transm Dis.* 2006; 33:149-50.
- Ministerio de salud de la Nación Argentina. Boletín integrado de vigilancia epidemiología N°416 – SE 31 – Agosto de 2018. Disponible en https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/biv_416_se31.pdf
- Tucker JD, Cohen MS. "China's syphilis epidemic: epidemiology proximate determinant of spread, and control responses". *Curr Opin Infect Dis.* 2011; 24:50-5.
- Stamm LV. "Global Challenge of antibiotic-resistant *Treponema pallidum*". *Antimicrob Agent Chemother.* 2010; 54: 583-9.
- Mohammed H, Mitchel H, Sile B, Duffell S, Nardone A, Hughes G. "Increase in sexually transmitted infection among men who have sex with men, England 2014". *Emerg Infect Dis.* 2016; 22: 88-91.
- Repiso B, Frieyro M, Rivas-Ruiz F, de Troya M. "Condom use and number of sexual partners among male syphilis patients who report having sex with men". *Actas Dermosifiliogr.* 2010; 101:847-52.
- Folch C, Munoz R, Zaragoza K, Casabona J. "Sexual risk behaviour and its determinant among men who have sex with men in Catalonia, Spain". *Euro Survail.* 2009; 14.
- Berdasquera Corcho D, Lazo Alvarez MA, Galindo Santana BM, Gala Gonzalez A. "Sífilis: pasado y presente". *Rev cubana Hig Epidemiol.* 2014; 42(2)
- Schryver A, Mehers A. "Epidemiología de las enfermedades de transmisión sexual. Panorama Mundial". *Bol of Sanit Panama.* 1993; 114 (1): 1-14.
- Ruiz-Sancho A, Barreiro P, Castellares C, Labarga P, Ramos B, García-Samaniego J, et al. "Outbreak of syphilis but not of acute hepatitis C, among HIV infected homo-

- sexual men in Madrid". *HIV Clin Trials*. 2007; 8: 98-101.
21. González Domenech CM, et al. "Sífilis e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana: una endemia en hombres que tenían sexo con hombres". *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015; 33 (1): 32-36.
 22. Smolak A, et al. "Trends and predictors of Syphilis Prevalence in the general population: Global Pooled Analyses of 1103 prevalence measures including 136 million syphilis tests". *Clinical Infectious Disease*. 2018; 66 (8): 1184-91.
 23. Yang T, Chen Q, Li D, Wang T, Gou Y, Wei D, Tao C. "High prevalence of syphilis, HBV and HCV coinfection, and low rate of effective vaccination against Hepatitis B in HIV-infected patients in West China Hospital". *Journal of Medical Virology*. 2017.
 24. Mutua FM, M'umunya JM, Wiysonge CS. Genital ulcer disease treatment for reducing sexual acquisition of HIV. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;8:CD07933.
 25. Mutagoma M, Nyirazinyoye L, Sebuhoza D, Riedel JD, Ntaganira J. "Syphilis and HIV prevalence and associated factors to their coinfection, hepatitis B and hepatitis C viruses prevalence among female sex workers in Rwanda". *BMC Infectious Disease*. 2017; 17:525.
 26. Dai W, et al. "Prevalence of HIV and syphilis coinfection and associated factors among non-commercial men who have sex with men attending a sexually transmitted disease clinic in Shenzhen, China". *BMC Infectious Disease*. 2017; 86.
 27. Mesquita Callegari F, et al. "Syphilis and HIV-coinfection in patients who attend an AIDS outpatient clinic in Vitória, Brazil". *AIDS Behav*. 2014; 18: 104-109.
 28. Engलगau MM, Woernle CH, Rolfs RT, Greenspan JR, O' Cain M, Gorsky RD. "Control of epidemic early syphilis: the results of an intervention campaign using social network". *Sex Transm Dis*. 1995; 22 (4): 203-9.
 29. Starling SP. "Syphilis in infants and young children". *Pediatr Ann*. 1994; 23 (7): 334-40.
 30. La O Planes M. "Evaluación y control de sífilis en el municipio Guantánamo, 2001". *Bol Epidemiol Sem IPK*. 2002; 12 (29).
 31. Betancourt I, Leyva I, Moya M. "Comportamiento de las infecciones de transmisión sexual en el área de La Caoba. *Rev cubana Enfermer*. 2002; 18 (2): 92-7.

REVISIÓN

Biología aplicada a la salud: el caso de la Esclerosis Múltiple. PARTE 1

Báez, Francisco; Cardini Rocca, Juan Martín; Ferrari, Irina Jazmín; Llanos, Macarena; Elías, María Jose ina; Sterin Prynck, Aída Edith.

Departamento de Bioquímica Aplicada, Instituto Universitario del Hospital Italiano, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

La revisión es un trabajo conjunto realizado para la asignatura Biotecnología del último año de Bioquímica, del Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina

Dirección de correspondencia: aida.sterin@hospitalitaliano.org.ar

Resumen

La Esclerosis Múltiple es una enfermedad crónica del sistema Nervioso Central que hasta ahora no tiene un tratamiento curativo. En esta revisión se han repasado los aportes de la biotecnología al diagnóstico, tratamiento y detección de nuevos blancos terapéuticos de esta compleja patología.

Palabras clave: Esclerosis Múltiple, sistema nervioso central, Biofármacos, terapias biológicas, biomarcadores, microbiota, trasplante de células madre hematopoyéticas.

Abstract

Multiple Sclerosis is a central nervous system chronic disease that until now has no curative treatment. In this paper, we review the contributions of biotechnology to the diagnosis, treatment and detection of new therapeutic targets of this complex pathology.

Keywords: Multiple Sclerosis, central nervous system, biopharmaceutics, biological therapy, biomarkers, microbiota, hematopoietic stem cell transplantation.

¿A que llamamos Biotecnología?

En el documento “Inventario diagnóstico de las biotecnologías en MERCOSUR y comparación con la Unión Europea / BIOTECH ALA-2005-017-350-C2” llamado “Manual de Indicadores de Biotecnología” [1], Mario Albornoz y colaboradores han considerado que “la biotecnología es un campo fuertemente transversal y heterogéneo, que implica la utilización de diferentes técnicas provenientes de distintas disciplinas y con muy variados campos de aplicación”.

En dicho documento se proporcionó una definición de mucho interés que resume las propuestas de la OTA-USA (1981), la Organización para la Comercialización y Desarrollo Económico OCDE (OECD por sus siglas en inglés) (1982) y la CEPA-Canadá (1985), según la cual “la biotecnología es la aplicación de la ciencia y la ingeniería al uso, directo o indirecto, de organismos vivos (o parte de ellos), en sus formas naturales o modificadas, de una forma innovadora, para la producción de bienes y servicios o para la mejora de procesos industriales existentes. Incluye la implementación de varias herramientas modernas surgidas de la genética, la bioquímica, la inmuoquímica, la ingeniería química, como las tecnologías de ADN recombinante entre otras tecnologías de bioprocesamiento”.

Da Silva[2] clasifica las distintas aplicaciones que fueron surgiendo en relación a la biotecnología, en distintos colores (Figura 1).

Cabe señalar que, a partir de 1953, con la definición de la estructura del ADN, en relativamente poco tiempo; se sucedieron avances tecnológicos que, convergiendo con el desarrollo de las ciencias biológicas, permitieron la emergencia de la biotecnología con un importante potencial disruptivo en muchos aspectos. Estas tecnologías aplicadas a la salud determinaron avances invaluable que se fueron transformando en herramientas estratégicas para el diagnóstico y tratamiento de patologías. Entre las herramientas más disruptivas se encuentran: la tecnología de ADN recombinante, el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa, el desarrollo de anticuerpos monoclonales, la generación de las primeras líneas de células madre embrionarias humanas, las técnicas automatizadas de secuenciación, la obtención de la secuencia completa del genoma humano, la producción de proteínas recombinantes, el desarrollo de las células madre pluripotentes inducidas, el nacimiento de la terapia celular y regenerativa, la terapia génica, el desarrollo de herramientas de diagnóstico molecular y el hallazgo de nuevos marcadores moleculares. Estos avances se han convertido en alternativas estratégicas para el diagnóstico y tratamiento de una gran variedad de enfermedades graves y crónicas que afectan la calidad de vida del paciente, en particular, para aquellas con una aproximación terapéutica compleja, como es el caso de la Esclerosis Múltiple (EM).

Figura 1. Clasificación de las distintas aplicaciones de la Biotecnología según Da Silva [2].



Tabla I. Algunos de los diferentes tipos celulares que tienen un rol necesario en el desarrollo de la fisiopatología de la enfermedad.

Tipo celular	Sub tipo celular	Son activadas/ diferenciadas por	Producen	Mecanismo de acción
Linfocitos T4	Linfocitos T CD4+ T helper 1 (Th1)	Interleuquina 12 (IL-12).	Factor de transcripción Tbet.	Tbet regula la expresión génica de Interferón gamma (IFN γ).
	Linfocitos T CD4+ T helper 17 (Th17)	Factor de Crecimiento a Transformante y las Interleuquinas IL-6, 21 o 23. B1 (TGF b1).	Factor de transcripción ROR γ t.	Regula a la expresión de Interleuquina IL-17.
	Linfocitos T CD8+ Son más abundantes que los CD4+ en las placas de enfermos con EM.		Tumor Necrosis Factor alfa (TNFalfa) e Interferón γ (IFN γ) en grandes cantidades.	TNFalfa afecta la estructura y funcionalidad de la membrana neuronal induciendo su apoptosis. IFN γ genera la muerte neuronal por neurotoxicidad.
Linfocitos B4	Linfocitos B CD20+	Moléculas antigénicas	Autoanticuerpos contra mielina y citoquinas pro inflamatorias como TNFalfa	Neuro- toxicidad Neuro- degeneración. Desmielinización.
Microglía y macrófagos⁴	Microglía	Citoquinas y productos de degradación de mielina.		Afecta la integridad de la barrera hematoencefálica y atrae macrófagos periféricos al SNC.
	Macrófagos		Moléculas con actividad neurotóxica como TNF alfa.	Neuro- degeneración.
Astroцитos⁴		Citoquinas y productos de degradación de mielina.	Cantidades importantes de CCL-2 y TNF alfa.	Promueven la actividad inflamatoria del SNC.
Oligodendrocitos⁴		Estímulos tóxicos, traumáticos e inflamatorios.	Controlan la producción y mantenimiento de la mielina en el SNC.	

Esclerosis Múltiple

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad desmielinizante crónica del Sistema Nervioso Central (SNC). Constituye una de las principales causas de discapacidad en la población adulta joven. Si bien su etiología es aún incierta, en su patogénesis estaría involucrada una compleja interacción entre factores ambientales y genéticos no dilucidados completamente [3].

Su histopatología clásicamente muestra una infiltración perivascular de células del sistema inmunológico a través de la barrera hemato-encefálica. Estas células invaden el parénquima encefálico y provocan desmielinización mediante la destrucción directa de la mielina, activando una reacción inflamatoria local mediada por la microglía residente, o causando la apoptosis oligodendrocitaria por mecanismos tóxicos locales [4] (Tabla I).

Fármacos utilizados para el tratamiento de la Esclerosis Múltiple

Los fármacos que se utilizan para el tratamiento de EM se resumen en la tabla II. En general, tienen un efecto principalmente antiinflamatorio y son más efectivos en la etapa temprana de la enfermedad [5].

De los fármacos descritos como tratamiento para la EM en la Tabla II, cinco (interferon beta, natalizumab, alemtuzumab, daclizumab, ocrelizumab) [16] son Biofármacos [6].

Aplicaciones de herramientas biotecnológicas en el diagnóstico y tratamiento de la Esclerosis Múltiple

Biofármacos ¿Qué son y cómo se producen?

La Agencia Europea de Medicamentos (EMA/74562/2006) define Medicamento Biológico (MB) como aquél cuyo principio

Tabla II. Principales fármacos utilizados para el tratamiento de la Esclerosis Múltiple.

FÁRMACO
• INTERFERON BETA (aprobado en 1993-1996) ¹
• ACETATO DE GLATIMARER (aprobado en 1996) ²
• MITOXANTRONA (Aprobado en 2000) ³
• NATALIZUMAB (Aprobado en 2004) ⁴
• FINGOLIMOD (Aprobado en 2010) ⁵
• TERIFLUNOMIDA (Aprobado en 2012) ⁶
• DIMETIL FUMARATO (Aprobado en 2013) ⁷
• ALEMTUZUMAB (aprobado en 2014) ⁸
• DACLIZUMAB (aprobado en 2016) ⁹
• OCRELIZUMAB (aprobado en 2017) ¹⁰

él. Los Medicamentos Biotecnológicos son aquellos MB producidos por técnicas de ADN recombinante o tecnología de hibridación (anticuerpos monoclonales). Los Medicamentos Biotecnológicos se llaman “Biofármacos” o “Productos Farmacéuticos Biotecnológicos”.

Los organismos vivos utilizados para producir el principio activo de un Biofármaco pueden ser bacterias, células de mamífero, células de insectos, levaduras, algas, plantas o animales, a los que se les transfiere, mediante técnicas de ingeniería genética, el gen que codifica para el principio activo deseado. Cada sistema biológico-productivo (organismos vivos), utilizados por la industria farmacéutica, tiene sus características particulares de costo: beneficio. (Tabla III).

Durante el desarrollo de un nuevo Biofármaco, se evalúa cuál de los sistemas biológico-productivos es el apropiado teniendo en cuenta, principalmente, las características moleculares del principio activo, por ejemplo: si la proteína nativa es glicosilada y si su glicosilación es importante para su actividad biológica in vivo, también se evalúa la cantidad de Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) necesario por dosis; los potenciales contaminantes que pueden generarse, etc.

En las tablas IV y V, se puede observar que hay una gran diferencia en la cantidad de principio activo por dosis necesaria para los distintos tratamientos de EM, esto está relacionado entre otras variables, con la actividad específica de cada proteína [actividad biológica / mg de proteína] [6].

En la tabla IV, vemos por ejemplo que el Interferón beta 1a es glicosilado, al igual que la proteína nativa, por lo tanto, el sistema óptimo de expresión son las células de mamífero (Tabla III), en cambio el Interferón beta 1b carece de glicosilación y es producido en bacterias. El hecho de que la proteína sea diferente a la nativa impacta en la actividad biológica, esto implica que es necesaria una cantidad mayor de IFA por dosis para alcanzar el mismo efecto.

Los anticuerpos monoclonales, además de ser proteínas glicosiladas, requieren concentraciones por dosis hasta 1000 veces mayores que otras proteínas recombinantes, por ejemplo, 300 mg de Natalizumab *versus* 0,30 mg de Interferón beta 1a (Tablas IV y V). Esto tiene doble implicancia, a nivel del sistema biológico - productivo, es necesario 1000 veces más cantidad de IFA para igual cantidad de dosis de producto final, a nivel fisiológico, los riesgos relacionados con la potencial inmunogenicidad del principio activo es mayor al aumentar la concentración por dosis.

Bioterapias

Dentro de las Bioterapias, se revisaron la terapia celular y los hallazgos a nivel de microbiota intestinal.

Tabla III. Comparación de sistema de expresión para la producción de Biofármacos.

CARACTERÍSTICA / HUÉSPED	BACTERIAS	LEVADURAS	INSECTOS	CEL. MAMÍFERO
Facilidad de uso				
Costos del medio y equipamiento				
Solubilidad				
Modificaciones post traduccionales				
Tiempo requerido				
Niveles de expresión				

Terapias celulares. Trasplante de Células Madre Hematopoyéticas.

Las células madre hematopoyéticas representan el 0,01 % de la población de la médula ósea y son capaces de restablecer de manera duradera la hematopoyesis después de una terapia mieloablativa, ya que pueden dar origen a todos los elementos de la sangre.

El trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) se utiliza para restablecer la función medular e inmune en pacientes con una variedad de enfermedades malignas hematológicas, enfermedades de la médula ósea no malignas adquiridas, enfermedades genéticas asociadas con una anormal hematopoyesis o alteración en la función medular, y como soporte de pacientes que reciben quimioterapia en altas dosis.

Tipos de trasplante:

- Autólogo: cuando las células provienen del mismo enfermo.
- Alogénico: es el trasplante en el que las células provienen de otro individuo sano inmunocompatible con el paciente.

Antecedentes en relación a la Esclerosis Múltiple

La potencial eficacia terapéutica de las células madre hematopoyéticas se apoya en diferentes ensayos realizados [7].

En 1995, el TCMH fue sugerido como tratamiento de la EM considerando que esta enfermedad es autoinmune y basándose en la evidencia obtenida en modelos de Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE) inducida en ratones.

El TCMH autólogo en EM se basa en usar quimioterapia para inducir inmunoblación con la subsecuente reconstitución del sistema inmune con células propias tolerantes.

En el 1997, el TCMH se utilizó en pacientes con una forma primaria progresiva de la enfermedad (EMPP) en centros euro-

peos, que comenzaron a publicar los resultados de sus ensayos clínicos con más de 15 pacientes.

En 1998 se llevó a cabo en Milán el consenso de Células Madre Hematopoyéticas (CMH) en EM y se concluyó que la eficacia del TCMH sólo podría ser determinada en un estudio multicéntrico, prospectivo, fase III, comparativo y controlado, que evalúe si existe un beneficio en contraste con las opciones terapéuticas actuales. El consenso de Italia fundó cimientos para protocolos de TCMH, con criterios precisos, descritos por Comi y colaboradores en el año 2000 "Guidelines for autologous blood and marrow stem cell transplantation in multiple sclerosis: a consensus report written on behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Charcot Foundation. BMT-MS Study Group".

En 2002 se realizó un estudio multicéntrico retrospectivo, de bases de datos del European Blood and Marrow Transplant Group (EBMT) sobre 85 pacientes a los que se trató con CMH autólogas en 20 centros hospitalarios [17].

Con fundamento en este y otros estudios más pequeños, el TCMH autólogo, previa supresión del sistema inmune fue propuesto como una forma de tratamiento para estabilizar la enfermedad.

En su artículo "Hematopoietic stem cell transplantation for multiplesclerosis: ¿is it a clinical reality?", Bakhuraysah y colaboradores [17] resumen los resultados de estudios realizados por distintos investigadores de distintos países. En Rusia Shevchenko y colaboradores [8] realizaron TCMH con alta dosis de inmunosupresión en 99 pacientes, 98 mostraron estabilización neuronal después de seis meses del trasplante y mejoría en la escala de discapacidad. No se registró ninguna muerte post-trasplante. En Suecia (MS Center), Bowen y colaboradores [9]

Tabla IV. Biofármacos – proteínas recombinantes utilizados en Esclerosis Múltiple. Principales características de las proteínas recombinantes desarrolladas por técnicas biotecnológicas para el tratamiento de la EM.

Interferones (proteínas recombinantes)	
Está aprobado para el tratamiento de la Esclerosis Múltiple en sus formas recombinantes 1b y 1a.	
Interferón beta 1b	Interferón beta 1a
Blanco: Matrix metaloproteinase MMP	
Sistema productivo: se produce en bacterias <i>Escherichia coli</i>	Sistema productivo: se produce en células de mamífero: fibroblasto de células de ovario de hámster (CHO)
Característica molecular: no se encuentra glicosilado y tiene un aminoácido cambiado: una serina sustituye a una cisteína en la posición 17	Característica molecular: Está glicosilado, es muy similar al Interferón beta que se produce en el organismo en forma natural
Vía de administración: subcutánea (SC)	Vía de administración: intramuscular (IM)
Dosis: 0,250 mg / día cada dos días (0,750 mg / semana)	Dosis: 0,30 mg una vez por semana
Actividad específica: 32 millones UI/mg	Actividad específica: 200 millones UI/mg.

reportaron la eficiencia y seguridad del tratamiento afirmando que la mejora en la calidad de vida fue notable. En Brasil, Guimarães y colaboradores [10] afirmaron que, si bien el trasplante conlleva complicaciones en el procedimiento, el impacto es positivo ya que observaron un 67 % de supervivencia libre de progresión en los tres años siguientes al trasplante y mejora en la calidad de vida. Por último, en Grecia, Fassas y colaboradores [11] analizaron un grupo de 35 pacientes, demostrando que el trasplante es una terapia útil para los casos agresivos, pero no es recomendada en la totalidad de los pacientes con EM. Registraron dos muertes por complicaciones post trasplante.

En resumen, según estos trabajos [17] con TCMH se logra:

- Evitar lesiones neuronales posteriores al trasplante.
- Mejorar la calidad de vida del paciente en comparación con el tratamiento de referencia actual (Natalizumab).
- Disminuir las infecciones por virus u hongos.
- Disminuir la autoinmunidad sin tener que erradicar la totalidad de las células hematopoyéticas del paciente.

La microbiota como blanco terapéutico

Icaza-Chávez [2013] [12] describió en su artículo “Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad” que el término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado. La microbiota residente en el intestino humano es una de las comunidades más densamente pobladas, incluso más que el suelo, el sub-

suelo y los océanos. En el intestino grueso de los mamíferos la cifra de microorganismos se eleva a 10^{12} - 10^{14} . Este número es mayor, incluso, que el de células humanas [13]. El ecosistema microbiano del intestino (microbiota intestinal) incluye muchas especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal, y una serie variable de microorganismos que sólo lo hacen de manera transitoria. Al conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos se les denomina microbioma. El microbioma humano se refiere a la población total de microorganismos con sus genes y metabolitos que colonizan el cuerpo humano, incluyendo el tracto gastrointestinal, el genitourinario, la cavidad oral, la nasofaringe, el tracto respiratorio y la piel.

El Proyecto del Microbioma Humano ha identificado aproximadamente al 30 % de la microbiota intestinal [14] y, junto con el proyecto Metagenómica del Tracto Intestinal Humano en Europa y muchos otros grupos, trabaja activamente para identificar a todos los genes de la microbiota.

A las alteraciones de la microbiota intestinal y la respuesta adversa del huésped a estos cambios se le ha denominado disbiosis. La disbiosis se ha asociado con afecciones tan disímiles como el asma, las enfermedades inflamatorias crónicas, la obesidad [15].

Para determinar si la EM se encuentra asociada con el cambio de la microbiota habitual, Chen y colaboradores [16] analizaron 31 muestras de materia fecal en pacientes con EM Re-

Tabla V. Biofármacos –Inmunoterapéuticos utilizados en Esclerosis Múltiple. Principales características de los anticuerpos monoclonales desarrolladas por técnicas biotecnológicas para el tratamiento de la EM.

Anticuerpos monoclonales	
Natalizumab Blanco terapéutico: anticuerpo monoclonal dirigido contra α 4-integrina, inhibe la adherencia de los leucocitos activados al endotelio inflamado	Alemtuzumab Blanco terapéutico: anticuerpo monoclonal dirigido contra células CD52, antígeno de superficie presente en linfocitos T y B
Sistema productivo: Se produce en células de mieloma murino NS/O, que crecen en suspensión	Sistema productivo: Se produce en fibroblastos obtenidos de ovario de hamster (CHO), crecen adheridas a una superficie
Dosis: Infusión de 300 mg cada cuatro semanas	Dosis: 12 mg / día por cinco días consecutivos, y un año después 12 mg / día por tres días consecutivos
Vía de administración: Intravenosa	Vía de administración: Infusión intravenosa
Daclizumab: Blanco terapéutico: anticuerpo monoclonal dirigido a la subunidad α del receptor de la IL2	Ocrelizumab: Blanco terapéutico: anticuerpo monoclonal dirigido al antígeno CD20 presente en linfocitos B provocando citotoxicidad. Primer Biofármaco para la forma más agresiva de la enfermedad (EMPP) entre el 10 y el 15 por ciento de los casos de EM
Sistema Productivo: Se produce en células de mieloma murino NS/O, que crecen en suspensión	Sistema Productivo: Se produce en fibroblastos de obtenidos de ovario de hámster (CHO), crecen adheridas a una superficie
Dosis: 150 mg una vez por mes	Dosis: -Inicial: 300 mg (segunda dosis luego de dos semanas). -Mantenimiento: 600 mg cada 6 meses
Vía de administración: subcutánea	Vía de administración: infusión intravenosa

mitente - Recurrente (EMRR). El análisis se realizó mediante el programa IM_TORNADO que comparó los resultados obtenidos entre la microbiota de controles normales con pacientes de EM.

Se realizaron secuencias de pares de bases del genoma bacteriano (hasta 250 pares de bases) activando las secuencias finales de un fragmento de material genético. Esto permite obtener secuencias alineables y de alta calidad llamadas secuencias de extremos apareados.

Las secuencias de extremos apareados facilitan la detección de rearrreglos genómicos y elementos repetitivos en una secuencia.

Chen y colaboradores [26] describieron que en pacientes con EMRR se obtuvo una microbiota intestinal con distinta proporción de cepas bacterianas en comparación al grupo control. Los pacientes con EMRR demostraron tener al menos dos veces más *Pseudomonas*, *Pedobacter*, *Blautia*, *Dorea* y *Mycoplana* en su microbiota y al menos dos veces menos *Adlercreutzia*, *Collinsella*, *Lactobacillus* y *Parabacteroides* en comparación con el grupo control. Otro dato que encontró el estudio fue la correlación entre la microbiota intestinal y el estadio de la enfermedad, puesto que las proporciones de la microbiota son diferentes en pacientes en remisión o recidiva.

Si los datos se confirman podrían contemplarse tratamientos complementarios, como cambios en la alimentación, agregado de pre probióticos para favorecer la microbiota que se considere "normal".

Marcadores genéticos

En medicina, el término "biomarcador" refiere al indicador del estado particular de una enfermedad. Muchos se relacionan con la actividad de genes específicos que codifican las proteínas implicadas en la inflamación, o ligadas al seguimiento de la respuesta a terapias modificadoras de la enfermedad. Los genes que se expresan de manera diferente en la EM se pueden convertir en biomarcadores para diagnóstico, seguimiento o eventual tratamiento.

Wang y colaboradores [17] describieron al gen de la subfamilia 1 grupo H miembro 3 (NR1H3) como posible nuevo marcador genético relacionado con la EM; para su investigación parten de dos premisas:

- Que estudios familiares y de gemelos con EM, han demostrado la existencia de un componente genético implicado en la enfermedad.
- Que la identificación de genes y mutaciones responsables de las formas mendelianas de enfermedad proporciona una visión mecanicista de la ontología de la enfermedad.

Con estas dos premisas planteadas, la estrategia de análisis fue buscar a una familia con múltiples incidentes de EM. La familia analizada tenía tres generaciones, con datos de ADN de 9 ellos, y 5 con la enfermedad ya diagnosticadas.

La técnica elegida para el análisis fue *Exome sequencing*. Este análisis tiene la particularidad de ser una técnica de secuenciación específica hacia los exones del material genético estudiado. Esta secuenciación es un *gold estándar* a la hora de

estudiar variaciones genéticas responsables de lo que se llaman enfermedades de transmisión Mendeliana.

Según los resultados que obtuvieron, los autores describieron que se encontró una variación que se observó únicamente en los pacientes diagnosticados con EM: la NR1H3.

Se analizó una segunda familia con múltiples incidentes de EM que manifestaron la misma variación.

Datos del estudio genético

El gen NR1H3 codifica para un receptor nuclear x hepático α (LXR α) que forma un complejo con el receptor X retinoide alfa (RXRA). Esta dimerización desencadena una secuencia de señales que están involucradas en el control de la regulación de la transcripción de los genes relacionados con la homeostasis de los lípidos, inflamación e inmunidad innata. Cuando se produce la mutación pArg415Gln, (un cambio de glutamina por arginina en la posición 415 de este gen) se genera un cambio conformacional en el receptor impidiendo la dimerización. Al no producirse la dimerización no hay un control de la inflamación, ni del sistema inmune que elimine los mediadores proinflamatorios y, como consecuencia, hay una respuesta inflamatoria intensificada que daña las vainas de mielina.

Análisis transcripcional

Se mutó artificialmente Arg415Ala para ver la importancia de este residuo en el proceso de dimerización y se observó que hay una disminución de las funciones [27].

La mutación identificada provoca una disminución de ABCA1 en LXRA afectando a la transcripción y provocando una pérdida de la función.

Los pacientes con dicha mutación (incidencia de < 1 por cada 1000 pacientes), presentan una respuesta inflamatoria exacerbada en el sistema nervioso, y un proceso de remielinización de axones limitado, ya que sus genes periféricos de mielina están mal regulados, resultando en desmielinización crónica, pérdida de neuronas y la progresión de la enfermedad. Otros estudios en los que han tratado a ratas con agonistas de LXR y provocando la reversión de los síntomas clínicos, la inflamación celular y la desmielinización [27].

La conclusión de los autores es que esta mutación que desregula la transcripción está involucrada en la EM Progresiva.

El artículo de Wang y colaboradores [27] fue publicado en Junio de 2016 y generó, inmediatamente, discusión y controversia. Varios investigadores analizaron los datos publicados frente a bases de datos públicos de la Exome Aggregation Consortium (ExAC; <http://exac.broadinstitute.org>) [18] y en The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium [19] y sus conclusiones fueron que la diferencia de ésta mutación con los controles de dichas bases de datos no fue significativa, por lo tanto NR1H3 no podría considerarse un marcador ligado a la EM.

La respuesta de Wang y colaboradores [20] no se hizo esperar y en diciembre publicó un artículo en la misma revista, explicando que el abordaje comparativo que hicieron las dos instituciones fue realizado como caso-control y no puede analizarse de la misma manera cuando se trata de un estudio fami-

liar. Wang insistió en que el resultado es válido y que debe confirmarse comparando datos con otros estudios familiares.

La discusión quedó planteada como una discrepancia metodológica y durante 2017 no se profundizó; sin embargo, la controversia en cuanto a la interpretación de los resultados obtenidos, en la investigación sobre el Receptor Nuclear NR1H3 en la EM Familiar es muy interesante porque la informática y las comunicaciones permiten discusiones de resultados prácticamente en tiempo real. La importancia de los resultados amerita el seguimiento hasta que se confirmen o rechacen las diferentes hipótesis.

Conclusión

Lo que surge del análisis de los diferentes artículos, es el importante rol que tuvo y tiene la biotecnología como generador de desarrollos que aportan alternativas, tanto en la detección de nuevos blancos diagnósticos/terapéuticos, como en la búsqueda de nuevos Biofármacos que mejoren la calidad de vida de los pacientes [6].

En relación a las bioterapias como el TCMH, si bien es necesario tener los resultados de un estudio multicéntrico fase III, hay centros importantes donde investigadores experimentados han llevado a cabo ensayos clínicos con resultados prometedores en relación a la mejora en la calidad de vida de los pacientes [17].

El estudio de la microbiota digestiva, es un punto de vista diferente y atractivo. Esta tecnología ha avanzado mucho en los últimos años y es un dato que, si bien requiere el análisis de mayor cantidad de casos, no se puede dejar de tener en cuenta a la hora de tratar a un paciente [26].

En la parte 2 de este artículo se profundizará sobre las características de los Biofármacos inmunoterapéuticos, así como sobre los resultados publicados en 2017 de un estudio multicéntrico internacional fase II con 5 años de seguimiento post trasplante, con resultados alentadores, se analizará la relación entre la microbiota intestinal y el SNC y se discutirá sobre otros tipos de biomarcadores.

Los avances biotecnológicos son permanentes, por lo que es imprescindible seguir actualizando y revisando la información en el futuro.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Marcelo Kauffman, a la Dra. Susana Llesuy, al Dr. Miguel De Cristófano, y a la Dra. Adriana Carlucci por su colaboración en la corrección de este artículo.

Referencias bibliográficas

1. Centro Redes para el Programa Biotech. Inventario de Capacidades en Biotecnología. 2007;122.
2. Dasilva EJ. The colours of biotechnology: Science, development and humankind. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2004;7(3).
3. Dyment, D.A., G.C. Ebers and ADS. Genetics of multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2004;3(2):104–10.
4. Quintana FJ. Inmunopatología de la Esclerosis Múltiple. *Medicina [B Aires] [Internet]*. 2014;(74):404–10. Available from: http://www.redalyc.org/pdf/106/10638613.pdf?origin=publication_detail
5. Thieman WJ, Palladino MA. Introducción a la biotecnología [Internet]. Pearson Educaci{ó}n; 2010. Available from: <https://books.google.com.mx/books?id=NSnqZwEACAAJ>
6. Torkildsen O, Myhr KM, Bø L. Disease-modifying treatments for multiple sclerosis - a review of approved medications. *Eur J Neurol*. 2016;23:18–27.
7. Dhib-Jalbut S, Marks S. Interferon- β mechanisms of action in multiple sclerosis. *Neurology*. 2010;74(SUPPL.).
8. Rizvi SA, Kim E, Moodie J. Glatiramer in the treatment of multiple sclerosis. *Int J Nanomedicine*. 2006;1(3):283–9.
9. Martinelli V, Radaelli M, Straffi L, Rodegher M, Comi G. Mitoxantrone: benefits and risks in multiple sclerosis patients. *Neurol Sci [Internet]*. 2009;30(2):167. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-009-0142-7>
10. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galletta SL, Radue E-W, et al. Natalizumab plus Interferon Beta-1a for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med [Internet]*. 2006;354(9):911–23. Available from: https://www.lib.uwo.ca/cgi-bin/ezpauthn.cgi?url=http://search.proquest.com/docview/223926144?accountid=15115%5Cnhttp://vr2pk9sx9w.search.serialssolutions.com/?ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&rft_id=info:sid/ProQ:nursing&rft_val_fmt=info:ofi
11. Mitchell P, Med M, Wriedt C, Graves S, Phil D, Staples MP, et al. A Placebo-Controlled Trial of Oral Fingolimod in Relapsing Multiple Sclerosis. *Sci York*. 2009;557–68.
12. Miller AE, Wolinsky JS, Kappos L, Comi G, Freedman MS, Olsson TP, et al. Oral teriflunomide for patients with a first clinical episode suggestive of multiple sclerosis (TOPIC): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol [Internet]*. Elsevier; 2017 Jan 30;13(10):977–86. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70191-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70191-7)
13. Linker RA, Gold R. Dimethyl Fumarate for Treatment of Multiple Sclerosis: Mechanism of Action, Effectiveness, and Side Effects. *Curr Neurol Neurosci Rep [Internet]*. 2013;13(11):394. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11910-013-0394-8>
14. Coles AJ. Alemtuzumab Therapy for Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics*. 2013;10(1):29–33.
15. Kappos L, Wiendl H, Selmaj K, Arnold DL, Havrdova E, Boyko A, et al. Daclizumab HYP versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med [Internet]*. 2015;373(15):1418–28. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1501481>
16. Sorensen PS, Blinkenberg M. The potential role for ocrelizumab in the treatment of multiple sclerosis: Current evidence and future prospects. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2016. p. 44–52.
17. Bakhuraysah MM, Siatskas C, Petratos S. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: is it a clinical reality? *Stem Cell Res Ther [Internet]*. 2016;7(0c-

- tober]:12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26772391><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4715306>
18. Shevchenko JL, Kuznetsov AN, Ionova TI, Melnichenko VY, Fedorenko DA, Kurbatova KA, et al. Long-term outcomes of autologous hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning in multiple sclerosis: physician's and patient's perspectives. *Ann Hematol* [Internet]. 2015;(2015):1149–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25711670>
 19. Bowen JD, Kraft GH, Wundes A, Guan Q, Maravilla KR, Gooley TA, et al. Autologous hematopoietic cell transplantation following high-dose immunosuppressive therapy for advanced multiple sclerosis: Long-term results. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(7):946–51.
 20. Guimaraes FA, Oliveira-Cardoso EA, Mastropietro AP, Voltarelli JC, Santos MA. Impact of autologous hematopoietic stem cell transplantation on the quality of life of patients with multiple sclerosis. *Arq Neuropsiquiatr* [Internet]. 2010;68(4):522–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20730303>
 21. Fassas A, Kimiskidis VK, Sakellari I, Kapinas K, Anagnostopoulos A, Tsimourou V, et al. Long-term results of stem cell transplantation for MS: A single-center experience. *Neurology*. 2011;76(12):1066–70.
 22. Icaza-Chávez ME. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Rev Gastroenterol México* [Internet]. 2013;4(78):240–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rgmx.2013.04.004>
 23. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 1998;95(12):6578–83. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.95.12.6578>
 24. NIH HMP Working Group TNHW, Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res* [Internet]. 2009;19(12):2317–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19819907><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2792171>
 25. Loh G, Blaut M. Role of commensal gut bacteria in inflammatory bowel diseases. *Gut Microbes*. 2012;3(6):544–55.
 26. Chen J, Chia N, Kalari KR, Yao JZ, Novotna M, Soldan MMP, et al. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016;6:28484. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27346372><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4921909>
 27. Wang Z, Sadovnick AD, Traboulsee ALL, Ross JPP, Bernales CQ, Encarnacion M, et al. Nuclear Receptor NR1H3 in Familial Multiple Sclerosis. *Neuron*. 2016;90(5):948–54.
 28. Erratum: NR1H3 p.Arg415Gln Is Not Associated to Multiple Sclerosis Risk [*Neuron* (2016) 92(2) (333–335)](S0896627316306948)[10.1016/j.neuron.2016.09.052]]. *Neuron*. 2016. p. 929.
 29. Minikel EV, MacArthur DG. Publicly Available Data Provide Evidence against NR1H3 R415Q Causing Multiple Sclerosis. *Neuron*. 2016;92(2):336–8.
 30. Wang Z, Sadovnick AD, Traboulsee AL, Ross JP, Bernales CQ, Encarnacion M, Yee IM, de Lemos M, Greenwood T, Lee JD, Wright G, Ross CJ, Zhang S, Song W, Vilariño-Güell C. Case-Control Studies Are Not Familial Studies. *Neuron*. 2016;92(2):339-341.

CURSOS ABA

ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

CICLO LECTIVO 2019

PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

Informes e inscripción

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina

Venezuela 1823 Piso 3 (1096) – Buenos Aires -Argentina

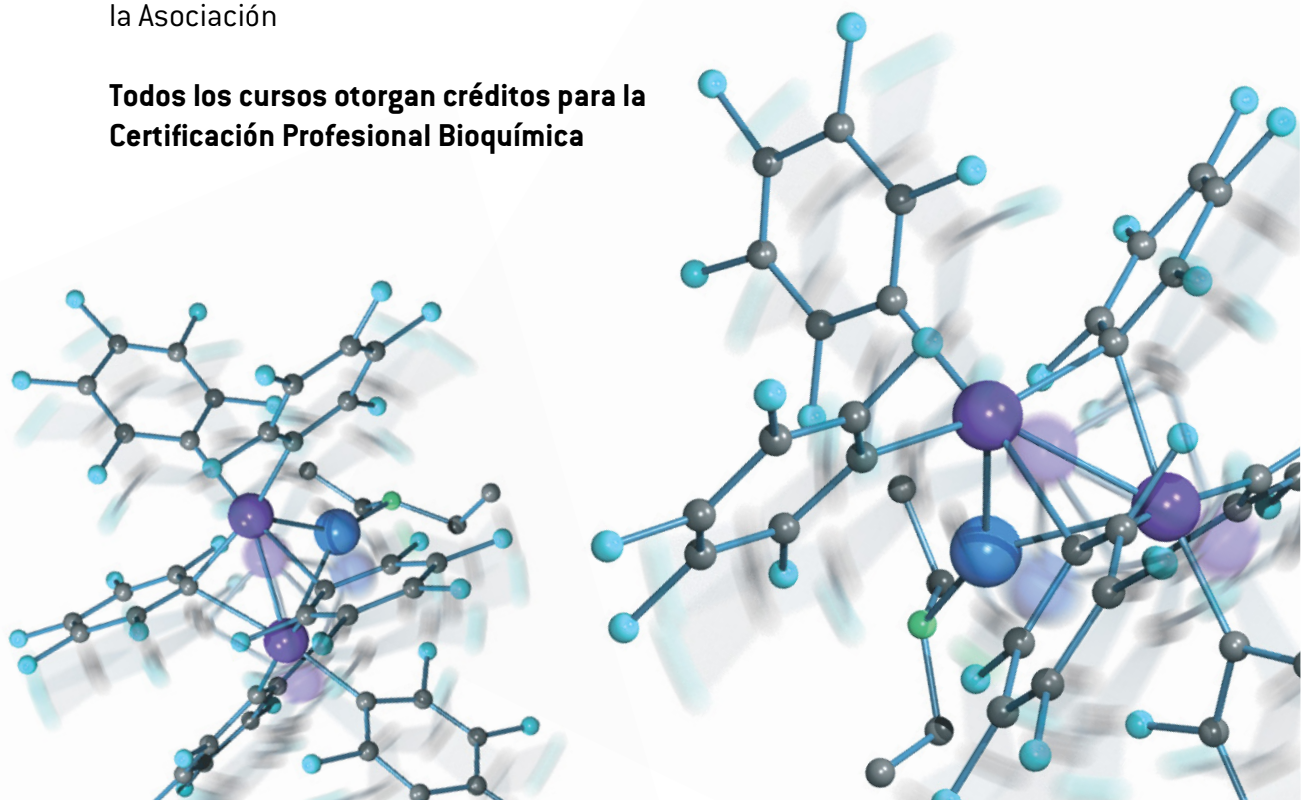
Tel: (011) 4381-2907 Telefax: (011) 4384-7415 - De 15 a 19 Hs.

Consultas administrativas: [cursos@aba-online.org.ar](mailto: cursos@aba-online.org.ar)

Programas completos disponibles en: <http://www.aba-online.org.ar/>

Nota para no socios: abonando la primera cuota social y adhiriendo al débito automático por tarjeta, podrá acceder a los cursos ABA como socio, recibiendo además todos los beneficios de la Asociación

Todos los cursos otorgan créditos para la Certificación Profesional Bioquímica



PROGRAMA DE EDUCACION CONTINUA ABA 2019. Anuncio de cursos

CONSULTAS: cursos@aba-online.org.ar

Nº	NOMBRE DEL CURSO	FECHA DE INICIO	DURACION	DIRECTOR/ES
1	INMUNOLOGÍA CLÍNICA - Módulo 3 y 4 - continuación bianual	1-abr	5 meses	Dr. Fernando Chirido Dr. Gabriel Carballo
2	INMUNOLOGÍA CLÍNICA - Módulo 1 y 2 - se dictará en el año 2020	1-abr	Año 2020	Dr. Fernando Chirido Dr. Gabriel Carballo
3	CURSO ANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	1-abr	ANUAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovenski
4	EVALUACIÓN DE LA PAREJA INFERTIL. "Rol bioquímico en el laboratorio"	1-abr	ANUAL c/15 días	Dr. Eduardo Mormandi Dra. Patricia Otero
5	EL LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGÍA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA. Actualización de los procedimientos de diagnóstico.	8-abr	ANUAL 1 módulo por mes. 2 clases /por módulo	Dra. Patricia Otero
6	BIOLOGÍA MOLECULAR: APLICACIONES CLÍNICAS (Nuevo)	8-abr	ANUAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
7	INFECCIONES SEVERAS, AGENTES MULTIRRESISTENTES Y SU POSIBLE ABORDAJE / 2019	8-abr	ANUAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovenski
8	PRINCIPIOS BÁSICOS TEÓRICOS Y PRÁCTICOS DE HEMOSTASIA	15-abr	CUATRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
9	FUNDAMENTOS DE TOXICOLOGÍA CLÍNICA Y ANALÍTICA	15-abr	SEMESTRAL	Dra. Gloria Alvarez
10	CURSO ANUAL DE ACTUALIZACION EN BIOQUIMICA CLINICA (Nuevo)	22-abr	ANUAL	Dra. Silvia B. González Dra. Viviana Osta
11	BIOQUIMICA FORENSE "el rol del Bioquímico Forense en la investigación criminal"	29-abr	CUATRIMESTRAL c/ 15 días	Dr. Christian Jaroszewski
12	CRITERIOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA DE LAS CÉLULAS SANGUINEAS. ¿CÓMO Y QUÉ INFORMAR?	29-abr	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
13	AUTOMATIZACIÓN E INTERFERENCIAS EN LOS RESULTADOS HEMATOLÓGICOS SU INTERPRETACIÓN A TRAVÉS DEL ANÁLISIS DE CASOS.	6-may	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
14	EI BIOQUÍMICO EN EL BANCO DE SANGRE	6-may	SEMESTRAL	Dr. Jorge Rey
15	TÓPICOS EN EMERGENTOLOGÍA: Sepsis y Biomarcadores	13-may	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia Gonzalez
16	EL LABORATORIO CLÍNICO EN PEDIATRÍA	13-may	7 meses	Dra. Sandra Ayuso Dra. Viviana Osta
17	ACTUALIZACIÓN EN EL ESTUDIO DE LAS DISPROTEINAS Y HEMOGLOBINOPATÍAS	20-may	SEMESTRAL	Dra. Raquel Osatinskyra Dra. Isabel Desimone Dra. Isabel Crispiani
18	CURSO INTEGRAL SOBRE LÍQUIDOS DE PUNCIÓN con Tópicos de Urgencia (Nuevo)	3-jun	BIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro
19	GASES EN SANGRE, OXIMETRIA, ELECTROLITOS Y METABOLITOS (Nuevo)	3-jun	SEMESTRAL	Dra. Silvia B. González
20	TÓPICOS DE HEMATOLOGÍA EN EL NEONATO	10-jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
21	SALUD FETAL. "Herramientas no- invasivas para el screening y detección de aneuploidias y preeclampsia. Una puesta al día"	17-jun	CUATRIMESTRAL	Dra. Patricia Maidana
22	APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA. CURSO POR CONVENIO: ABA- GRFC.	15-jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Viviana Novoa Dra. Emilse Bermejo
23	HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR (Nuevo)	15-jul	SEMESTRAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
24	FUNDAMENTO Y CONTROL DE LAS DISTINTAS TERAPIAS ANTICOAGULANTES (Nuevo)	Segundo cuatrimestre	A DEFINIR	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
25	CALIDAD ANALITICA: Herramientas para la evaluación de desempeño analítico en el Laboratorio clínico (Nuevo)	Segundo cuatrimestre	A DEFINIR	Dra. Jesica Sardaños
26	BIOQUIMICA LEGAL Y FORENSE (Nuevo)	Segundo cuatrimestre	A DEFINIR	Dr. Christian Jaroszewski
27	NEUROINMUNOLOGIA (Nuevo)	02-sep	A DEFINIR	Dres. Silvia G. Ramos Andres Villa Gabriel Carballo
28	SEGURIDAD DEL PACIENTE (Nuevo)	A DEFINIR	A DEFINIR	Dra. Viviana Osta
29	TOXICOLOGIA FORENSE Y LEGAL (Nuevo)	Segundo cuatrimestre	A DEFINIR	Dra. Gloria Alvarez
30	EL LABORATORIO FRENTE A LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES: Evaluación de factores de riesgo lipídico, no lipídico y de marcadores del evento agudo (Nuevo)	Segundo cuatrimestre	SEMESTRAL	Prof. Dr. Fernando Brites

SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION
BIOQUIMICA
ARGENTINA



ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA

Fundada el 3 de septiembre de 1934

Miembro Fundador:

Confederación Unificada Bioquímica de la Republica Argentina (CUBRA); Coordinadora de Colegios Bioquímicos de Ley de la República Argentina; Sociedad de Bioquímica y Patología Clínica del MERCOSUR.

Institución Invitada:

Ente Coordinador de Unidades Académicas de Facultades de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB.)

Miembro Adherente:

Asociación Latinoamericana Patología Clínica.

Integrante:

Comisión Nacional de Certificación Bioquímica (COCERBIN); Comisión de Elaboración de Normas y Guías de Laboratorio del Ministerio de Salud y Acción Social; Consejo Asesor y del Comité de Auditoría Interna Programa de Acreditación de Laboratorios de la Fundación Bioquímica Argentina.

La ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA es la primera entidad Bioquímica de nuestro país, y la precursora de muchas otras en Latinoamérica.

Los objetivos que llevaron a su creación, siguen vigentes en la actualidad:

- 1 | Promover la educación continua de los bioquímicos.
- 2 | Editar la Revista Bioquímica y Patología Clínica, que es la revista científica de la Asociación, de distribución cuatrimestral.
- 3 | Desarrollar cursos de capacitación y actualización, en la Ciudad de Buenos Aires y el Interior del País.
- 4 | Cada 2 años, organiza en los años pares el Congreso Nacional Bioquímico y en los años impares, las Jornadas de Actualización ABA.
- 5 | En su sede tiene un aula docente de 30 asientos y un moderno laboratorio de trabajos prácticos.
- 6 | Asimismo, la Asociación ha implementado el Programa de Certificación Bioquímica, mediante el cual se puede acceder a los Certificados de Especialista, y de Actualización en una determinada especialidad o en Bioquímica Clínica.
- 7 | En la Asociación funcionan además, diferentes Comisiones Internas y las Divisiones / Secciones, encabezadas por prestigiosos profesionales, para asesorar a la Comisión Directiva y a sus socios.
- 8 | La ABA tiene convenios de cooperación institucional con universidades nacionales, privadas y fundaciones científicas de prestigio.

Los socios de la ABA gozan de aranceles preferenciales en cualquier actividad que desarrolla la Institución y reciben la Revista ByPC sin cargo adicional.

SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION
BIOQUIMICA
ARGENTINA



Para asociarse, debe hacernos llegar esta solicitud completa en letra clara de imprenta y sin omitir ningún dato. Adjuntar una foto carnet, una fotocopia del título (anverso y reverso, tamaño 10 x 15 cm.) y -de elegir este sistema de pago- el formulario de ingreso al sistema de débito automático por tarjeta de crédito VISA o MASTERCARD (\$45/mes). En su defecto deberá abonar un año por adelantado (\$540/año)

En el caso que usted optara por el pago anual, puede hacerlo en efectivo en nuestra secretaría o mediante cheque y/o giro postal a la orden de "Asociación Bioquímica Argentina", completo, sin abreviaturas.

Apellido y Nombre

D.N.I. – L.C. – L.E. – C.I.

Fecha de Nacimiento

Domicilio

Localidad C.P.

Provincia País

Teléfono e-mail

Título profesional Otorgado por

Año Nro. Matrícula

Lugar de trabajo

Domicilio

Teléfono e-mail

INFORMES

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina Venezuela 1823 Piso 3
1096 – Ciudad de Buenos Aires. e-mail: info@aba-online.org.ar.
TELEFAX (011)4384-7415 - TEL: (011) 4381-2907

Horario: Lunes a Viernes de 15:00 a 19:00 Hs.

Dengue - Zika Chikungunya

BIO-RAD

Dengue

- **Platelia Dengue NS1Ag**
ELISA x 96 tests
- **Dengue NS1Ag strip**
Inmunocromatografía – Test Rápido x 25 tests
- **MultiSure Dengue IgG, IgA, IgM y NS1Ag**
Inmunocromatografía – Test Rápido x 20 tests



- **Dengue IgG**
ELISA x 96 tests
- **Dengue IgM**
ELISA x 96 tests
- **Dengue IgM captura**
ELISA x 96 tests



Zika

- **Zika IgM Captura**
ELISA x 96 tests
- **DPP Zika IgM /IgG**
Inmunocromatografía – Test Rápido x 25 tests



Chikungunya

- **Chikungunya IgG**
ELISA x 96 tests
- **Chikungunya IgM Captura**
ELISA x 96 tests



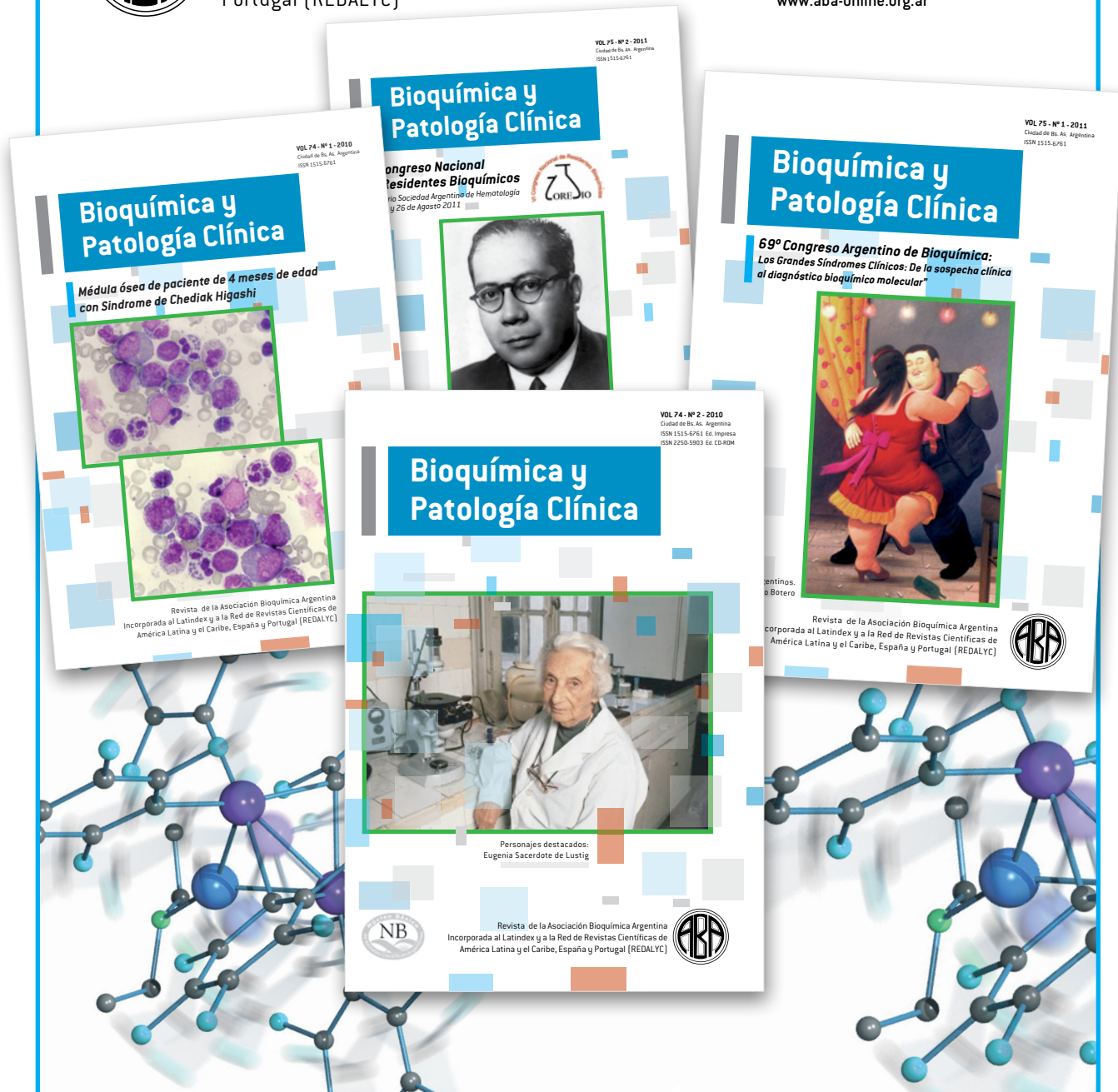
Anuncie en ByPC...

Bioquímica y Patología Clínica



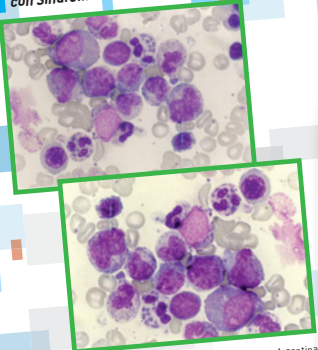
Revista de la Asociación Bioquímica Argentina
Incorporada al Latindex y a la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC)

Venezuela 1823 - Piso 3 - CP (1096)
Buenos Aires - Argentina
Tel/ fax: 4384-7415 - Tel: 4381-2907
e-mail: info@aba-online.org.ar
www.aba-online.org.ar



Bioquímica y Patología Clínica

Médula ósea de paciente de 4 meses de edad con Síndrome de Chediak Higashi



Revista de la Asociación Bioquímica Argentina
Incorporada al Latindex y a la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC)

Bioquímica y Patología Clínica

Congreso Nacional Residentes Bioquímicos
Sociedad Argentina de Hematología y 26 de Agosto 2011



Bioquímica y Patología Clínica



Personajes destacados:
Eugenia Sacardote de Lustig

Revista de la Asociación Bioquímica Argentina
Incorporada al Latindex y a la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC)

Bioquímica y Patología Clínica

69° Congreso Argentino de Bioquímica:
Los Grandes Síndromes Clínicos: De la sospecha clínica al diagnóstico bioquímico molecular*



Personajes destacados:
D. Bótero

Revista de la Asociación Bioquímica Argentina
Incorporada al Latindex y a la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC)

MicroScan



Microbiología Automatizada

Identificación y Sensibilidad

MicroScan responde a las necesidades de atención eficaz de los pacientes mediante resultados automatizados rápidos de ID/AST sin reducir la exactitud.



WalkAway 40 Plus



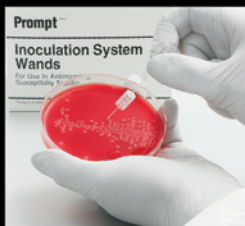
WalkAway 96 Plus



autoSCAN4

Sistemas MicroScan

La línea se completa con múltiples opciones de paneles que han sido adaptados a la epidemiología local, de tipo Combo (ID/AST), solo CIM y solo identificación. También Paneles para identificación de levaduras, anaerobios y fastidiosos y Paneles especiales para sensibilidad de Microorganismos exigentes.



Selección de colonias con PROMPT

Estandarización de inóculos sin pérdida de tiempo por turbidez gracias al sistema de inoculación PROMPT™.



Preparación de inóculos con PROMPT

La estabilidad del inóculo de hasta cuatro horas flexibiliza el flujo de trabajo.



Inoculación de panel con RENOK

La inoculación simultánea de los 96 pocillos del panel simplifica el flujo de trabajo.

LabPro Software Suite

La mejora de la gestión de datos con el conjunto de aplicaciones de LabPro promueve la eficacia en el laboratorio al agilizar al flujo de trabajo y facilitar el acceso a la información del paciente. LabPro Manager, LabPro Alert y LabPro Connect en forma conjunta, le ayudan a estandarizar y consolidar las pruebas, adaptar la creación versátil de informes de resultados y aumentar su capacidad para identificar la emergencia de nuevas resistencias.



Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" C1107APB - Buenos Aires Argentina Tel./Fax: +54 11 4300-9090

info@biodiagnostico.com.ar www.biodiagnostico.com.ar