

MEDICINA • BALEAR

PUBLICACIÓ DE LA REIAL ACADEMIA DE MEDICINA DE LES ILLES BALEARS

La Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears, a favor de la implantació d'estudis de Medicina

Calcificaciones ectópicas: mecanismos, similitudes y diferencias

RT-PCR multiplex para la detección simultánea de las mutaciones FLT3-ITD/NPM-1/AML1-ETO asociadas a Leucemia Mieloide Aguda

Influencia del consumo de tabaco, actividad física, alimentación y edad en los valores de diferentes índices aterogénicos en población mediterránea española

Prevenió de lesions en el futbol

Scientific evidence of the benefits of virgin olive oil for human health

Mujer joven con astenia, disnea y muerte súbita



Medicina Balear, òrgan de la Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears, va aparèixer el 1986 amb l'objectiu de donar curs a les inquietuds científiques i fomentar l'esperit d'investigació dels professionals de la sanitat balear i amb la pretensió suplementària de projectar en la societat temes d'interès sanitari.

Medicina Balear publica en català, castellà o anglès treballs originals, articles de revisió, cartes al director i altres escrits d'interès relacionats amb les ciències de la salut i presta particular atenció als treballs que tinguin per àmbit les Illes Balears i altres territoris de la conca mediterrània occidental. La revista sotmet els originals a la revisió anònima per al menys dos experts externs (peer review).



El material científic publicat a **Medicina Balear** resta protegit per drets d'autor. **Medicina Balear** no és responsable de la informació i opinions dels autors.

Aquesta obra -llevat que s'indiqui el contrari en el text, en les fotografies o en altres il·lustracions- és subjecta a la llicència de Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada 3.0 Espanya de Creative Commons; <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/>. Així, doncs, s'autoritza al públic en general a reproduir, distribuir i comunicar l'obra sempre que se'n reconegui l'autoria i l'entitat que la publica i no se'n faci un ús comercial ni cap obra derivada.

Medicina Balear es troba incorporada a la Biblioteca Digital de les Illes Balears, de la Universitat de les Illes Balears, i està inclosa en les bases de dades següents: Latindex (catàleg), Dialnet, Índice Médico Español, DOAJ, Imbiomed



IME
Índice
Médico
Español

Dialnet

latindex

DOAJ
DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS



EDITA

Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears



www.ramib.org

Campaner, 4, baixos. 07003 Palma de Mallorca Tel. 971 72 12 30 Email: info@ramib.org
Pàgina web: <http://www.ramib.org>

Dipòsit Legal: PM 486 - 95

eISSN: 2255 - 0569

Disseny i maquetació

Intelagencia Publicitat - www.intelagencia.es - intelagencia@intelagencia.es

MEDICINA · BALEAR

Publicació quadrimestral de ciències de la salut de la Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears

Director Macià Tomàs Salvà,
Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears (RAMIB)

CONSELL EDITORIAL

Subdirector	A. Arturo López González, <i>RAMIB</i>
Secretari de la publicació	Joan March Noguera, <i>RAMIB</i>
Editor científic	Marta Couce Matovelle, <i>RAMIB</i>
Assessors editorials	José A. Guijarro Pastor, <i>AEMET</i> · Jaume Rosselló Mir, <i>UIB</i>
Redactor en cap	J. L. Olea Vallejo, <i>RAMIB</i>
Vocals	Antoni Aguiló Pons, <i>Universitat de les Illes Balears</i> · Bartolomé Burguera González, <i>Cleveland Clinic (Ohio)</i> · Amador Calafat Far, <i>Socidrogalcohol</i> · Valentín Esteban Buedo, <i>Conselleria de Sanitat, Generalitat Valenciana</i> · Carmen González Bosch, <i>Universitat de València</i> · Miguel A. Limon Pons, <i>Institut Menorquí d'Estudis</i> · Virgili Páez Cervi, <i>Bibliosalut</i> · Lucio Pallarés Ferreres, <i>Hospital Son Espases, Ibsalut</i> · Ignacio Ricci Cabello, <i>University of Oxford</i> · Guillermo Sáez Tormo, <i>Universitat de València</i> · M ^a Teófila Vicente Herrero, <i>IUNICS</i>

CONSELL CIÈNTIFIC

M^a José Anadón Baselga (*Universidad Complutense de Madrid*), Miquel Capó Martí (*Universidad Complutense de Madrid*), Antonio Coca Payeras (*Universitat de Barcelona*), Leopoldo Forner Navarro (*Universitat de València*), Alexandre García-Mas, (*Universitat de les Illes Balears*), Antoni Gelabert Mas (*Universitat Autònoma de Barcelona*), Joan Grimalt Obrador (*Consell Superior d'Investigacions Científiques, CSIC*), Federico Hawkins Carranza (*Universidad Complutense de Madrid*), Joan Carles March Cerdà (*Escuela Andaluza de Salud Pública, EASP*), Gabriel Martí Amengual (*Universitat de Barcelona*), Rosa Pulgar Encinas (*Universidad de Granada*), Ciril Rozman (*Universitat de Barcelona*).

Amb la col·laboració de



Govern de les Illes Balears

Conselleria de Presidència

www.medicinabaleaar.org

TARJETA EXCLUSIVE

Disfruta de las ventajas de la primera tarjeta "Etiqueta Negra".



Te presentamos la nueva tarjeta **Exclusive de Banca March**, una tarjeta diseñada especialmente para nuestros clientes más exclusivos.

Disfruta de un excepcional abanico de servicios y descuentos exclusivos: servicio de reservas, descuentos en spas, balnearios y campos de golf, plan de protección de tarjetas y de teléfono móvil, seguro de asistencia en viajes con las coberturas más amplias del mercado, seguro de accidentes de 1 millón de euros y un largo etcétera, que sitúan al más alto nivel a la tarjeta Exclusive y a su titular.

Infórmate en nuestras oficinas, en www.bancamarch.es o llamando al teléfono **901 111 000**

Más de **80 años** a tu servicio | **TRADICIÓN DE FUTURO**

 **BANCA MARCH**

MEDICINA • BALEAR

PUBLICACIÓ DE LA REIAL ACADÈMIA DE MEDICINA DE LES ILLES BALEARS

www.medicinabaleaer.org

SUMARI

EDITORIAL

- La Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears, a favor de la implantació d'estudis de Medicina** _____ 8
El Consell Editorial

ORIGINALS

- Calcificaciones ectópicas: mecanismos, similitudes y diferencias** _____ 9-15
F. Grases, Ll. Muntaner-Gimbernat, M. Vilchez-Mira, A. Costa-Bauzá, R.M. Prieto, A. Rodríguez

- RT-PCR multiplex para la detección simultánea de las mutaciones FLT3-ITD/NPM-1/AML1-ETO asociadas a Leucemia Mieloide Aguda** _____ 17-22
Jordi Martínez-Serra, José María Sánchez, Antonio Gutiérrez, Leyre Bento, M^a Antonia Durá, Antònia Sampol, Irene Aguilar, Daniel Morell, Carmen Santos, Carmen Vidal, Juan Carlos Amat, Joan Besalduch

- Influencia del consumo de tabaco, actividad física, alimentación y edad en los valores de diferentes índices aterogénicos en población mediterránea española** _____ 23-31
Ángel Arturo López González, Yarienne Inalvis Rivero Ledo, M^a Teófila Vicente Herrero, Milagros Queimadelos Carmona, M^a Nieves Monroy Fuenmayor, Cristina Núñez Fernández

- Prevenió de lesions en el futbol** _____ 33-38
Bartomeu Riutord Fe, Joana María Fe Mas, Neus Riutord Fe, Maria Salvá Cerdá, Carme Riutord Fe, Raquel Seco Melantuche

REVISIÓ

- Scientific evidence of the benefits of virgin olive oil for human health** _____ 39-46
María-Isabel Covas, Rafael de la Torre, Montserrat Fitó

ESTUDI DE CASOS

- Mujer joven con astenia, disnea y muerte súbita** _____ 47-52
Joaquín Colomina Climent, Elena Timoner Salvà, Elisa Albacar Riba, Rocío Amézaga Menéndez, Carles Saus Sarrias, Manuel del Río Vizoso

COMENTARI D'ARTICLE

- La ingesta de líquids i el risc de càncer vesical en els Estudis de Salut d'Infermeria** _____ 53
Antoni Gelabert Mas

Seguro de Automóvil



Porque cuando se queda sin coche, es cuando más ayuda necesita

Ahora con **nuevas** y **exclusivas** coberturas:

- ✓ A través de nuestros talleres preferentes:
 - Descuento del 50% en el precio de la franquicia.
 - Servicio de recogida y entrega del vehículo.
 - Reparación de lunas a domicilio.
 - Parte único por daños de aparcamiento.
- ✓ Gestor de multas online.
- ✓ Asistencia jurídica gratuita.



Y además,

50%
DESCUENTO

Y además...

**Llévese de regalo el balón de A.M.A.
al contratar su póliza de Automóvil**

Al contratar una póliza de Automóvil antes del 13 de julio recibirá de manera gratuita el balón de fútbol de A.M.A.
(Promoción válida hasta fin de existencias)

¡NO SE QUEDE SIN SU BALÓN!

A.M.A. PALMA DE MALLORCA Barón de Pinopar, 10 Tel. 971 71 49 82 pmallorca@amaseguros.com



LA CONFIANZA ES MUTUAL
www.amaseguros.com 902 30 30 10



MEDICINA • BALEAR

SCIENTIFIC JOURNAL OF THE ROYAL ACADEMY OF MEDICINE OF THE BALEARIC ISLANDS

www.medicinabaleaer.org

CONTENTS

EDITORIAL

- The Royal Academy of Medicine of the Balearic Islands supports the implementation of medical studies** ————— 8
The Editorial Board

ORIGINAL ARTICLES

- Ectopic calcifications: formation mechanism, similarities and differences** ————— 9-15
F. Grases, Ll. Muntaner-Gimbernat, M. Vilchez-Mira, A. Costa-Bauzá, R.M. Prieto, A. Rodríguez
- RT-PCR multiplex allowing simultaneous detection of mutations FLT3-ITD/NPM-1/AML1-ETO associated with Acute Myeloid Leukemia** ————— 17-22
Jordi Martínez-Serra, José María Sánchez, Antonio Gutiérrez, Leyre Bento, M^a Antonia Durá, Antònia Sampol, Irene Aguilar, Daniel Morell, Carmen Santos, Carmen Vidal, Juan Carlos Amat, Joan Besalduch
- The influence of tobacco consumption, physical activity, diet and age on the values of different atherogenic indexes in Spanish Mediterranean population** ————— 23-31
Ángel Arturo López González, Yarienne Inalvis Rivero Ledo, M^a Teófila Vicente Herrero, Milagros Queimadelos Carmona, M^a Nieves Monroy Fuenmayor, Cristina Núñez Fernández
- Preventing football injuries** ————— 33-38
Bartomeu Riutord Fe, Joana Maria Fe Mas, Neus Riutord Fe, Maria Salvá Cerdá, Carme Riutord Fe, Raquel Seco Melantuche

REVIEW

- Scientific evidence of the benefits of virgin olive oil for human health** ————— 39-46
María-Isabel Covas, Rafael de la Torre, Montserrat Fitó

CASE STUDIES

- Young woman with asthenia, dyspnea and sudden death** ————— 47-52
Joaquín Colomina Climent, Elena Timoner Salvà, Elisa Albacar Riba, Rocío Amézaga Menéndez, Carles Saus Sarrias, Manuel del Río Vizoso

COMMENTS ON ARTICLE

- La ingesta de líquids i el risc de càncer vesical en els Estudis de Salut d'Infermeria** ————— 53
Antoni Gelabert Mas

La Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears, a favor de la implantació d'estudis de Medicina

*The Royal Academy of Medicine of the Balearic Islands supports
the implementation of medical studies*

El Consell Editorial

La Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears, la institució científica més antiga de la nostra Comunitat, reunida en sessió científica dia 4 de març passat va expressar el seu suport al projecte de la Universitat de les Illes Balears d'implantar els estudis de medicina amb el següent manifest:

En relació amb les notícies sobre la possible implantació d'estudis de Medicina a la nostra Comunitat, la Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears vol recordar que ja el novembre de 2008 el ple de la corporació va acordar per unanimitat donar suport al projecte de creació d'una facultat de Medicina, amb oferta d'estudis des del primer any. Malauradament, raons diverses aturaren aquell propòsit docent quan ja disposava de l'aprovació de l'ANECA (Agència Nacional d'Avaluació de la Qualitat i Acreditació).

Anys abans (abril de 2001) la nostra corporació havia aportat elements de reflexió al conjunt de la societat balear acollint un debat públic on els ponents (provinents del món acadèmic, col·legial i polític) s'expressaren tots a favor de la creació d'una facultat de Medicina. Altres sessions científiques celebrades al llarg d'aquests darrers anys i diverses publicacions proven l'interès constant dels acadèmics per aquesta qüestió.

El projecte actual de la Universitat de les Illes Balears (UIB) parteix d'un estudi econòmic que li dona viabilitat, contempla la implantació dels estudis de medicina que corresponen al cursos de formació clínica i dona ús docent a les infraestructures disponibles de l'Hospital Son Espases. Quant al nivell docent, el pla d'estudis de Medicina de la UIB ha estat aprovat per l'ANECA i es troba a punt per ser implantat i consolidat.

Un cop analitzada la qüestió en el context actual en sessió científica de 4 de març de 2014, la Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears considera que persisteixen les condicions per impulsar definitivament els estudis de medicina a la nostra comunitat. El motiu principal que justifica el suport de la Reial Acadèmia al projecte de la UIB és l'efecte directe en la millora de la qualitat assistencial, docent i investigadora. A més d'aquest argument fonamental, altres raons contribueixen també a recolzar-lo: uns estudis de medicina milloren el nivell general de la professió mèdica, faciliten i estimulen la recerca biomèdica i repercuteixen positivament sobre el desenvolupament econòmic per la via de la innovació. Els estudis de Medicina poden també pal·liar la fuga de professionals de les ciències de la salut altament qualificats i afavorir la possibilitat de captar talent de l'exterior.

Balears és l'única Comunitat autònoma del territori nacional sense estudis de Medicina: a més del greuge comparatiu amb altres regions que això representa, aquest fet porta a una pèrdua de competitivitat i a una reducció del foment de l'educació a Balears.

La Reial Acadèmia de Medicina, la institució científica més antiga de la nostra Comunitat, vol destacar, finalment, la presència en la nostra Comunitat d'investigadors i metges assistencials de prestigi nacional i internacional que, amb altres que poguessin incorporar-se aportarien els coneixements teòrics i pràctics necessaris per garantir una formació de qualitat.



Calcificaciones ectópicas: mecanismos, similitudes y diferencias

Ectopic calcifications: formation mechanism, similarities and differences

F. Grases, Ll. Muntaner-Gimbernat¹, M. Vilchez-Mira¹, A. Costa-Bauzá, R.M. Prieto, A. Rodríguez

Laboratorio de Investigación en Litiasis Renal, Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS-IdISPa), Universidad de las Islas Baleares, Palma de Mallorca

¹. Departamento de Radiología, Hospital Universitario "Son Espases", Palma de Mallorca.

Correspondencia

Félix Grases Freixedas
IUNICS-IdISPa - Universidad de las Islas Baleares
Ctra. Valldemossa km 7,5 - 07122 Palma de Mallorca
fgrases@uib.es

Recibido: 29 - IV - 2014

Aceptado: 23 - V - 2014

doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.29.02.09

Resumen

Introducción: El plasma está siempre sobresaturado en hidroxiapatita, ya que si no fuera así el hueso no se podría formar. A pesar de ello las calcificaciones ectópicas no se dan de forma masiva, siendo su mecanismo de desarrollo todavía poco conocido. En este trabajo se presentan tres casos de calcificación ectópica muy diferentes, con el fin de profundizar en su mecanismo de formación, analizando analogías y diferencias.

Pacientes y Métodos: Se seleccionaron tres pacientes con calcificaciones ectópicas: un paciente con calcificación de cadera resultado de la necrosis de la misma producida por un fuerte golpe. Un paciente con Síndrome de Solapamiento autoinmune que presenta calcificaciones múltiples en varias zonas del cuerpo y un paciente con tendinitis calcificante del hombro. Se efectuaron estudios mineralógicos de muestras extraídas de cada paciente mediante microscopía electrónica de barrido y microanálisis por energía dispersiva de Rayos X. Se determinó también los niveles de fitato urinario en cada paciente.

Resultados: En el paciente con calcificación en la cadera se detectó la presencia de materia orgánica e hidroxiapatita carbonatada no esferulítica de estructura compacta similar al hueso. En los otros dos pacientes se observó la presencia de materia orgánica calcificada con hidroxiapatita carbonatada junto con gran cantidad de esferulitos o bien objetos esferoidales de carboxiapatita. En todos los casos los valores de fitato urinario correspondieron a valores bajos (alrededor de 0.5 μM).

Discusión: Este estudio confirma que en cualquier caso, si se genera una calcificación ectópica es porque se ha producido una lesión tisular previa. La morfología de dicha calcificación dependerá del tamaño y disposición del espacio en la que se genere. Así, si se trata de regiones de tejido denso, con poco espacio vacío y sin excesiva renovación de líquido, dará lugar a estructuras compactas de carboxiapatita nucleada directamente sobre la materia orgánica. Si se trata de zonas con cavidades mas o menos abiertas y llenas de líquido, se formarán estructuras amorfas esferulíticas o esferoidales. Se discute también el papel de los inhibidores de la cristalización y del sistema inmunitario en la evolución de estos depósitos.

Palabras clave: Calcificaciones ectópicas, carboxiapatitas, estructuras, mecanismos de formación

Abstract

Introduction: Plasma is always supersaturated in hydroxyapatite, because if not the bone would not be formed. However ectopic calcifications do not occur massively and, their formation mechanism is still poorly understood. In this work three cases of different ectopic calcifications are presented and similarities and differences are analyzed in order to deepen in their formation mechanism.

Patients and Methods: Three patients with ectopic calcifications were selected. A patient with hip calcification as a result of necrosis produced by a blow, a patient with a autoimmune overlap syndrome having multiple calcifications in several areas of the body and one patient with calcifying tendinitis of the shoulder. Mineralogical studies of samples taken from each patient were performed using scanning electron microscopy with microanalysis by X-ray dispersive energy. Urinary phytate levels in each patient were also determined.

Results: The presence of organic matter and no spherulitic carbonated hydroxyapatite with bone-like compact structure was detected in the patient with hip calcification. In the other two patients the presence of organic matter calcified with carbonated hydroxyapatite with a lot of spherulites or spheroidal carboxyapatite objects was observed. In all cases the urinary phytate levels correspond to low values (about 0.5 μM).

Discussion: This study confirms that in all cases, if an ectopic calcification is generated this is due to a previous tissue injury. The morphology of that calcification will depend on the size and status of the available space where is generated. So, if it comes in re-

gions of dense tissues, with little empty space and without excessive fluid renewal, it will lead to compact carboxyapatite structures that nucleate directly on organic matter. If the region has more or less open cavities fluid-filled, spherulitic or spheroidal amorphous structures are formed. The role of crystallization inhibitors and immune system in the development of these deposits is also discussed.

Keywords: Ectopic calcifications, carboxapatites, structures, formation mechanisms

Introducción

Actualmente es conocido que la mayoría de tejidos del cuerpo humano se calcifican progresivamente con la edad^{1, 2}, aunque el grado de calcificación depende en gran medida de cada individuo. En ocasiones, y como consecuencia de determinados procesos patológicos, se producen calcificaciones ectópicas en órganos o tejidos concretos, independientemente de la edad del individuo. Así son frecuentes las calcificaciones del sistema cardiovascular³⁻⁵, las calcificaciones tendinosas⁶, las calcificaciones renales⁷ y las calcificaciones metastásicas⁸.

Los mecanismos y las causas por las que se generan estas calcificaciones son todavía poco conocidos y es evidente que mientras no se conozcan con detalle no podrán darse soluciones efectivas para evitarlas. Un aspecto común a todos estos procesos es que el sólido que se genera de manera incipiente es en todos los casos muy parecido y corresponde a fosfatos cálcicos amorfos que con el tiempo acaban transformándose en apatitas o carbohidroxiapatitas, que corresponde al mismo componente mineral que se encuentra en el hueso.

Para la correcta comprensión de estos procesos debe considerarse que el plasma humano (y de todos los mamíferos) está siempre sobresaturado respecto a la hidroxiapatita (contiene más cantidad de la que permite su solubilidad). Se ha de tener en cuenta que si no fuera así, los huesos no se podrían formar. Considerando este hecho, resulta sorprendente que las calcificaciones tisulares no sean más frecuentes. En este sentido es preciso señalar que son más comunes de lo que se cree, aunque en muchas ocasiones permanecen silentes a pesar de sus, en ocasiones, funestas consecuencias. De todas maneras, considerando la sobresaturación permanente del plasma en fosfato cálcico, deberían ser mucho más prevalentes. La explicación a este hecho hay que buscarla por una parte en las características de los procesos de cristalización en sí mismos y, por otra, en la propia naturaleza de la vida. Así, se ha de tener en cuenta que la formación de cristales a partir de un líquido no es en absoluto fácil. Implica pasar de un sistema totalmente desordenado (estado líquido), a un sistema mucho más ordenado (estado sólido). En disoluciones puras este proceso es muy difícil desde el punto de vista de su mecanismo y únicamente cuando la sobresaturación es muy elevada se forma la fase sólida en tiempos relativamente cortos. Por tanto, las disoluciones con sobresaturaciones no muy elevadas, aunque sean estados metaestables, pueden aguantar horas, días e incluso

años sin cristalizar. Ahora bien, cuando las disoluciones no son puras, la presencia de determinados sólidos ya formados puede acelerar notablemente el proceso de cristalización. Estos sólidos se conocen como nucleantes heterogéneos y actúan como inductores de la cristalización. En el plasma, así como en el líquido intersticial de un tejido sano, no encontramos partículas que puedan actuar como nucleantes heterogéneos eficaces. Como la propia naturaleza de la vida implica cambio y renovación constantes, los tiempos de permanencia de los líquidos en el interior de los tejidos no son lo suficientemente largos para dar lugar a procesos de cristalización. Ahora bien, cuando por algún motivo se producen lesiones en los tejidos, se generan diferentes residuos celulares, alguno de los cuales puede actuar como nucleante heterogéneo muy efectivo de la hidroxiapatita, favoreciendo los procesos de calcificación ectópica.

Es evidente que cuanto más elevada sea la concentración de calcio y fosfato plasmático, más elevada será la sobresaturación de la hidroxiapatita y por tanto mayor la tendencia a cristalizar, a pesar de que el organismo dispone de mecanismos muy precisos para el control del fosfato y sobre todo del calcio plasmático, de manera que la hiperfosfatemia y la hipercalcemia son poco frecuentes⁹.

En la actualidad se sabe además que el organismo dispone de tres mecanismos para evitar/controlar/ revertir los procesos de calcificación patológica. (I) Así es conocido que el sistema inmunitario a través de los macrófagos o células equivalentes (sistema fagocítico mononuclear que antiguamente se conocía como el retículo endotelial) tienen capacidad para fagocitar y revertir los pequeños depósitos de hidroxiapatita¹⁰⁻¹³. (II) En la sangre pueden encontrarse moléculas de bajo peso molecular, algunas de origen endógeno, como el pirofosfato^{14, 15}, otras que proceden de la dieta, como el fitato^{16, 17} y otras que son de origen sintético (fármacos), como los bisfosfonatos^{18, 19}, que poseen una gran capacidad para interferir en los procesos de cristalización de la hidroxiapatita, evitando su formación. Estas sustancias se conocen como inhibidores de la cristalización. (III) Finalmente, también se ha demostrado que en la sangre existen proteínas como la fetuina, que por su estructura y grupos funcionales, son capaces de captar calcio y fosfato dando lugar a la formación de nanopartículas de hidroxiapatita-fetuina, que son eliminadas por el organismo, o bien depositándose en los huesos o siendo metabolizadas y excretadas^{20, 21}. Es evidente que mediante este mecanismo se retira fosfato y calcio de la sangre y por tanto se disminuye la sobresaturación de hidroxiapatita, lo que dificulta su proceso de cristalización.

En este trabajo presentamos tres casos muy diferentes de calcificación ectópica, con el fin de profundizar en sus mecanismos de formación, de acuerdo con los aspectos comentados, analizando sus analogías y diferencias.

Pacientes y métodos

Se seleccionaron tres pacientes con calcificaciones ectópicas de origen completamente distinto, de los que por motivos terapéuticos pudiéramos disponer de una muestra de tejido calcificado, para poder proceder a su estudio mediante microscopía electrónica de barrido y microanálisis por energía dispersiva de Rayos X. Se revisó el historial médico de estos pacientes y se obtuvo una muestra de orina de cada uno para su estudio posterior. El estudio consistió en una evaluación retrospectiva de toda la información conseguida para cada paciente. Cada voluntario firmó el correspondiente consentimiento informado para que dicha información pudiera ser publicada con fines científicos.

Paciente 1

Mujer de 37 años sin historial clínico relevante previo. Acude a consulta por presencia una masa calcificada en músculo iliopsoas en la cadera derecha aparecida tras un fuerte golpe (**figura 2B**). Con la finalidad de proceder a su estudio histológico se le extrajo un fragmento de esta calcificación, de la que una pequeña parte conservada en formol se suministró para efectuar un estudio mineralógico mediante microscopía electrónica de barrido y microanálisis por Rayos X.

Paciente 2

Mujer de 52 años con Síndrome de Solapamiento autoinmune que presenta calcificaciones múltiples en varias zonas del cuerpo (**figura 3D**). Con la finalidad de proceder a su estudio histológico se le extrajo un fragmento de esta calcificación de un dedo de la mano izquierda de la que

una pequeña parte conservada en formol se suministró para efectuar un estudio mineralógico mediante microscopía electrónica de barrido y microanálisis por Rayos X.

Paciente 3

Mujer de 31 años que acude a consulta como consecuencia de un dolor agudo causado por una tendinitis calcificante del hombro. La paciente no refiere otra información clínica relevante. Los depósitos calcificados se extrajeron por punción-aspiración guiada por ecografía, se filtraron y se secaron para su examen mediante microscopía electrónica de barrido y microanálisis por rayos X.

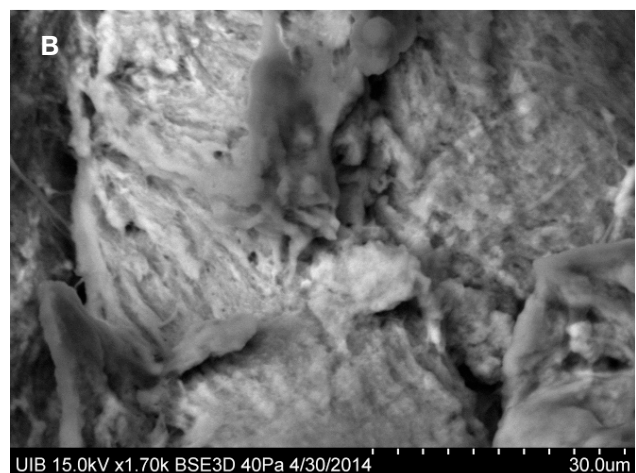
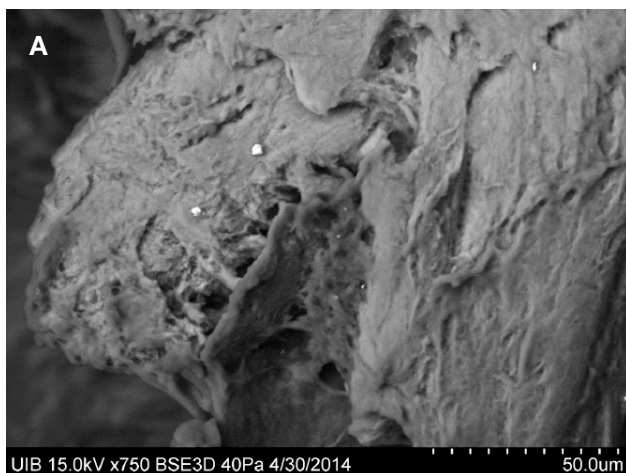
Estudios mediante microscopía electrónica de barrido y microanálisis por energía dispersiva de rayos X

Las muestras se colocaron en un soporte metálico y sobre un film adhesivo de doble cara y se examinaron utilizando un microscopio electrónico Hitachi S 3400N equipado con un analizador EDX (energía dispersiva de Rayos X). Las muestras no se recubrieron con oro para evitar la interferencia que la línea espectral de este metal produce en la línea espectral del fósforo.

Análisis del fitato urinario

Para este análisis se utilizó orina de 2 horas recogida en ayunas por la mañana. Las muestras se almacenaron a una temperatura de 4°C y se enviaron al laboratorio para su análisis inmediato. La orina se analizó siguiendo el protocolo habitual²². Se utilizaron 20 mL de orina diluida con 20 mL de agua, acidificado a un pH=3 con HCl 1:1. La disolución se agitó durante 15 minutos con 0,50 g de resina de intercambio aniónico AG1-X8. Posteriormente, se transfirió a una columna de extracción en fase sólida de 20 mL de capacidad, con una frita. La resina se lavó con 120 mL de HCl 50 mM, y posteriormente con 2x5 mL de agua. La elución del fitato de la resina se realizó con 4x1 mL de NaCl 2 M. El método de determinación del fitato en dicho eluato se realizó mediante el uso del complejo de aluminio y naranja de xileno²³.

Figura 1: Imágenes al microscopio electrónico de barrido de la calcificación del paciente 1. (A) a 750 aumentos, y (B) a 1700 aumentos.



Resultados

Como puede observarse en las **Figuras 1A, 1B, 2A y 2B**, las muestras correspondientes al paciente 1 están constituidas por materia orgánica e hidroxiapatita carbonatada no esferulítica de estructura compacta similar al hueso. El análisis del fitato urinario dio un valor bajo de 0,47 μM .

En las **Figuras 3A, 3B, 3C y 3D** se muestran los resultados del estudio de las muestras del paciente 2. Como puede observarse, se detecta materia orgánica calcificada con hidroxiapatita carbonatada junto con la presencia de gran cantidad de esferulitos de hidroxiapatita. El análisis de fitato urinario dio también valores bajos correspondientes a 0,40 μM .

En las **Figuras 4A, 4B, 4C y 4D** aparecen los resultados del estudio de las muestras del paciente 3. Como puede observarse en todas las imágenes puede observarse que las muestras están constituidas por una mezcla de materia orgánica y objetos esferoidales de tamaños variables, desde 20 μm a 200 μm de diámetro. También pueden observarse pequeñas esferas de 5 μm . La parte interna de los objetos esferoidales está constituida por material amorfo en el que se encuentran inmersas pequeñas esferas de alrededor de 5 μm de diámetro. Igual que en el resto de muestras, la parte mineral está formada por hidroxiapatita carbonatada. El análisis de fitato urinario dio un valor de 0.6 μM .

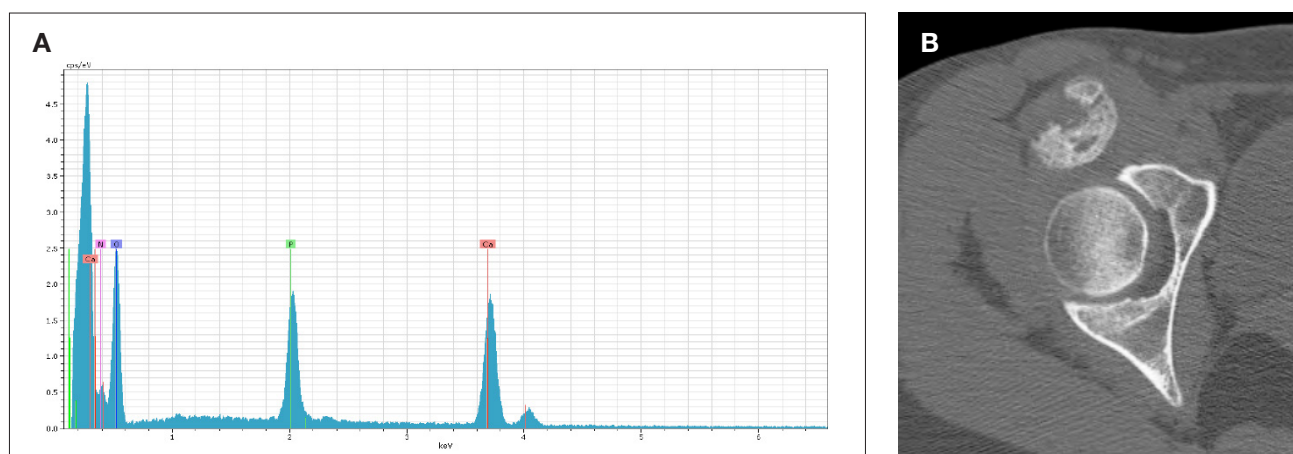
Discusión

Este estudio comparativo demuestra con claridad que en cualquier caso el desarrollo de una calcificación ectópica es debido a la presencia de una lesión tisular previa, ya sea consecuencia de un golpe fuerte (paciente 1), destrucción de tejido a causa del lupus (paciente 2) o rotura

de tendones (colágeno) como, por ejemplo, consecuencia de ejercicio físico excesivo. Esta lesión generará en cada caso detritus celulares que actuarán como nucleantes heterogéneos de la hidroxiapatita, al estar la sangre sobresaturada en esta sustancia. Ahora bien, la morfología de la calcificación generada dependerá de la morfología y disposición del espacio donde se genere. Así, si se trata de regiones en el interior de los tejidos, con poco espacio vacío y sin excesiva renovación de líquidos, la hidroxiapatita nucleará directamente sobre la materia orgánica alterada, formando estructuras microcristalinas cuyo crecimiento tendrá lugar por difusión de unidades de crecimiento a través del líquido intersticial, generando microcristales columnares de precursores de la hidroxiapatita (fosfato dicálcico, octacálcico o simplemente fosfato cálcico amorfo), que con el tiempo se transformará en hidroxiapatita biológica, dando lugar a estructuras muy compactas, como las observadas en el paciente 1. Este tipo de calcificación también es la que se encuentra en el interior de las válvulas del corazón^{24, 25}.

Si se trata de regiones con cavidades más o menos abiertas y llenas de líquido donde existe cierta renovación del mismo, los iones calcio y fosfato podrán formar especies como los llamados *Posner's clusters*, que son agrupaciones de unos 12-15 iones calcio y fosfato ($\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_3$)²⁶, que a su vez por choques entre ellos podrán formar nanopartículas que a su vez podrán ser atraídas por los residuos orgánicos (por ejemplo colágeno desnaturalizado o cualquier otro resto proteico), dando lugar a la formación de estructuras amorfas esferoidales²⁷, como las observadas en el caso del paciente 3. En el caso de que se den ambas circunstancias a la vez, es decir zonas con tejidos alterados compactos, junto con cavidades llenas de líquido y detritus orgánicos, se darán ambos mecanismos de formación y aparecerán estructuras como las del paciente 2, en las que se detectan zonas con esferulitos de hidroxiapatita, junto con zonas mineralizadas más compactas.

Figura 2: (A) Microanálisis por rayos X de la calcificación del paciente 1, en el que se muestran los componentes del mismo. (B) Tomografía Computarizada de cadera derecha. Se observa calcificación heterotópica circunscrita que asienta en musculo iliopsoas distal.



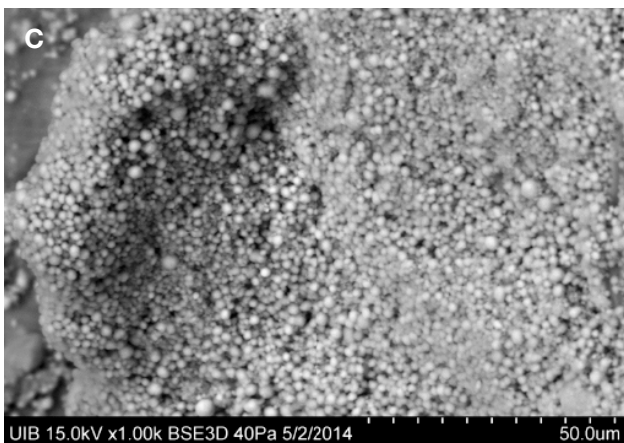
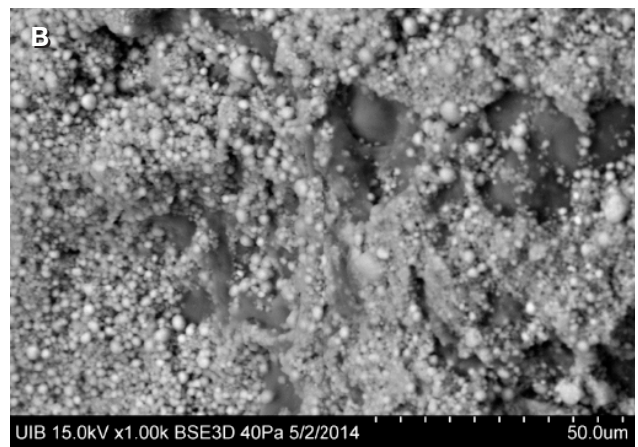
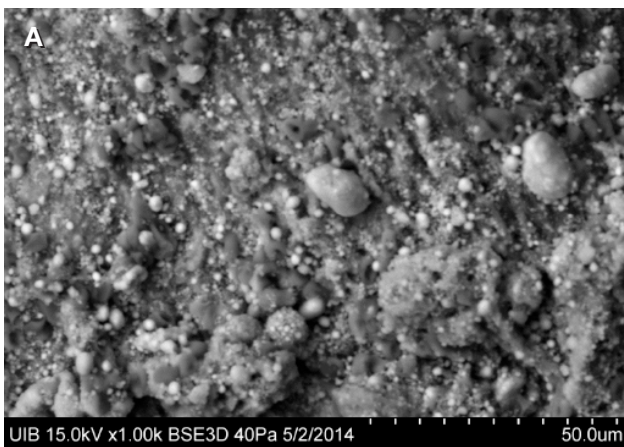
El papel protector de los inhibidores de la cristalización en el desarrollo de calcificaciones patológicas como las cardiovasculares o renales, ha sido demostrado ampliamente^{14-19,28}. En los tres casos estudiados en el presente trabajo se observó un claro déficit en un potente inhibidor de la cristalización, como es el caso del fitato. Así los valores urinarios detectados, que se ha demostrado que correlacionan con los correspondientes valores plasmáticos²⁸, se encuentran alrededor de concentraciones 0.5 μM , mientras los valores normales suelen ser iguales o superiores a 1 μM . Este inhibidor, que no es de síntesis endógena, está presente en el organismo al ser ingerido a través de la dieta²⁹, y al ser un polifosfato tiene un comportamiento muy parecido al de los bisfosfonatos, si bien por ser un producto de origen natural no manifiesta la toxicidad de aquéllos.

Es conocido que los macrófagos son capaces de degradar los depósitos de hidroxapatita, utilizando ácido para disolver el mineral y enzimas proteolíticas para degradar la matriz proteica. Los macrófagos (o células equivalentes) internalizan estos componentes por endocitosis y transportan y liberan sus contenidos mediante

transcitosis vesicular³⁰⁻³². En el caso de las tendinitis calcificantes del hombro es frecuente observar como de forma espontánea se dan procesos de reabsorción del material calcificado. Obviamente la facilidad con la que una calcificación pueda ser reabsorbida dependerá de la mayor o menor irrigación del tejido y de la extensión de la calcificación. Cuando por alguna razón se dan incrementos anormales de calcio o/y fosfato en la sangre, para evitar procesos masivos de calcificación, existen proteínas como la fetuína que son capaces de captar calcio y fosfato, formando nanopartículas de hidroxapatita-fetuína coloidal^{20, 21, 33}. El sistema fagocítico es también capaz de destruir estas nanopartículas, de manera que parece que o bien las libera al tejido óseo o bien las metaboliza completamente hasta que son excretadas.

De los tres casos estudiados, únicamente en las calcificaciones del primero parece insinuarse estructura ósea, aunque no se ha identificado como tal. De todas formas en aquellas situaciones en las que se dan calcificaciones masivas y densas en las que el organismo no es capaz de reabsorberlas, la formación de estructuras óseas es solo una cuestión de tiempo. Este hecho no es en absoluto extraño, ya que en un entorno rico en hidroxipapa-

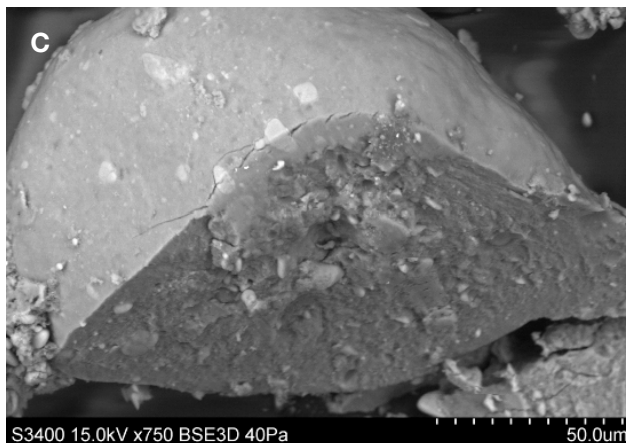
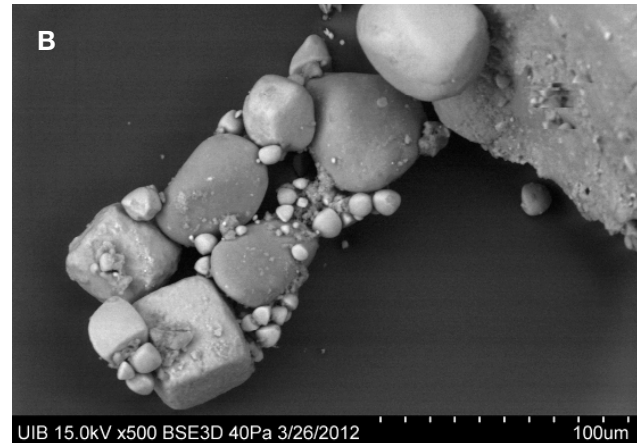
Figura 3: (A, B y C) Imágenes al microscopio electrónico de barrido (1000 aumentos) de la calcificación del paciente 2. (B) Radiografía anteroposterior de pelvis. Calcificaciones heterotópicas musculares diseminadas en cintura pélvica.



tita biológica se acumularán marcadores óseos, ya que ésta es el componente mineral del mismo. Por tanto las células madre que circulen por este entorno acabarán

identificando la zona como hueso e iniciarán las transformaciones adecuadas para adaptarse al mismo, iniciando un proceso de osificación ectópica.

Figura 4: Imágenes al microscopio electrónico de barrido de diferentes zonas de la calcificación del paciente 3. (A) a 200 aumentos; (B) a 500 aumentos; (C) a 750 aumentos y (D) a 1000 aumentos.



Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún tipo de conflicto de interés.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado mediante el Proyecto CTQ2010-18271/PPQ del Ministerio de Ciencia e Innovación (Gobierno de España), fondos FEDER (Unión Europea) y por la ayuda 9/2011 de la *Conselleria d'Educació, Cultura i Universitat (Govern de les Illes Balears)*. AR agradece a la *Conselleria d'Innovació i Energia del (Govern de les Illes Balears)* y a los fondos FSE la beca predoctoral concedida.

Bibliografía

1. Azriel Mira S, Martínez Díaz-Guerra G, Jodar Gimeno E, Hawkins Carranza F. Calcificaciones y osificaciones ectópicas. *REEMO* 2001; 10(05): 168-172.
2. Wexler L, Brundage B, Crouse J, Detrano R, Fuster V, Maddahi J et al. Coronary Artery Calcification: Pathophysiology, Epidemiology, Imaging Methods, and Clinical Implications: A Statement for Health Professionals From the American Heart Association. *Circulation* 1996; 94(5): 1175-1192.
3. Grases F, Prieto RM, Costa-Bauzá A. Calcificaciones cardiovasculares: factores etiológicos implicados. *Cirugía Cardiovascular* 2005; 12(4): 291-297.
4. Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, Thiriet M, Janzen J, Zeller T et al. Medial vascular calcification revisited: review and perspectives. *European Heart Journal* 2014.
5. Schlieper G. Vascular calcification in chronic kidney disease: not all arteries are created equal. *Kidney Int* 2014; 85(3): 501-503.
6. Arrigoni P, Brady PC, Burkhart SS. Calcific tendonitis of the subscapularis tendon causing subcoracoid stenosis and coracoid impingement. *Arthroscopy* 2006; 22(10): 1139.e1-3.
7. Grases F, Costa-Bauza A, Prieto RM, Conte A, Servera A. Renal papillary calcification and the development of calcium oxalate monohydrate papillary renal calculi: a case series study. *BMC Urol* 2013; 13: 14.
8. Ling H, Liu ZB, Xu LH, Xu XL, Liu GY, Shao ZM. Malignant calcification is an important unfavorable prognostic factor in primary invasive breast cancer. *Asia Pac J Clin Oncol* 2013; 9(2): 139-145.
9. Chang WT, Radin B, McCurdy MT. Calcium, Magnesium, and Phosphate Abnormalities in the Emergency Department. *Emerg Med Clin North Am* 2014; 32(2): 349-366.
10. Speer MY, McKee MD, Guldberg RE, Liaw L, Yang HY, Tung E et al. Inactivation of the osteopontin gene enhances vascular calcification of matrix Gla protein-deficient mice: evidence for osteopontin as an inducible inhibitor of vascular calcification in vivo. *J Exp Med* 2002; 196(8): 1047-1055.
11. Gravalles EM. Osteopontin: a bridge between bone and the immune system. *J Clin Invest* 2003; 112(2): 147-149.
12. Singh M, Ananthula S, Milhorn DM, Krishnaswamy G, Singh K. Osteopontin: a novel inflammatory mediator of cardiovascular disease. *Front Biosci* 2007; 12: 214-21.
13. McKee MD, Nanci A. Secretion of Osteopontin by macrophages and its accumulation at tissue surfaces during wound healing in mineralized tissues: a potential requirement for macrophage adhesion and phagocytosis. *Anat Rec* 1996; 245(2): 394-409.
14. Meyer JL, Fleisch H. Calcification inhibitors in rat and human serum and plasma. *Biochim Biophys Acta* 1984; 799(2): 115-121.
15. Lomashvili KA, Narisawa S, Millan JL, O'Neill WC. Vascular calcification is dependent on plasma levels of pyrophosphate. *Kidney Int* 2014.
16. Grases F, Perello J, Prieto RM, Simonet BM, Torres JJ. Dietary myo-inositol hexaphosphate prevents dystrophic calcifications in soft tissues: a pilot study in Wistar rats. *Life Sci* 2004; 75(1): 11-19.
17. Grases F, Sanchis P, Perello J, Isem B, Prieto RM, Fernandez-Palomeque C et al. Effect of crystallization inhibitors on vascular calcifications induced by vitamin D: a pilot study in Sprague-Dawley rats. *Circ J* 2007; 71(7): 1152-1156.
18. Price PA, Buckley JR, Williamson MK. The amino bisphosphonate ibandronate prevents vitamin D toxicity and inhibits vitamin D-induced calcification of arteries, cartilage, lungs and kidneys in rats. *J Nutr* 2001; 131(11): 2910-2915.
19. Elmariah S, Delaney JA, O'Brien KD, Budoff MJ, Vogel-Claussen J, Fuster V et al. Bisphosphonate Use and Prevalence of Valvular and Vascular Calcification in Women MESA (The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol* 2010; 56(21): 1752-1759.
20. Heiss A, DuChesne A, Denecke B, Grotzinger J, Yamamoto K, Renne T et al. Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A. Formation of colloidal calciprotein particles. *J Biol Chem* 2003; 278(15): 13333-13341.
21. Heiss A, Jahnen-Dechent W, Endo H, Schwahn D. Structural dynamics of a colloidal protein-mineral complex bestowing on calcium phosphate a high solubility in biological fluids. *Biointerphases* 2007; 2(1): 16-20.
22. Costa-Bauza A, Grases F, Gomila I, Rodriguez A, Prieto RM, Tur F. A simple and rapid colorimetric method for determination of phytate in urine. *Urol Res* 2012; 40(6): 663-669.
23. Costa-Bauza A, Grases F, Fakier S, Rodriguez A. A novel metal-dye system for urinary phytate detection at micro-molar levels in rats. *Analytical Methods* 2013; 5(12): 3016-3022.
24. Prieto RM, Gomila I, Söhnel O, Costa-Bauza A, Bonnin O, Grases F. Study on the structure and composition of aortic valve calcific deposits. Etiological aspects. *Journal of biophysical chemistry: Scientific research*, 2011;2 19-25.
25. Grases F, Sohnel O, Zelenkova M. Ultrafine structure of human aortic valve calcific deposits. *J cytol histol* 2014; 5:2.
26. Oyane A, Onuma K, Kokubo T, Ito A. Clustering of Calcium Phosphate in the System $\text{CaCl}_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-KCl-H}_2\text{O}$. *The Journal of Physical Chemistry B* 1999; 103(39): 8230-8235.
27. Grases F, Zelenkova M, Sohnel O. Structure and formation mechanism of calcium phosphate concretions formed in simulated body fluid. *Urolithiasis* 2014; 42(1): 9-16.
28. Grases F, Simonet BM, Vucenik I, Prieto RM, Costa-Bauza A, March JG et al. Absorption and excretion of orally administered inositol hexaphosphate (IP(6) or phytate) in humans. *Biofactors* 2001; 15(1): 53-61.
29. Schlemmer U, Frolich W, Prieto RM, Grases F. Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53 Suppl 2: S330-375.
30. Nesbitt SA, Horton MA. Trafficking of matrix collagens through bone-resorbing osteoclasts. *Science* 1997; 276(5310): 266-269.
31. Stenbeck G, Horton MA. Endocytic trafficking in actively resorbing osteoclasts. *Journal of Cell Science* 2004; 117(6): 827-836.
32. Salo J, Lehenkari P, Mulari M, Metsikkö K, Väänänen HK. Removal of Osteoclast Bone Resorption Products by Transcytosis. *Science* 1997; 276(5310): 270-273.
33. Price PA, Lim JE. The inhibition of calcium phosphate precipitation by fetuin is accompanied by the formation of a fetuin-mineral complex. *J Biol Chem* 2003; 278(24): 22144-22152.

■ ■ | Siempre,
estaremos a su lado



Para ocuparnos de su salud en su crecimiento, en su juventud y en todas las etapas de la vida.

Esa es una realidad para cuantos han nacido con nosotros y siguen confiando a ASISA el cuidado de su salud.

Para ASISA es una satisfacción y un estímulo que queremos compartir con cuantos integran nuestro cuadro médico. Es una forma de entender la asistencia sanitaria que nos distingue y constituye una de las señas de identidad de nuestra Compañía.

- asisa **salud**
- asisa **plus**
- asisa **autónomos**
- asisa **empresas**
- asisa **dental**
- asisa **hospitalización**
- asisa **accidentes**
- asisa **previsión**

Y ahora también:

asisa
vida

asisa 
Somos médicos

asisa **Baleares** Pere Dezcallar i Net, 10 • 07010 Palma de Mallorca • Tels: 971 72 24 46/ 971 71 46 84 • e-mail: jvillar@asisa.es

asisa **contrata** 901 10 10 10 | asisa **informa** 902 010 010 | asisa.informacion@asisa.es • www.asisa.es

RT-PCR multiplex para la detección simultánea de las mutaciones FLT3-ITD/NPM-1/AML1-ETO asociadas a Leucemia Mieloide Aguda

RT-PCR multiplex allowing simultaneous detection of mutations FLT3-ITD/NPM-1/AML1-ETO associated with Acute Myeloid Leukemia

Jordi Martínez-Serra¹⁻⁴, José María Sánchez¹, Antonio Gutiérrez¹⁻⁴, Leyre Bento¹, M^a Antonia Durán¹, Antònia Sampol¹⁻⁴, Irene Aguilar², Daniel Morell², Carmen Santos³, Carmen Vidal³, Juan Carlos Amat¹, Joan Besalduch¹⁻⁴

1. Servicio Hematología, 2. Servicio Análisis Clínicos, 3. Unidad de Secuenciación,
4. Instituto de Investigación Sanitaria de Palma (IdISPa)
Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca.

Correspondencia

Jordi Martínez-Serra
Servicio de Hematología - Hospital Universitario Son Espases
Ctra. Valldemossa nº 79, 07010
Tel.: 971 175 000 (65188)
jorgej.martinez@ssib.es

Recibido: 27 - II - 2014

Aceptado: 14 - III - 2014

doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.29.02.17

Resumen

La Leucemia Mieloide Aguda (LMA) representa un grupo de neoplasias muy heterogéneo. Las aberraciones citogenéticas detectadas en el momento del diagnóstico son el marcador pronóstico más comúnmente utilizado. Sin embargo, el 20% de los casos de LMA presentan un cariotipo normal. Dentro de este grupo de pacientes la presencia de mutaciones del tipo *FLT3-ITD* se considera de mal pronóstico. Sin embargo, la presencia de la mutación *NPM1* o *AML1-ETO* se asocia a un mejor pronóstico.

En este contexto, el objetivo de este trabajo es el desarrollo de una técnica de diagnóstico molecular hematológico, que permita la detección simultánea de mutaciones para estos tres genes. Hemos desarrollado un método basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permite amplificar y visualizar simultáneamente estos 3 marcadores tanto desde ARN (un paso) como desde ADNc (dos pasos). De las 28 muestras analizadas, 6 (21,42 %) muestras fueron positivas para *FLT3-ITD*, 7 para *NPM-1* (25%) y otras 4 (14,28) para *AML1-ETO*. Al comparar ambos métodos (ADNc vs ARN) con métodos convencionales los resultados de las 28 muestras estudiadas fue equivalente en el 100% de los casos, demostrando la robustez de los mismos.

Abstract

Acute Myeloid Leukemia (AML) is a heterogeneous group of neoplasms. The cytogenetic aberrations detected at the time of diagnosis are most commonly used as prognostic marker. However, 20% of AML patients exhibit a normal karyotype. Within this group of patients the presence of *FLT3-ITD* mutations type is considered of poor prognosis. However, the presence of *AML1-ETO* or *NPM-1* or mutation is associated with a better prognosis.

In this context, the aim of this work is to develop a technique of molecular diagnostic in hematology, allowing the simultaneous detection of mutations for these three genes. We have developed a method based on PCR that simultaneously amplifies and visualizes these three molecular markers both from RNA (one- step) and from cDNA (step two). Of the 28 samples tested, 6 (21.42%) samples were positive for *FLT3-ITD*, 7 for *NPM-1* (25%) and 4 (14,28) for *AML1-ETO*. When comparing the two methods (cDNA vs RNA) by conventional techniques the obtained results from the 28 samples tested was equivalent in 100% of cases, demonstrating the robustness of this development.

Introducción

La leucemia mieloide aguda (LMA) comprende un grupo heterogéneo de neoplasias hematopoyéticas malignas caracterizado por la proliferación de precursores mieloides con una capacidad de diferenciación celular reducida. A nivel molecular, la caracterización de alteraciones genéticas en pacientes diagnosticados de LMA con cariotipo normal permite identificar distintos subgrupos pronósticos¹. Estas alteraciones se pueden englobar en: aquellas que se producen en proteínas que interfieren con factores de transcripción relacionados con la regulación de la diferenciación hematopoyética normal (AML1-ETO and NPM1) y aquellas relacionadas con las cascadas de transducción de señal asociadas con la supervivencia celular o vías de muerte celular programada o apoptosis (FLT3). La tirosin-quinasa 3 Fms-like es una proteína codificada por el gen FLT3. Se ha demostrado la presencia de aberraciones genómicas de este gen en el 25-30% de los adultos con LMA. Las mutaciones en el gen de la tirosin-quinasa Fms-like suelen consistir en duplicaciones en tándem (ITD) del dominio citoplasmático en la región próxima a la membrana (JM), induciendo la activación constitutiva del receptor tirosin-quinasa FLT3. La duplicación FLT3-ITD es por sí misma un marcador pronóstico²⁻⁵. Muchos estudios han observado que los pacientes con LMA con mutaciones FLT3-ITD tienen tasas de supervivencia libre de enfermedad peores debido a recaídas. Aproximadamente el 25% de las LMA en adultos presentan duplicaciones en tándem en el dominio cercano a la membrana (JM) del gen FLT3. Esto causa cambios estructurales en la JM, alterando la conformación auto inhibitoria del receptor, promoviendo la activación del receptor y sus dianas moleculares. Por otra parte, el gen NPM1 codifica la proteína nucleofosmina (NPM1), con varias funciones celulares como la formación de proteínas, transporte de ribosomas, replicación del ADN y progresión del ciclo celular^{6, 7}. En el núcleo la NPM1 se une a otra proteína conocida como ARF, un supresor tumoral, manteniéndola en la localización adecuada y protegiéndola de la inactivación. Las mutaciones en el gen NPM-1 ocurren generalmente en el exón 12; existen descritas 40 variantes moleculares de esta mutación, siendo la más común la duplicación TCTG. Una de las características distintivas de las mutaciones NPM1 es su localización aberrante en el citoplasma de las células leucémicas, interfiriendo con las funciones onco supresoras del ARF y esto se cree que lleva a la producción anormal de blastos⁸. La fusión de los genes RUNX1-RUNX1T1 t(8;21)(q22;q22) se observa en el 7% de adultos con reciente diagnóstico de LMA (llegando a más del 40% en el caso de pacientes con LMA-M2). Esta translocación se yuxtapone el gen RUNX1 (AML1) en el cromosoma 21 con el gen RUNX1T1 (ETO) en el cromosoma 8. Este producto desregula múltiples vías de transducción, promoviendo la auto renovación de

células mieloides inmaduras e interfiriendo con la adecuada diferenciación hematopoyética^{9, 10}. La presencia de la proteína de fusión t(8;21) AML1-ETO tiene un pronóstico favorable en adultos pero es un marcador de pronóstico incierto en población pediátrica. Finalmente cabe destacar que AML1-ETO se ha utilizado con éxito como marcador de enfermedad mínima residual en pacientes con AML portadores de la translocación¹¹, por lo tanto además del factor pronóstico es de alta utilidad en el seguimiento posterior de la enfermedad por técnicas de PCR cuantitativa.

Material y métodos

Pacientes, recogida muestras, aislamiento de ARN y síntesis de ADNc

Se analizó el ARNm de 28 pacientes (2006-2013) diagnosticados de LMA en nuestro centro. El protocolo fue aprobado por el comité de Investigación de Hospital Son Espases. La edad mediana de los pacientes fue de 61 años (29-78 años) y el ratio hombre/mujer del 50%. La sangre periférica o Medula Ósea se recogió en tubos que contenían EDTA. La extracción de ARNm se realizó con el RNeasy® mini kit (QIAGEN, Valencia, California), siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez aislado, el ARNm se disolvió en 50 µl de agua destilada y se cuantificó con un espectrofotómetro Ultrosec 4300 pro (Amersham Bioscience). Con el objetivo de estandarizar las muestras, la concentración del ARNm se ajustó a 50 ng/µl. La síntesis de ADNc se realizó utilizando el kit DNAC Transcriptor First Strand (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Diseño de Cebadores

Los cebadores utilizados en la reacción PCR Multiplex se obtuvieron de los manuscritos publicados por Noguera et al. (Leukemia 2005) y Gabert et al (Leukemia 2003), sintetizados por TIB MOLBIOL (Berlín, Alemania). Los cebadores se marcaron en su extremo 5' con diferentes fluorocromos 6-FAM (FLT-3), HEX (NPM-1) y TAMRA (AML1-ETO) (**Tabla I**).

Condiciones de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) desde ADNc. Polimerasa de Roche

Las muestras (salvajes y mutantes para los diferentes genes estudiados) fueron previamente anonimizadas. Una vez sintetizado ADNc se procedió a realizar, en un termociclador Eppendorf Mastercycler Nexus, la PCR múltiplex con el kit de amplificación Lightcycler® FastStart DNA Master Hybprobe (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). 2 µl del ADNc se amplificaron en un volumen total de 20 µl (**Figura 1**). La mezcla de amplificación contenía 11,8 µl de Agua destilada, 1,2 µl de Cl₂Mg (25mM), 0,5 µl de cada uno de los cebado-

res (4 μ M) (ver **tabla II**) y 2 μ l de la Polimerasa (10X) de Roche. Las condiciones de la PCR vienen descritas en la **Tabla II**.

Condiciones de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) desde ARN. Polimerasa de Boline

Paralelamente se realizó una PCR directamente desde el ARNm con el Kit SensiFAST Probe No-ROX One-Step de Boline. Se hizo una mezcla para PCR de 20 μ l que contenía 4 μ l de ARN, 10 μ l de SensiFAST Probe No-ROX One-Step Mix (2X), 0,4 μ l de RiboSafe RNase Inhibitor, 0,2 μ l de reverse Transcriptase, 2,4 μ l de H₂O y 0,5 μ l de cada cebador (4 μ M). Las condiciones de la PCR vienen descritas en la **Tabla II**.

Detección de la mutación por electroforesis capilar

Una vez realizada la PCR múltiplex los productos de PCR se visualizaron inicialmente en un gel de agarosa (2%) y posteriormente fueron analizados mediante electroforesis capilar. Los productos de PCR obtenidos fueron desnaturalizados a 95°C durante 3 minutos, realizándose posteriormente la electroforesis en el secuenciador ABI PRISM 3130xL Genetic analyzer (Applied Biosystems®, Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, Ca, USA). Se aplicó la matriz F (5-FAM, JOE, NED, ROX). Los datos obtenidos fueron analizados con el software GeneMapper v4.1

Sensibilidad de la técnica

Con el objetivo de conocer la sensibilidad de la técnica, se realizaron diluciones seriadas de muestras (50 ng/ μ l) mutadas para FLT3, NPM-1 y AML1-ETO, con muestras (50 ng/ μ l) que no presentaban la mutación (100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%, 5%). La electroforesis capilar fue capaz de detectar las formas mutantes por encima del 5%.

Resultados

Two-Step RT-PCR vs One-Step RT-PCR

Se comparó el protocolo con retro transcripción previa (Polimerasa Roche)(dos reacciones) con el protocolo que engloba la retro transcripción del ARNm y la amplificación del ADNc en una sola reacción (Polimerasa Boline) (**Tabla II**). De las 28 muestras analizadas, 6 (21,42 %) muestras fueron positivas para FLT3-ITD, 7 para NPM-1 (25%) y otras 4 (14,28) para AML1-ETO. En 3 de las muestras positivas para FLT3-ITD, también se encontró el NPM-1 mutado (10,71%). No encontramos ninguna muestra con reordenamiento AML1-ETO que a su vez presentase las mutaciones FLT3-ITD o NPM-1. Al comparar ambos métodos (ADNc vs ARN) los resultados de las 28 muestras estudiadas fue equivalente en el 100% de los casos, demostrando la solidez de los mismos.

Tabla I: Secuencia de los cebadores utilizados en la Técnica Triplex.

Nombre	Cebador Forward (Fluorocromo)	Cebador Reverse
FLT3 (Noguera et al, Leukemia 2005)	5'- 6FAM-GATCCTAGTACCTTCCCAAACCTC-3'	5'-GGTGTGCGAGCAGTACTCTAAACAGGT-3'
(Noguera et al, Leukemia 2005)	5'-HEX-ACCATTTCATGTCTGAGCACC-3'	5'-ATCAATTATGTGAAGAATTGCTTAC-3'
AM1-ETO (Gabert et al, Leukemia 2003)	5'-TAMRA-CACCTACCACAGAGCCATCAAA-3'	5'-ATCCACAGGTGAGTCTGGCATT-3'

Tabla II: PCR mix para el protocolo de amplificación a partir de ADNc/ARN.

PCR (ADNc)	Volumen (μ l)	PCR (ARN)	Volumen (μ l)
H ₂ O	11,8	H ₂ O	2,4
Cl ₂ Mg (25 mM)	1,2	RiboSafe RNase Inhibitor	0,4
Reaction Mix (10X)	2	SensiFAST Probe No-ROX One-Step Mix (2X)	10
Cebador FW FLT3 (4 μ M)	0,5	Reverse Transcriptase	0,2
Cebador RV FLT3 (4 μ M)	0,5	Cebador FW FLT3 (4 μ M)	0,5
Cebador FW NPM-1 (4 μ M)	0,5	Cebador RV FLT3 (4 μ M)	0,5
Cebador RV NPM-1 (4 μ M)	0,5	Cebador FW NPM-1 (4 μ M)	0,5
Cebador AML-1 (4 μ M)	0,5	Cebador RV NPM-1 (4 μ M)	0,5
Cebador ETO (4 μ M)	0,5	Cebador AML-1 (4 μ M)	0,5
ADNc	2	Cebador ETO (4 μ M)	0,5
		ARN (50ng/ml)	4

Validación de Resultados

Todas las muestras fueron previamente evaluadas para FLT-3, NPM-1 usando un método ya publicado¹². Asimismo la translocación AML1-ETO se validó por PCR cuantitativa siguiendo el protocolo descrito por Gabert et al.¹³. Paralelamente se secuenciaron varias de las muestras por con el objetivo de comparar nuestros resultados con un método convencional de referencia. La coincidencia entre los resultados obtenidos por secuenciación o PCR a tiempo Real y los dos métodos descritos en este manuscrito fue del 100%

Discusión

LMA es un grupo de neoplasias heterogéneo. Las aberraciones citogenéticas detectadas en el momento del diagnóstico son el marcador pronóstico más comúnmente utilizado. Sin embargo, el 20% de los casos de LMA presentan un cariotipo normal. Dentro de este grupo de pacientes la presencia de mutaciones del tipo FLT3-ITD se considera de mal pronóstico. Sin embargo, la presencia de la mutación NPM1 o AML1-ETO se asocia a un mejor pronóstico. En este contexto, el objetivo de este trabajo es el desarrollo de una técnica de diagnóstico molecular hematológico, que permita la detección simultánea de mutaciones para estos tres genes. La técnica se basa en una PCR multiplex que permite detectar las tres mutaciones desde ARN o ADNc. Hasta la fecha ya se había descrito la posibilidad de realizar la detección simultánea de FLT-3 y NPM-1 desde ADNc¹². Este método también se basa la visualización de bandas

por electroforesis capilar. Desde nuestro laboratorio hemos ampliado el espectro de mutaciones que se pueden analizar añadiendo la detección de la translocación AML1-ETO y además hemos configurado el método para que la PCR se pueda realizar, con idéntica fiabilidad, directamente desde ARNm. Esta adaptación técnica permite ahorrar unas dos horas en el protocolo estándar que obliga a realizar una retro transcripción previa del ARN a ADNc. Con este propósito se ha utilizado el kit SensiFAST Probe No-ROX One-Step comercializado por Biorline, como alternativa a la polimerasa de Roche, Lightcycler® FastStart DNA Master Hybprobe, que a su vez detecta las tres mutaciones desde ADNc. De esta manera evitamos el previo paso de retro transcripción disminuyendo considerablemente el tiempo y coste requerido para la realización de la prueba. Además al minimizar los pasos a realizar se reduce significativamente la probabilidad de que se produzcan contaminaciones cruzadas entre las muestras. Por otra parte, el hecho de combinar el AML1-ETO con FLT-3 y NPM1 en un protocolo diagnóstico permitirá la realización de estudios prospectivos donde se podrá estudiar/analizar el significado clínico de la combinación de estos genes en pacientes con AML. En la bibliografía no existen datos sólidos que presenten de manera inequívoca cuál es el valor pronóstico de la translocación AML-1-ETO cuando se encuentra en combinación con FLT3-ITD, NPM-1 o ambos. Finalmente, debido al creciente auge de las pruebas de diagnóstico molecular dirigidas a la estratificación del tratamiento en pacientes con LMA se plantea la posibilidad de añadir nuevos genes utilizando la estrategia descrita en el presente manuscrito.

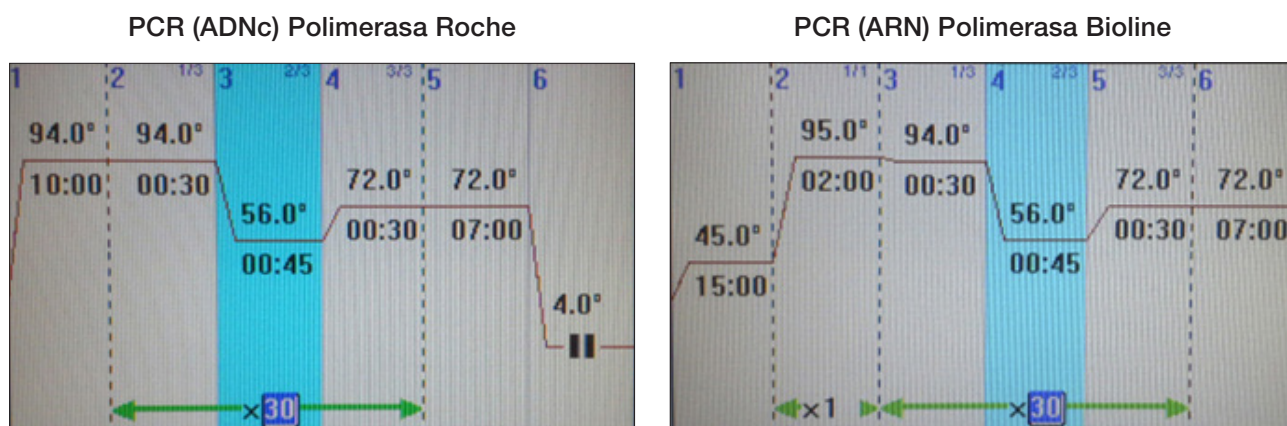
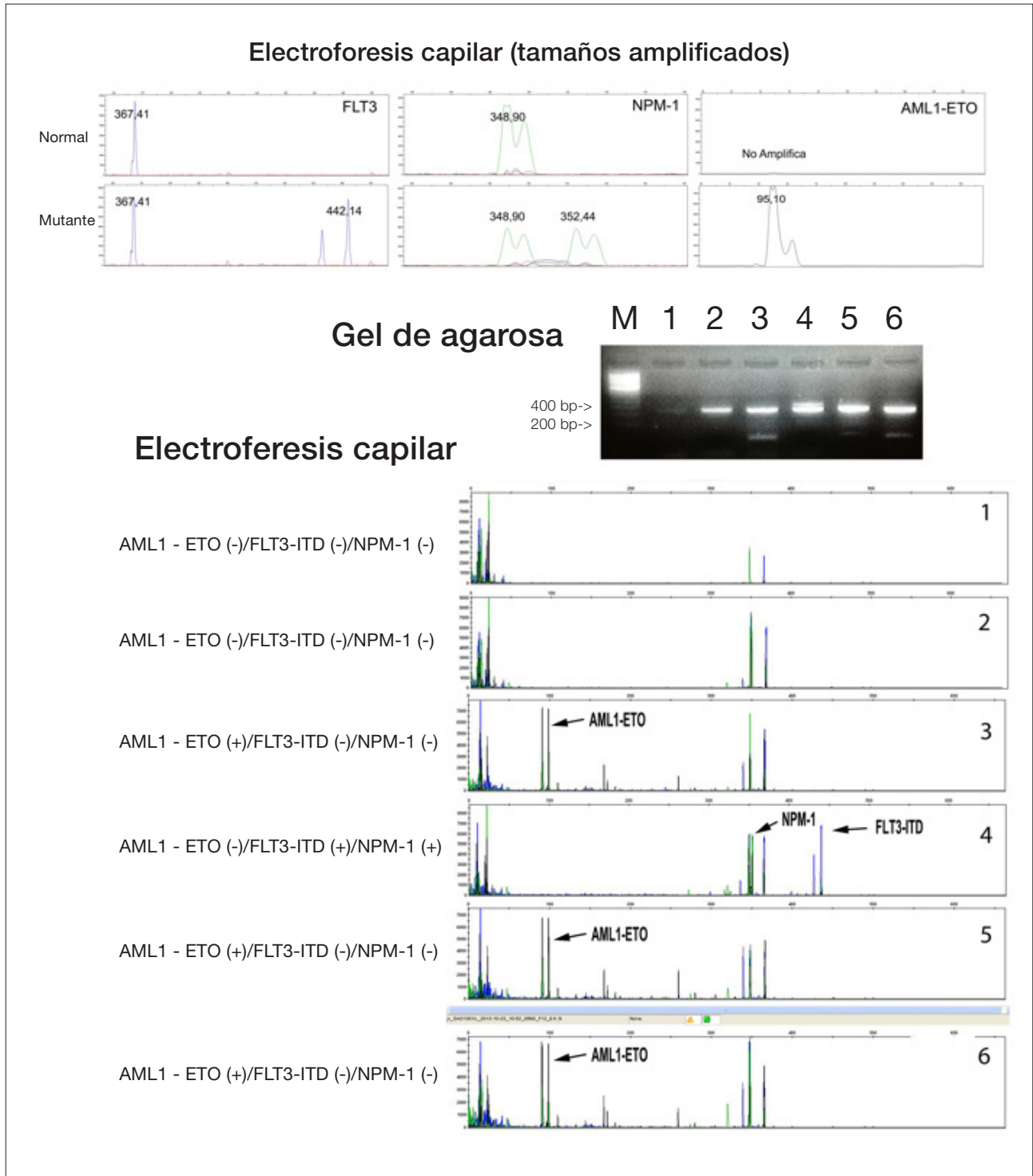


Figura 1: Condiciones del termociclador para la amplificación simultánea de FLT3, NPM-1 y AML1- ETO.

Figura 2: Electroforesis Capilar y gel de agarosa. Tamaños de cada uno de los genes (mutante y salvaje)



Bibliografía

1. Nimer SD. Is it important to decipher the heterogeneity of "normal karyotype AML"? *Best Pract Res Clin Haematol*. 2008 Mar;21(1):43-52.
2. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y, Yokota S, Minami S, Miyawaki S, et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1999 May 1;93(9):3074-80.
3. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, Langabeer SE, Belton AA, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood*. 2001 Sep 15;98(6):1752-9.
4. Kottaridis PD, Gale RE, Linch DC. Prognostic implications of the presence of FLT3 mutations in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2003 Jun;44(6):905-13.
5. Frohling S, Schlenk RF, Breittruck J, Benner A, Kreitmeier S, Tobis K, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood*. 2002 Dec 15;100(13):4372-80.
6. Thiede C, Koch S, Creutzig E, Steudel C, Illmer T, Schaich M, et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*. 2006 May 15;107(10):4011-20.
7. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, Alcalay M, Rosati R, Pasqualucci L, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N Engl J Med*. 2005 Jan 20;352(3):254-66.
8. Suzuki T, Kiyoi H, Ozeki K, Tomita A, Yamaji S, Suzuki R, et al. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2005 Oct 15;106(8):2854-61.
9. Cho EK, Bang SM, Ahn JY, Yoo SM, Park PW, Seo YH, et al. Prognostic value of AML 1/ETO fusion transcripts in patients with acute myelogenous leukemia. *Korean J Intern Med*. 2003 Mar;18(1):13-20.
10. Fu L, Huang W, Jing Y, Jiang M, Zhao Y, Shi J, et al. AML1-ETO triggers epigenetic activation of early growth response gene 1, inducing apoptosis in t(8;21) acute myeloid leukemia. *Febs J*. Dec 6.
11. Zhang L, Li Q, Li W, Liu B, Wang Y, Lin D, et al. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22). *Int J Hematol*. Jun;97(6):786-92.
12. Noguera NI, Ammatuna E, Zangrilli D, Lavorgna S, Divona M, Buccisano F, et al. Simultaneous detection of NPM1 and FLT3-ITD mutations by capillary electrophoresis in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2005 Aug;19(8):1479-82.
13. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, Bi W, Grimwade D, Pallisgaard N, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003 Dec;17(12):2318-57.

Influencia del consumo de tabaco, actividad física, alimentación y edad en los valores de diferentes índices aterogénicos en población mediterránea española

The influence of tobacco consumption, physical activity, diet and age on the values of different atherogenic indexes in Spanish Mediterranean population

**Ángel Arturo López González^{1,2}, Yarianne Inalvis Rivero Ledo³,
M^a Teófila Vicente Herrero⁴, Milagros Queimadelos Carmona⁵,
M^a Nieves Monroy Fuenmayor⁵, Cristina Núñez Fernández¹**

1. Servicio de Prevención de Riesgos Laborales. Servei de Salut. Illes Balears. 2. Jefe de Estudios Unidad Docente de Medicina del Trabajo. Illes Balears. 3. Residente de 4º año de Medicina del Trabajo. Unidad Docente de Medicina del Trabajo. Illes Balears. 4. Medicina del Trabajo. Grupo Correos Valencia y Castellón. 5. Dirección General de Salud Pública y Consumo. Conselleria de Salut i Consum. Govern de les Illes Balears.

Correspondencia

Dr. Ángel Arturo López González
Servicio de Prevención Hospital de Manacor
Carretera Manacor Alcudia, S/N, 07500 - Manacor, Islas Baleares
Tel.: 971 847 000
angarturo@gmail.com

Recibido: 13 - I - 2014
Aceptado: 14 - III - 2014

doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.29.02.23

Resumen

Introducción: Los índices aterogénicos son buenos indicadores para predecir las enfermedades cardiovasculares ya que reflejan muy bien las interacciones clínicas y metabólicas de las fracciones lipídicas.

Material y método: Estudio descriptivo y transversal en 60.798 trabajadores del área mediterránea española en los que se determinan diferentes índices aterogénicos y se valora la influencia que tienen en ellos diferentes hábitos saludables como el consumo de tabaco, la actividad física y la alimentación.

Resultados: Al comparar los valores medios y los porcentajes de valores normales en los diferentes índices aterogénicos vemos que son mejores en todos los casos en personas que realizan actividad física regular y tienen una alimentación cardiosaludable. En los no fumadores los valores son igualmente mejores en todos los casos salvo en el índice de Castelli en el grupo de mujeres.

Conclusión: Los datos de nuestro estudio, especialmente los del análisis multivariante, muestran que todos los hábitos cardiosaludables afectan positivamente a los valores de todos los índices aterogénicos, siendo el que más influencia tiene la actividad física regular.

Palabras clave: Índice aterogénico, riesgo cardiovascular, prevención, tabaco, actividad física

Abstract

Introduction: The atherogenic indexes are good indicators for predicting cardiovascular disease since the clinical and metabolic interactions of lipid fractions are well reflected.

Tools and Methods: A descriptive cross-sectional study of 60798 workers from the Spanish Mediterranean area in which different atherogenic indexes are determined, after taking into consideration the influence that different habits, such as tobacco consumption, physical activity and diet, may have on them.

Results: When comparing the average values and the percentage of normal values in the different atherogenic indexes, we find that without exception those who engage in physical activity regularly and eat a healthy diet have better results. Likewise, the results for the non-smokers are better with the exception of the Castelli index in the group of women.

Conclusion: The data from our study, especially the multivariate analysis, indicates that all heart-healthy habits have a positive effect on all the results of atherogenic indexes; regular physical activity being the most decisive.

Keywords: Atherogenic index, cardiovascular risk, prevention, tobacco, physical activity

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de morbi-mortalidad en los países desarrollados. Sin embargo esta situación no es exclusiva de ellos, ya que en los últimos años¹ cerca del 80% de las muertes por enfermedades cardiovasculares se produjeron en países de renta media y baja, y la mortalidad seguirá en aumento si no se frenan o se invierten las tendencias actuales.

El proceso anatomopatológico subyacente en la mayoría de los casos es la arteriosclerosis, en el cual se acumulan lípidos, monocitos y linfocitos T en la íntima, que lleva a la migración y proliferación de células del músculo liso, y a la elaboración de colágeno y matriz. La enfermedad aterosclerótica, que empieza en las primeras décadas de la vida, es un proceso relativamente benigno e inicialmente lento que suele permanecer asintomático hasta que aparece un compromiso significativo de la luz vascular, una oclusión súbita o complicaciones trombóticas. Estos depósitos son responsables de la oclusión parcial o total de las arterias en tres localizaciones principales: cerebro, corazón y extremidades. Como la mayoría de enfermedades cuya prevalencia aumenta con la edad, obedece a una patología compleja que depende de la interacción de factores genéticos y ambientales.^{2,3}

En el momento actual, la combinación de una alimentación no saludable junto a la escasa actividad física, constituye uno de los principales factores de riesgo para el aumento de enfermedades crónicas no transmisibles como obesidad, hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares.

Los estudios realizados en las últimas décadas orientan al papel de la dieta como elemento fundamental en el desarrollo de la arteriosclerosis.^{4,5} Los dos parámetros que con mayor frecuencia se asocian a la elevada incidencia de la enfermedad cardiovascular, ambos fuertemente correlacionados entre sí, son la proporción de calorías del régimen alimentario suministradas por los ácidos grasos saturados y la colesterolemia media, esta correlación ya fue descrita por Keys⁶ y por el estudio MONICA.^{7,8} Estudios epidemiológicos posteriores muestran que la alteración en la composición de los ácidos grasos de la dieta origina modificaciones en la concentración plasmática de colesterol y de las distintas lipoproteínas. Estos cambios dependerán, entre otros factores, del sexo, de la edad del individuo, del tipo y cantidad de ácidos grasos presentes en la dieta, del tiempo de consumo de la misma y de la eficiencia en el proceso de absorción. La mayor incidencia de enfermedad coronaria se relacionará con elevados niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos y LDL-colesterol, y una baja concentración de HDL-colesterol.⁹⁻¹⁷

Para la OMS el 80% de las muertes prematuras debidas a enfermedades cardiovasculares y diabetes po-

drían evitarse controlando los factores de riesgo.¹⁸ El consejo sanitario orientado a motivar a la población a implementar sencillos cambios alimentarios (sustitución de grasas saturadas por grasas poliinsaturadas, reducción de la ingesta de sal, control del peso) y de hábitos (incremento del ejercicio físico), es una manera rentable y sostenible de reducir los factores causantes de enfermedades cardiovasculares, por ello, es aceptado por los organismos internacionales que la práctica de actividades cardiosaludables, el realizar 30 minutos de actividad física moderada por día e ingerir dietas en las cuales el porcentaje de lípidos (kcal lipídicas / 100 Kcal de dieta) sea inferior al 30%, son básicas para disminuir el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares.¹⁹ El conocimiento y detección de los factores de riesgo desempeña un importante papel en la valoración del riesgo cardiovascular y es la pieza clave sobre la que giran las estrategias de intervención.

El riesgo cardiovascular, no es más que la probabilidad de sufrir un evento cerebrovascular en un determinado periodo de tiempo que habitualmente se cifra en diez años. Su cálculo es una aproximación indirecta a la carga aterosclerótica de un sujeto. Para determinar este riesgo se han desarrollado varias tablas y ecuaciones, basadas en estudios de cohortes, en las que introduciendo diversos parámetros (edad, sexo, presencia de factores de riesgo) se obtiene una estimación del riesgo de presentar un evento cardiovascular en los años siguientes.

La determinación del riesgo cardiovascular es la base en la que se sustentan la mayoría de guías médicas que se ocupan de la prevención cardiovascular. Aunque es bien conocido el origen multifactorial del proceso que generalmente da origen a las alteraciones cardiovasculares, la arteriosclerosis, se sabe también que casi la mitad del riesgo atribuible para una población en lo relativo al riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular está relacionado con el metabolismo lipídico.²⁰

Buscando un mayor grado de predicción de las enfermedades cardiovasculares surgió la necesidad de crear diferentes instrumentos que la valoraran mejor, y en este entorno se enmarcan los índices aterogénicos. Estos índices proporcionan importante información sobre factores de riesgo difíciles de cuantificar mediante los análisis sistemáticos clásicos y son un mejor reflejo de las interacciones clínicas y metabólicas de las fracciones lipídicas. Existen en la literatura científica varios índices o cocientes lipoproteicos, siendo los más destacados: relación entre colesterol total/c-HDL (índice de Castelli), c-LDL/ c-HDL (índice de Kannel), log TG/HDL, TG/c-HDL, cociente c-LDL/Apo B, cociente c-HDL/ colesterol no-HDL (índice de Rouffy) o cociente apolipoproteína B/ apolipoproteína A.

Creemos que los índices lipoproteicos han sido escasamente utilizados en la prevención cardiovascular aunque

pueden aportar valiosa información sobre la valoración del riesgo. Su empleo como importantes predictores del riesgo cardiovascular, se basa en un gran número de estudios epidemiológicos que han demostrado que estos índices tiene una correlación mayor con la enfermedad cardiovascular y, por ello, son mejores predictores de ella que los parámetros lipídicos simples.²¹⁻²³

Por ello, y en un intento de mejorar el grado de conocimiento de estas herramientas, el objetivo principal del presente trabajo es determinar la influencia de determinados hábitos higiénicos, como el consumo de tabaco, la alimentación y el ejercicio físico, en los valores de diferentes índices aterogénicos en población del área mediterránea española.

Personas y método

Características del estudio.

Se realiza un estudio descriptivo y transversal en 60.798 trabajadores (25.972 mujeres y 34.826 hombres) de las Comunidades Autónomas de les Illes Balears y Valenciana y en el periodo comprendido entre enero de 2011 y diciembre de 2012. Los trabajadores fueron seleccionados entre los que acudieron a los reconocimientos médicos laborales periódicos. Se informó a los Comités de Seguridad y Salud de las diferentes empresas y se pidió el consentimiento informado a todas las personas que entraron en el estudio para cumplir con la legislación vigente.

Criterios de inclusión/exclusión

Como criterios de inclusión se consideran: tener entre 20 y 70 años, aceptar el uso de los datos obtenidos en los reconocimientos médicos con fines epidemiológicos y pertenecer a alguna de las empresas incluidas en el estudio. Como criterios de exclusión se incluye: la no aceptación del trabajador en el uso de los datos para el estudio, no realizarse extracción de sangre por laboratorio concertado y no pertenecer a alguna de las empresas que participantes. En el periodo citado se realizaron 61.227 reconocimientos médicos y fueron descartados 429 trabajadores (85 por no ceder el uso de sus datos, 112 por no realizarse extracción para muestra sanguínea y 232 por no estar en el tramo de edad considerado en el estudio).

Determinación de variables.

Las diferentes mediciones antropométricas, clínicas y las extracciones para las analíticas fueron realizadas por el personal sanitario de las diferentes unidades de salud laboral que intervenían en el estudio. Los análisis de sangre se realizaron en dos laboratorios, uno en cada comunidad autónoma para evitar el sesgo interlaboratorio.

Para determinar los diferentes parámetros antropométricos se siguen las recomendaciones internacionales. La altura y peso se determinaron mediante báscula-tallime-

tro homologada. El perímetro de cintura abdominal se calculó con una cinta métrica colocada paralela al suelo a nivel de la última costilla flotante, es decir, se mide el contorno del talle natural tomado entre la parte superior del hueso de la cadera (crestas ilíacas) y la costilla inferior, medido durante la respiración normal con el sujeto de pie y con el abdomen relajado.

El colesterol total (CT) y los triglicéridos se determinaron por métodos enzimáticos automatizados, el C-HDL se determinó por precipitación con dextrano-sulfato C12Mg, el colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) se calculó mediante la fórmula de Friedwald (siempre que los triglicéridos fueron < 400 mg/dl), el VLDL se obtuvo al dividir los triglicéridos entre 5. La extracción de sangre se realizó en la misma sesión y en el mismo lugar, tras ayuno nocturno de 12 horas. Las muestras se remitieron al laboratorio de referencia y se procesaron en un máximo de 72 horas, conservándolas a una temperatura de -20°C.

La presión arterial se determinó empleando un esfigmomanómetro automático OMRON M3 calibrado; tras un periodo de reposo de 10 minutos en decúbito supino, con tres mediciones realizadas a intervalos de 1 minuto de separación entre ellas, calculándose la media de las tres mediciones. Se consideró HTA cuando los valores eran iguales o superiores a 140/90 mmHg.

Para calcular los diferentes índices aterogénicos se emplearon las siguientes fórmulas:

- índice aterogénico de Castelli²⁴ = Colesterol total/c-HDL.
- índice aterogénico de Kannel = c-LDL/c-HDL.
- índice aterogénico log triglicéridos/c-HDL
- índice aterogénico triglicéridos/c-HDL.
- índice aterogénico de Rouffy = c-HDL/(c-LDL+c-VLDL)

Para cada índice se establecieron diferentes puntos de corte de acuerdo a los datos existentes en la bibliografía: Se consideró índice de Castelli con riesgo bajo²⁵ si los valores eran inferiores a 4,5% en mujeres e inferiores a 5% en hombres, moderado entre 4,5-7% en mujeres y 5-9% en hombres y alto si era superior al 7 y 9% respectivamente. Índice de Kannel de riesgo bajo si era inferior a 3% y alto a partir de ese valor. Los índices log triglicéridos/c-HDL y triglicéridos/c-HDL se consideran elevados a partir de 0,5% y 3%.

El consumo de tabaco, la alimentación y el ejercicio físico se determinaron mediante entrevista clínica estructurada y realizada durante el reconocimiento médico. Se consideró fumador a aquella persona que fumaba de forma regular al menos un cigarrillo al día en el último mes y ex fumador a que llevaba al menos 12 meses sin fumar. De acuerdo con el American College of Sport Medicine y la American Heart Association se considera una actividad

física cardiosaludable cuando la persona realiza habitualmente 30 minutos de actividad física moderada al menos 5 días a la semana o 20 minutos de actividad vigorosa tres días a la semana²⁶. Para valorar la alimentación cardiosaludable se preguntó la frecuencia en el consumo de frutas (tres o más piezas) y verduras u hortalizas (al menos dos raciones), considerándose correcto si este consumo era diario.

Análisis estadístico.

Cuando la variable es continua se comparan las medias mediante la prueba t de Student-Fischer si la variable sigue una distribución normal, o con la prueba no paramétrica test de U de Mann-Whitney si no se cumple el principio de normalidad. Si la variable es cualitativa se comparan las proporciones mediante la prueba chi cuadrado de Pearson. Para el análisis multivariante se emplea la regresión logística con el cálculo de las odds ratio. En todos los análisis se aceptó como nivel de significación un valor de p inferior a 0,05.

Resultados

En total se incluyeron en el estudio 60.798 trabajadores del área mediterránea española, un 42,7% eran mujeres y un 57,3% hombres. Las características demográficas, clínicas y analíticas completas de la muestra se presentan en la **Tabla I**.

Los valores de todos los parámetros, tanto demográficos (edad), como antropométricos (peso, talla, índice de masa corporal, perímetro de cintura), clínicos (tensión arterial sistólica y diastólica), analíticos (colesterol total, c-

HDL, c-LDL, c-VLDL, triglicéridos y glucemia) o de índices aterogénicos son siempre más desfavorables en los hombres que en las mujeres, siendo en todos los casos las diferencias estadísticamente significativas y con un nivel de significación muy elevado (p < 0.0001).

Cuando se valoran los distintos índices aterogénicos de acuerdo a su catalogación según los diferentes puntos de corte establecidos internacionalmente, se puede apreciar que en las mujeres, y de acuerdo al consumo o no de tabaco, el reparto en el índice de Castelli no muestra diferencias estadísticamente significativas entre fumadores y no fumadores (p 0.089), mientras que si se observan diferencias en los otros índices, especialmente en el log TG/c-HDL y TG/c-HDL. De acuerdo al nivel de actividad física y a la alimentación se puede apreciar que los porcentajes de índices aterogénicos catalogados como bajos o normales son superiores en el grupo que hace actividad física regular y se alimenta diariamente con frutas y verduras, siendo en todos los casos las diferencias estadísticamente muy significativas (p < 0.0001). Los datos completos se presentan en la **Tabla IIa**.

En los varones la situación es similar a la observada en las mujeres, en todos los casos con diferencias observadas estadísticamente significativas y con unos valores de chi cuadrado mayores que los obtenidos en mujeres. Los datos completos se presentan en la **Tabla IIb**.

Al determinar el valor medio de los diferentes índices aterogénicos, tanto en hombres como en mujeres, y teniendo en cuenta el consumo de tabaco, el de frutas, verduras y hortalizas y el nivel de actividad física realizado, se aprecia que en todos los casos los valores son superiores

Tabla I: Características de la muestra.

	mujeres (n=25972)		hombres (n=34826)		p
	media (dt)	IC 95%	media (dt)	IC 95%	
edad	39,5 (10,2)	39,4-39,6	40,4 (10,3)	40,3-40,5	< 0.0001
altura	161,3 (6,5)	161,2-161,4	173,8 (7,1)	173,7-173,9	< 0.0001
peso	65,1 (13,1)	64,9-65,3	81,3 (13,9)	81,1-81,5	< 0.0001
IMC	25 (4,9)	24,9-25,1	26,9 (4,2)	26,8-27	< 0.0001
p cintura	75,4 (9,8)	75,2-75,6	88,6 (9,7)	88,5-88,7	< 0.0001
TAS	114,6 (15,1)	114,4-114,8	125,3 (15,7)	125,1-125,5	< 0.0001
TAD	70,4 (10,4)	70,3-70,6	76 (10,8)	75,9-76,1	< 0.0001
Colesterol (CT)	193 (36,4)	192,6-193,4	196,9 (38,7)	196,5-197,3	< 0.0001
HDL	55 (9,2)	54,9-55,1	50,5 (7,6)	50,4-50,6	< 0.0001
LDL	120,5 (36,9)	120,1-120,9	121,8 (37,3)	121,4-122,2	< 0.0001
VLDL	17,6 (9,2)	17,5-17,7	25,1 (17,8)	24,9-25,3	< 0.0001
Triglicéridos (tg)	87,9 (46)	87,3-88,5	125,3 (88,8)	124,4-126,2	< 0.0001
glucemia	85,2 (15,1)	85-85,4	90,6 (21,2)	90,4-90,8	< 0.0001
CT/HDL	3,6 (1)	3,6-3,6	4 (1,2)	4-4,1	< 0.0001
LDL/HDL	2,3 (1)	2,3-2,3	2,5 (1)	2,5-2,5	< 0.0001
log tg/HDL	0,2 (0,2)	0,2-0,2	0,3 (0,3)	0,3-0,3	< 0.0001
tg/HDL	1,7 (1)	1,7-1,7	2,6 (2,3)	2,6-2,6	< 0.0001
HDL/LDL+VLDL	0,4 (0,2)	0,4-0,4	0,4 (0,2)	0,4-0,4	< 0.0001

Tabla IIa: Porcentaje de mujeres incluidas en los diferentes grupos, según catalogación en cada uno de los índices aterogénicos y atendiendo a sus hábitos higiénicos.

mujeres		no fumador (n=14257)	fumador (n=11715)	chi ²	p
CT/HDL	bajo	81,88	80,85	4,8	0,089
	moderado	17,48	18,41		
	alto	0,64	0,74		
LDL/HDL	bajo	77,82	76,72	4,4	0,035
	alto	22,18	23,28		
log TG/HDL	w ≥ 0,5	6,00	7,28	17,3	< 0,0001
	< 0,5	94,00	92,72		
TG/HDL	> 3	6,94	8,29	16,8	< 0,0001
	≤ 3	93,06	91,71		
		si ejercicio (n=13562)	no ejercicio (n=12410)		
CT/HDL	bajo	96,43	65,01	4214,7	< 0,0001
	moderado	3,31	33,56		
	alto	0,26	1,43		
LDL/HDL	bajo	92,69	60,54	3819,2	< 0,0001
	alto	7,31	39,46		
log TG/HDL	≥ 0,5	0,00	13,76	1997,9	< 0,0001
	< 0,5	100,00	86,24		
TG/HDL	> 3	0,01	15,78	2307,7	< 0,0001
	≤ 3	99,99	84,22		
		fruta/verdura si (n=13143)	fruta/verdura no (n=12829)		
CT/HDL	bajo	95,13	67,37	3307,2	< 0,0001
	moderado	4,63	31,25		
	alto	0,24	1,38		
LDL/HDL	bajo	91,41	62,90	3010,4	< 0,0001
	alto	8,59	37,10		
log TG/HDL	≥ 0,5	0,34	12,96	1683	< 0,0001
	< 0,5	99,66	87,04		
TG/HDL	> 3	0,45	14,82	1921,2	< 0,0001
	≤ 3	99,55	85,18		

Tabla IIb: Porcentaje de hombres incluidos en los diferentes grupos según catalogación en cada uno de los índices aterogénicos y atendiendo a sus hábitos higiénicos.

hombres		no fumador (n=15942)	fumador (n=18884)	chi ²	p
CT/HDL	bajo	86,24	81,34	160	< 0,0001
	moderado	13,61	18,25		
	alto	0,15	0,41		
LDL/HDL	bajo	88,22	84,19	117	< 0,0001
	alto	11,78	15,81		
log TG/HDL	≥ 0,5	19,32	26,47	247,8	< 0,0001
	< 0,5	80,68	73,53		
TG/HDL	> 3	21,35	28,87	258,1	< 0,0001
	≤ 3	78,65	71,13		
		si ejercicio (n=15343)	no ejercicio (n=19483)		
CT/HDL	bajo	98,80	71,60	4629,7	< 0,0001
	moderado	1,15	27,88		
	alto	0,05	0,52		
LDL/HDL	bajo	98,57	76,16	3588,7	< 0,0001
	alto	1,43	23,84		
log TG/HDL	≥ 0,5	0,78	40,85	7738	< 0,0001
	< 0,5	99,22	59,15		
TG/HDL	> 3	1,38	44,36	8362,3	< 0,0001
	≤ 3	98,62	55,64		
		fruta/verdura si (n=13956)	fruta/verdura no (n=20870)		
CT/HDL	bajo	97,92	73,99	3490,2	< 0,0001
	moderado	2,03	25,52		
	alto	0,05	0,49		
LDL/HDL	bajo	97,73	78,21	2650,9	< 0,0001
	alto	2,27	21,79		
log TG/HDL	≥ 0,5	1,67	37,59	6057,2	< 0,0001
	< 0,5	98,33	62,41		
TG/HDL	> 3	2,44	40,80	6487,6	< 0,0001
	≤ 3	97,56	59,20		

en los hombres respecto a las mujeres.

En cada uno de los sexos los valores son más elevados: en las personas que fuman frente a las que no fuman, en las que no realizan actividad física regularmente frente a los que si la realizan y en los que no consumen diariamente frutas, verduras y hortalizas en comparación con los que si las consumen. En todos los casos las diferencias observadas son estadísticamente significativas ($p < 0.0001$).

Los valores medios más desfavorables de los cinco índices aterogénicos estudiados, tanto en hombres como en mujeres, corresponden al grupo de fumadores por encima de las personas que no hacen ejercicio o que no comen frutas, verduras y hortalizas diariamente.

Los datos completos, así como su representación gráfica se presentan en la **Tabla III** y **gráficas 1a** y **1b**.

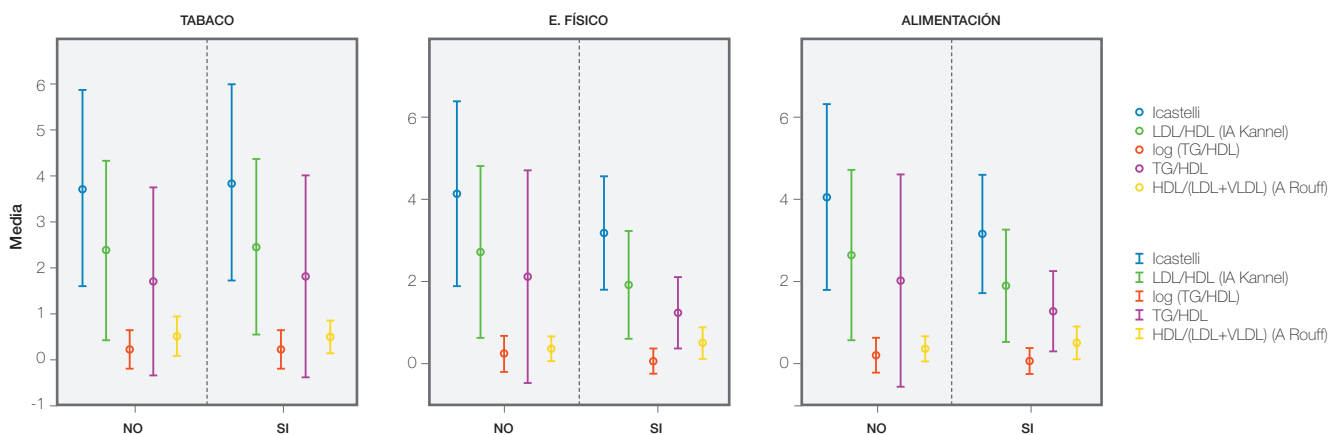
Cuando se realiza análisis multivariante y se calculan las odds ratio en los índices aterogénicos se observa que en los índices de Kannel y TG/c-HDL, tanto en mujeres

como en hombres, los cuatro factores analizados (edad, tabaco, ejercicio y alimentación) tienen influencia en los resultados. Para el índice de Castelli en el grupo de las mujeres ocurre lo mismo, mientras que en los varones no se observa la influencia del factor alimentación, aunque si del resto de las variables. En ambos sexos la variable que más influye es el ejercicio físico. Los datos completos aparecen en la **Tabla IV**.

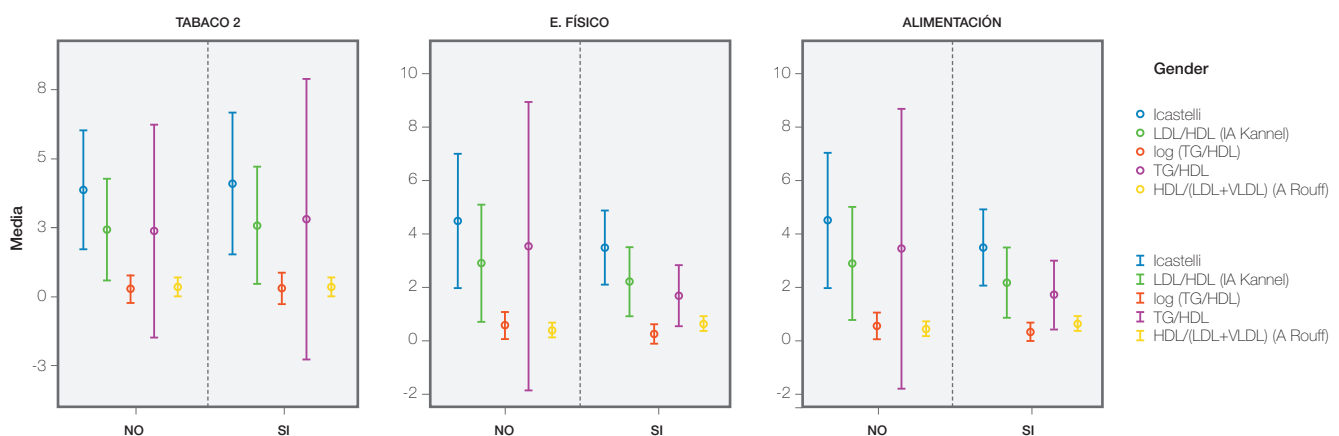
Discusión

El concepto global de factor de riesgo de la enfermedad cardiovascular se aplica a aquellos signos y hábitos adquiridos que se encuentran con más frecuencia entre los enfermos de cardiopatía en relación con la población general, permitiendo de esta manera la identificación de poblaciones con mayor riesgo de presentar la enfermedad en los próximos años. Actualmente los factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular se dividen en modificables y no modificables. Los modificables son los que son susceptibles de cambiar bien sea mejorando el estilo de

Gráfica 1a: Valores medios de los diferentes índices aterogénicos en mujeres según consumo de tabaco, ejercicio físico y alimentación.



Gráfica 1b: Valores medios de los diferentes índices aterogénicos en hombres según consumo de tabaco, ejercicio físico y alimentación.



vida o con tratamiento médico y los no modificables son aquellos imposibles de cambiar como la edad, el género y la herencia.²⁷ La identificación de todos estos factores y el conocimiento de su distribución en la población es importante dado que existe evidencia de que al actuar frente a ellos, el riesgo de enfermedad cardiovascular puede disminuir significativamente.²⁸⁻²⁹

En los trabajos con una orientación claramente preventiva como el nuestro los más interesantes para analizar son los factores modificables y por ello hemos elegido para nuestro trabajo estudiar cómo afectan tres de los principales factores de riesgo modificables, tabaco, actividad física y alimentación, en unos parámetros muy relacionados con el riesgo cardiovascular como son los índices aterogénicos.

La principal aportación de este estudio radica en poner de manifiesto que todas las variables analizadas, tanto demográficas (edad) como de hábitos saludables (tabaco, ejercicio físico y alimentación) guardan relación e influyen en los valores de los diferentes índices aterogénicos estudiados.

En nuestro trabajo, tanto en los análisis univariantes como en el multivariante, se ha observado la influencia de la actividad física en el descenso de los valores de los diferentes índices aterogénicos, estos datos coinciden con los descritos en la gran mayoría de estudios consultados realizados en población general, tanto realizados en España³⁰ como en otros países,³¹⁻³² lo mismo observamos en un estudio realizado en población laboral.³³

La relación entre el consumo de tabaco y los valores de los índices aterogénicos se centra principalmente en el efecto que tiene sobre los niveles de adiponectina, en dos estudios se observa que las personas que dejan de fumar aumentan los niveles de adiponectina de manera que disminuye el riesgo de arteriosclerosis.³⁴⁻³⁵

Los datos encontrados en la literatura científica sobre el efecto de la dieta rica en frutas y verduras sobre los índices aterogénicos coincide con los datos encontrados en nuestra investigación. Esos datos se corroboran tanto con los estudios realizados en ratas³⁶⁻³⁸ como en humanos.³⁹⁻⁴⁰

Tabla III: Valores de la media y desviación típica de los diferentes índices aterogénicos en mujeres y hombres según consumo de tabaco, ejercicio físico y alimentación.

	n	CT/HDL	p	LDL/HDL	p	logTG/HDL	p	TG/HDL	p	HDL/(LDL+VLDL)	p
mujeres no fumadores	14257	3,59 (1,04)	< 0.0001	2,26 (0,96)	< 0.0001	0,15 (0,21)	< 0.0001	1,63 (1,00)	< 0.0001	0,46 (0,20)	< 0.0001
mujeres fumadores	11715	3,69 (1,04)		2,35 (0,95)		0,18 (0,21)		1,72 (1,08)		0,43 (0,18)	
hombres no fumadores	15942	3,90 (1,15)	< 0.0001	2,43 (0,92)	< 0.0001	0,29 (0,25)	< 0.0001	2,38 (1,92)	< 0.0001	0,39 (0,16)	< 0.0001
hombres fumadores	18884	4,13 (1,27)		2,57 (1,06)		0,36 (0,27)		2,87 (2,54)		0,37 (0,16)	
mujeres sí ejercicio	13562	3,17 (0,69)	< 0.0001	1,92 (0,66)	< 0.0001	0,07 (0,16)	< 0.0001	1,26 (0,43)	< 0.0001	0,52 (0,2)	< 0.0001
mujeres no ejercicio	12410	4,15 (1,13)		2,72 (1,05)		0,27 (0,22)		2,12 (1,3)		0,37 (0,15)	
hombres sí ejercicio	15343	3,42 (0,71)	< 0.0001	2,10 (0,66)	< 0.0001	0,17 (0,17)	< 0.0001	1,59 (0,59)	< 0.0001	0,46 (0,17)	< 0.0001
hombres no ejercicio	19483	4,51 (1,27)		2,83 (1,10)		0,46 (0,26)		3,47 (2,75)		0,32 (0,12)	
mujeres sí fruta/verdura	13143	3,19 (0,73)	< 0.0001	1,93 (0,69)	< 0.0001	0,08 (0,16)	< 0.0001	1,30 (0,49)	< 0.0001	0,51 (0,20)	< 0.0001
mujeres no fruta/verdura	12829	4,09 (1,13)		2,68 (1,04)		0,25 (0,22)		2,05 (1,29)		0,37 (0,16)	
hombres sí fruta/verdura	13956	3,41 (0,73)	< 0.0001	2,09 (0,67)	< 0.0001	0,17 (0,18)	< 0.0001	1,61 (0,66)	< 0.0001	0,46 (0,17)	< 0.0001
hombres no fruta/verdura	20870	4,44 (1,26)		2,79 (1,08)		0,43 (0,27)		3,33 (2,70)		0,33 (0,13)	

Tabla IV: índices aterogénicos: análisis multivariante y odds ratio por sexo.

	CT/c-HDL OR	IC 95%	c-LDL/c-HDL OR	IC 95%	TG/HDL OR	IC 95%
Mujeres						
edad	2,16	2,01-2,32	2,23	2,09-2,38	1,42	1,29-1,57
tabaco	1,18	1,09-1,26	1,14	1,07-1,22	1,35	1,22-1,48
ejercicio	8,61	7,46-9,93	5,18	4,6-5,83	5	2,03-8,05
alimentación	1,59	1,39-1,81	1,47	1,31-1,65	3,02	2,31-3,96
Hombres						
edad	2,27	2,13-2,41	2,13	1,99-2,27	1,39	1,31-1,47
tabaco	1,29	1-21-1,38	1,26	1,18-1,35	1,44	1,36-1,52
ejercicio	3,15	2,57-4,32	2,43	1,95-3,3	4,26	3,48-5,21
alimentación	ns	ns	1,4	1,15-1,7	1,29	1,09-1,54

Bibliografía

1. Leeder S.A race against time: the challenge of cardiovascular disease in developing economies. Columbia University, New York 2004.
2. EUROASPIRE. A European Society of Cardiology survey of secondary prevention of coronary heart disease: principal results. EUROASPIRE Study Group. European Action on Secondary Prevention through Intervention to Reduce Events. *Eur Heart J* 1997; 18(10):1569-82.
3. Fuster V, Topol E, Nabel E. Atherothrombosis and coronary artery disease. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2005.
4. Grande F. Dieta, lipoproteínas y aterosclerosis. En: Sáez de la Calzada C, Zarco P, editores. *Cardiopatía isquémica*. Barcelona: Doyma, 1985; 23-31.
5. Dayton S, Pearce ML, Hashimoto S. A controlled clinical trial of a diet high in unsaturated fat in preventing complications of atherosclerosis. *Circulation* 1969; 40 (Supl 2): 1-63.
6. Keys A. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 1970; 41 (Supl 4): 1-211.
7. Pisa Z, Uemura K. Trends of mortality from ischemic heart disease in 27 countries, 1968-1977. *World Health Stat Q* 1982; 35: 11-47.
8. Uemura K, Pisa Z. Trends in cardiovascular disease mortality in industrialized countries since 1950. *World Health Stat Q* 1988;41(3-4):155-78.
9. Erkkilä A, de Mello VD, Risérus U, Laaksonen DE. Dietary fatty acids and cardiovascular disease: an epidemiological approach. *Prog Lipid Res* 2008 May;47(3):172-87.
10. Jakobsen MU, O'Reilly EJ, Heitmann BL, Pereira MA, Bälter K, Fraser GE, et al. Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. *Am J Clin Nutr* 2009;89(5):1425-32.
11. Hu FB, Willett WC. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA* 2002;288(20):2569-78.
12. Shepherd J. Raising HDL-cholesterol and lowering CHD risk: does intervention work?. *European Heart Journal Supplements* 2005; 7 (Supplement F): F15-F22
13. Barter P. Is high-density lipoprotein the protector of the cardiovascular system? *Eur Heart J Suppl* 2004;6 Suppl A): A19-A22.
14. Assmann G, Gotto AM. HDL Cholesterol and Protective Factors in Atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(23 Suppl 1):III8-14
15. Toth P. High-Density Lipoprotein and Cardiovascular Risk. *Circulation* 2004;109(15):1809-12
16. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death—executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death) Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *European Heart Journal* 2006; 27(17):2099-140
17. Montalbán Sanchez J. Factores de riesgo cardiovascular y su influencia sobre el índice CT/HDL en un centro de salud de Málaga. *Medicina de Familia* 2002; 3(2): 92-102
18. World Health Organization. Preventing chronic diseases: A vital investment. Geneva, World Health Organization, 2005, p15. Disponible en <http://www.who.int>
19. Human Energy Requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Rome, 17-24 October 2001.
20. Yusuf S, Hawken S, Öunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-52.
21. Kinoshita B, Glick H, Garland G. Cholesterol and coronary heart disease: predicting risks by levels and ratios. *Ann Intern Med* 1994;121:641-7.
22. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1996;276:882-8.
23. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001;285:2481-5.
24. Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: The Framingham Study. *Am J Med* 1984; 76: 4-9
25. Orgaz-Morales MT, Hijano-Villegas S, Martínez-Llamas MS, López-Barba J, Díaz-Portillo J. Guía del paciente con trastornos lipídicos. Ministerio de Sanidad y Consumo. Instituto Nacional de Gestión Sanitaria. 2007
26. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:1423-34
27. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP et al. AHA guidelines for primary prevention of cardiovascular disease and stroke. *Circulation* 2002; 106:388-91.
28. Bakhr A, Erlinger TP. Smoking cessation and cardiovascular disease risk factors: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *PLoS Med* 2005; 2:e160.
29. Magnus P, Beaglehole R. The real contribution of the major risk factors to the coronary epidemics: time to end the "only-50%" myth. *Arch Intern Med* 2001; 161:2657-60.
30. García-Ortiz L, Grandes G, Sánchez-Pérez A, Montoya I, Iglesias-Valiente JA, Recio-Rodríguez JI et al. Efecto en el riesgo cardiovascular de una intervención para la promoción del ejercicio físico en sujetos sedentarios por el médico de familia. *Rev Esp Cardiol* 2010; 63(11):1244-52.
31. Stranska Z, Matoulek M, Vilikus Z, Svacina S, Stransky P. Aerobic exercise has beneficial impact on atherogenic index of plasma in sedentary overweight and obese women. *Neuro Endocrinol Lett* 2011;32(1):102-8.
32. Leon AS, Rice T, Mandel S, Despres JP, Bergeron J, Gagnon J, et al. Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: the HERITAGE Family Study. *Metabolism* 2000;49:513-20.
33. Naghii MR, Almadadi M, Zarchi AA. Regular physical activity as a basic component of lifestyle modification reduces major cardiovascular

risk factors among male armored force personnel of Shabestar army installation in Iran. *Work* 2011;40(2):217-27

34. Efstathiou SP, Skeva II, Dimas C, Panagiotou A, Parisi K, Tzanoumis L, et al. Smoking cessation increases serum adiponectin levels in an apparently healthy Greek population. *Atherosclerosis* 2009;205(2):632-6.

Kotani K, Hazama A, Hagimoto A, Saika K, Shigeta M, Katanoda K et al. Adiponectin and smoking status: a systematic review. *J Atheroscler Thromb* 2012;19(9):787-94.

35. Ezz El-Arab AM. A diet rich in leafy vegetable fiber improves cholesterol metabolism in high-cholesterol fed rats. *Pak J Biol Sci* 2009 ;12(19):1299-306.

36. Lee JS, Lee MK, Ha TY, Bok SH, Park HM, Jeong KS, et al. Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food Chem Toxicol* 2006 ;44(11):1875-83.

37. Woo MN, Bok SH, Lee MK, Kim HJ, Jeon SM, Do GM, et al. Anti-obesity and hypolipidemic effects of a proprietary herb and fiber combination (S&S PWH) in rats fed high-fat diets. *J Med Food* 2008 ;11(1):169-78.

38. Díaz-Realpe JE, Muñoz-Martínez J, Sierra-Torres CH. Factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares en personas que trabajan en una institución de salud de Colombia. *Rev Salud Publica (Bogotá)* 2007;9(1):64-75.

39. Babio N, Bulló M, Salas-Salvadó J. Mediterranean diet and metabolic syndrome: the evidence. *Public Health Nutr* 2009 ;12(9A):1607-17

40. Jones JL, Comperatore M, Barona J, Calle MC, Andersen C, McIntosh M, et al. A Mediterranean-style, low-glycemic-load diet decreases atherogenic lipoproteins and reduces lipoprotein (a) and oxidized low-density lipoprotein in women with metabolic syndrome. *Metabolism* 2012 Mar;61(3):366-72.

ORIGINAL

Prevenió de lesions en el futbol

*Preventing football injuries***Bartomeu Riutord Fe, Joana Maria Fe Mas, Neus Riutord Fe,
Maria Salvá Cerdá, Carme Riutord Fe, Raquel Seco Melantuche***Poliesportiu Es Revolt - Montuiri.***Correspondència**

Bartomeu Riutord Fe
Rosa Canals 25-A
07120 Palma de Mallorca
Tel.: 620 687 744
riutord@gmail.com

Rebut: 16 – X – 2013**Acceptat:** 12 – XII - 2013**doi:** 10.3306/MEDICINABALEAR.29.02.33**Resum**

Introducció: Les lesions més comuns en el futbol són les de turmell, genoll, pubàlgies i lesions musculars de tronc inferior. Actualment hi ha pocs estudis en quant a la seva prevenió i causa.

Objectius: Conèixer les principals lesions degudes a la pràctica de futbol, la seva causa i incidència. Dissenyar mètodes de treball per a prevenir aquestes lesions, aplicar-los i si és possible validar els resultats obtinguts.

Material i mètode: S'han aplicat i estudiat els mètodes de treballs dissenyats sobre un equip de futbol semi-professional de 19 jugadors de la Tercera Divisió Balear.

Resultats: Amb el mètode aplicat s'ha reduït en un 45% la incidència de pubàlgies. Respecte a les altres lesions, no s'han observat millores.

Conclusions: Els mètodes de prevenió de lesions són eficients per a prevenir lesions de pubis.

Paraules Clau: Futbol, lesions, prevenió, rendiment esportiu, exercicis alternatius

Abstract

Introduction: The most common injuries due to the football practice are ankle, knee, pubis and lower trunk muscle injuries. Currently there are not enough studies about its prevention and cause.

Objectives: Recognize the main injuries due to the football practice, its cause and incidence. Design methods to prevent these injuries, apply them and if it's possible validate the results.

Material and methods: The methods designed have been implemented and studied on a semi-professional football team of Balearic Third Division, formed by 19 players.

Results: The incidence of pubis injuries has been reduced around 45% of its incidence. About the other injuries there are not significant results.

Conclusions: Injury prevention methods are effective to prevent pubis injuries.

Keywords: Football, injuries, prevention, sports performance, alternative exercises

Introducció

El grau d'incidència de lesions en el futbol es defineix com el nombre de noves lesions que es produeixen durant un període de temps determinat, dividit pel total del nombre de jugadors exposats a aquest risc. A partir d'aquesta definició, podem trobar diferents teories del risc a que es veuen sotmesos els futbolistes, que mirarem com ho mirem estan exposats a un gran risc, molt més del que ens podem imaginar. Segons Hawkins i Fuller (1999), el risc de lesió que presenta el futbol és 1000 vegades superior que el que sofreixen els treballadors d'una indústria exposats a alt risc. Per altra banda,

segons Krosshaug, Andersen, Olsen, Myklebust i Bahr (2005), tots els futbolistes d'èlit tenen al menys una lesió greu que els limiti el rendiment una vegada a l'any i els partits són de 4 a 6 vegades més agressius que els entrenaments.

En funció de molts aspectes del joc, ja sigui la superfície on es juga, el gènere o edat dels jugadors o jugadores, el nivell de la competició i fins i tot la posició en el camp, és produeixen amb major nombre un tipus de lesions o altres i amb més o menys incidència, però en definitiva després d'analitzar diferents estudis com el de Andersen, Larsen, Tenga, Engebretsen i Bahr (2003),

el de Wong i Hong (2005) o el de Fuller et al. (2007), les lesions més comuns produïdes en aquest esport les podem dividir en dos grups: les lesions musculars, i lesions de articulacions (turmells, genolls i pelvis que deriven en pubàlgies).

J. Dvorak et al., 2007 i altres autors diuen que una de les causes de l'augment de les lesions són l'exigència i professionalitat de les competicions en que es juga. Per altra banda hi ha altres factor intrínsecs com als que es refereixen Lehance, Binet, Bury i Croiser (2009) en el seu estudi on exposen que la fortalesa muscular i el poder anaeròbic de les extremitats inferiors i altres variables neuromusculars, afecten al risc de sofrir lesions en aquest esport. Els quàdriceps són els músculs més importants a l'hora de prevenir problemes de genolls, mentre que els isquiotibials són els que més sofreixen en el moment del xut a porta en un treball excèntric d'aquest.

Per a poder prevenir aquestes lesions, s'han de cuidar molts factors com l'escalfament, estiraments i tornada a la calma en entrenaments i partits, el descans i alimentació dels jugadors, l'ús adequat de complements com protectors de canyelles, protectors de turmells o plantilles,... Però sobre tot proposar un programa de prevenció de lesions per minimitzar el risc de lesions en un esport on existeixen grans descompensacions musculars.

En el moment d'aplicar un programa d'aquest tipus, el primer que hem de fer és estudiar el col·lectiu sobre el qual el volem aplicar i proposar-lo de forma individualitzada (Petersen & Hölmich, 2005). Greig i Siegler (2009), en el seu estudi defensen la pràctica d'exercicis per potenciar el moviment excèntric del múscle i tonificar els principals múscles implicats en les lesions més comuns.

Degut a que no s'han trobat fonts documentals determinants sobre l'efectivitat de la prevenció de lesions en el futbol, és adient realitzar un protocol teòric i posat en pràctica en temps real a una població dedicada a la pràctica d'aquest esport.

A la documentació revisada en aquesta secció venen explícites les principals referències que fan possible

aconseguir els objectius plantejats en aquesta investigació. Aques són conèixer les principals lesions degudes a la pràctica de futbol¹, la seva causa, incidència² i a partir d'aquí dissenyar un mètode de treball per a prevenir les lesions més freqüents en el futbol³ i validar en el seu cas els seus resultats⁴.

Material i mètode

Diseny de l'estudi i característiques dels participants

Es proposarà una rutina de treball de 35 a 45 minuts setmanals destinada a la prevenció de lesions de turmell, genoll, pubis i musculars de tronc inferior, a l'equip de futbol C.D.Montuiri de la Tercera Divisió Espanyola del grup XI durant la temporada 2012/13 considerant-lo un equip semi-professional.

Un cop aplicat aquest treball durant tota la temporada, analitzarem i treure'm conclusions dels resultats obtinguts del treball realitzat a través d'un formulari per a cada un dels jugadors, en el que principalment es compararà les lesions sofertes durant aquesta temporada amb relació a la temporada passada i a la seva carrera esportiva, tenint en compte l'edat del jugadors, la posició que ocupa en el camp i sobre tot si és el primer cop que realitza aquest tipus de treball de prevenció.

Instal·lacions i material

Tots els entrenaments i partits a casa es realitzen al Camp Municipal de Montuiri, que disposa de gespa artificial de segona generació en mal estat. Aquesta és una altra data significativa degut a que segons Ekstrand et al. (2006), sobre gespa artificial de primera i segona generació és més freqüent la lesió de turmell que sobre gespa natural. Durant la setmana es realitzen un mínim de 4 entrenaments i un partit.

Respecte al material necessari, el club disposa de tot el que es necessita: Estoretes, cinturons russos, bancs, barres, discs de 5 i 10 Kg, *bosus*, *fitballs*, discs de proppiocepció, cons, patinets, tanques i pilotes de futbol.



Figura 1:
Passades sobre el bosu



Figura 2:
Quàdriceps amb cinturó rus



Figura 3:
Excèntric d'adductors

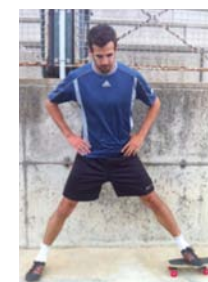


Figura 4:
"El patinet"

Figura 5: Temporada 2011/12. Comparativa entre jugadors que feren prevenció de lesions i jugadors que no en feren

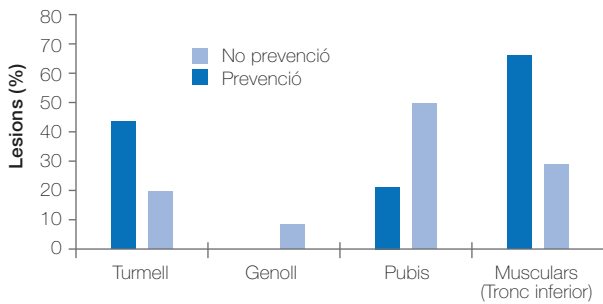
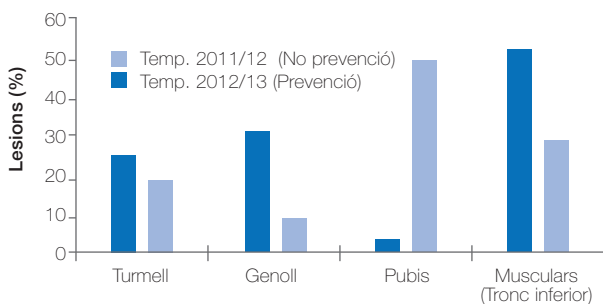


Figura 6: Lesions dels jugadors que no feren prevenció de lesions de la temp. 2011/12 i dels de la temp. 2012/13



Procediment de camp

Es proposarà un circuit que es realitzarà per parelles en els que aniran fent de forma aleatòria alguns dels exercicis proposats a continuació. Només es farà una volta al circuit, on cada exercici durarà com a màxim 2 min en total, i per tant hi haurà de 12 a 15 postes.

Durant la temporada s'ha realitzat aquesta rutina des del primer mes de pretemporada fins la darrera setmana d'entrenaments, al menys un cop a la setmana que equival a 36 sessions i a unes 19 o 20 hores de treball en tota la temporada.

Els exercicis proposats, els dividirem en els diferents tipus de lesions als que estan predestinats.

Pel que fa referència a les lesions de turvell, d'entre els diferents mètodes de treball que Andersen et al. (2004) proposen en el seu estudi, que són de propiocepció, mitjançant exercicis de força i un tercer que inclou ortopèdia, arribaren a la conclusió de que tots ells funcionen. En el nostre cas, treballarem amb el primer mètode que són exercicis de propiocepció, podeu veure un exemple d'exercici a la **figura 1**.

Respecte a la prevenció de lesions de genoll, es realitzarà treball excèntric d'isquiotibials i quàdriceps (**figura 2**), seguit en cada un dels casos d'una transferència de carrera d'uns 10 metres acostant talons al cul i d'elevació de genolls o (*skipping*) respectivament. Depenent de la sessió també es realitzarà treball concèntric de quàdriceps fent $\frac{1}{2}$ squats amb transferència de salts de tanca amb puc junts.

En aquest estudi, es considera que la lesió amb més possibilitats de prevenir és la de pubàlgia, per això li dedicarem especial atenció proposant múltiples exercicis que aniran variant d'una sessió a l'altra en la que treballarem el reforç dels músculs estabilitzadors implicats en aquesta lesió com són els abdominals, lumbar, abductors, adductors i glutis, pel que es realitzaran exercicis excèntrics (**figura 3**), concèntrics (**figura 4**) i isomètrics amb possible transferència.

Per a prevenir les lesions de genoll i pubis, s'ha esmentat el treball de nombrosos músculs del tronc inferior com són el quàdriceps, isquiotibials, bessons, abductors, adductors i glutis que a l'hora ens serveixen per a prevenir lesions d'aquests, als que afegirem la tonificació de bessons amb transferència amb salts amb cames estirades per a prevenir lesions d'aquest músculs degut a que són bastant comuns entre els futbolistes.

Resultats

Fent referència a les principals lesions del futbol, en el present estudi es dedueix que són les musculars de tronc inferior, les de turvell, pubis i genoll, per aquest ordre (**taula I**). Respecte a les primeres, els músculs amb més tendència a sofrir lesions són els isquiotibials amb un 63% d'incidència (**taula II**).

Cal destacar que es tracta d'un equip jove, amb una mitjana d'edat de 21 anys, pel que sofreixen diferents tipus de lesions que altres futbolistes amb major edat que puguin acumular un major desgast articular i muscular. A la **taula III** podem veure una clara diferència un cop dividim el conjunt de jugadors de la plantilla en dos grups segons la seva edat i analitzem qui ha sofert pubàlgia i qui no ho ha fet. Pel que es considera que l'edat dels jugadors és un factor important i a tenir en compte, en concret per aquest tipus de lesió de pubis provocada per un descompensació dels músculs que tenen inserció a la pelvis.

A les **figures 5 i 6** podem veure que tant els jugadors que durant la temporada 2011/12 com els de la 2012/13 que han fet prevenció de lesions, han tingut una incidència de sofrir pubàlgia molt més baixa. Per tant, el mètode de prevenció de lesions dissenyat i aplicat ha estat eficient en quant a la prevenció d'aquest tipus de lesions, reduint de forma significativa aquesta lesió respecte a les dades obtingudes pels mateixos jugadors que no van realitzar una rutina de prevenció de lesions de forma regular durant la temporada anterior amb un 45% menys de incidència.

Respecte a la prevenció de lesions musculars de tronc inferior, de genoll i turvell el mètode de treball no ha estat eficient.

Tabla I: Tipus de lesions sofertes en funció del període de temps

Període	Jugadors estudiats	TIPUS DE LESIÓ			
		Turvell	Genoll	Pubis	Musculars de tronc inferior
Total Carrera Esportiva	19	79% (15)	47% (9)	53% (10)	84% (16)
Total	19	32% (6)	5% (1)	37% (7)	47% (9)
Temporada 2011/12					
Prevenió de lesions	9	44% (4)	0% (0)	22% (2)	67% (6)
No prevenió de lesions	10	20% (2)	10% (1)	50% (5)	30% (3)
Temporada 2012/13 (prevenió de lesions)	19	26% (5)	32% (6)	5% (1)	53% (10)

Tabla II: Tipus de lesions musculars en funció del període de temps

Període	Jugadors estudiats	MÚSCUL AFECTAT				
		Isquiotibial	Quàdriceps	Bessó	Adductor	Abductor
Total Carrera Esportiva	16	63% (10)	44% (7)	38% (6)	25% (4)	6% (1)
Total	9	44% (4)	11% (1)	33% (3)	44% (4)	11% (1)
Temporada 2011/12						
Prevenió de lesions	6	50% (3)	0% (0)	33% (2)	50% (3)	17% (1)
No prevenió de lesions	3	33% (1)	33% (1)	33% (1)	33% (1)	0% (0)
Temporada 2012/13 (prevenió de lesions)	10	40% (4)	20% (2)	0% (0)	10% (1)	0% (0)

Tabla III: Pubàlgia segons edat

	Nombre de jugadors	Han sofert pubàlgia	No han sofert pubàlgia
Tots els jugadors de la plantilla	19	53% (10)	47% (9)
Nascuts entre 1985 - 1989	9	67% (6)	33% (3)
Nascuts entre 1990 - 1993	10	40% (4)	60% (6)

Discussió

Fent referència a l'objectiu proposat de conèixer les principals lesions degudes a la pràctica de futbol¹, aquest estudi ha confirmat que les lesions més freqüents proposades per la majoria d'autors, com Andersen et al. (2003) o Drawer i Fuller (2002) són lesions produïdes sobre les articulacions com el turvell, genoll i maluc, que és d'on prové la pubàlgia.

Respecte al segon objectiu, que era analitzar la causa i la incidència de les lesions², els autors ja comencen

a diferir amb les seves hipòtesis. Respecte a la causa d'aquestes, la majoria d'ells com és el cas de Junge et al. (2004), diuen que la majoria de lesions són degudes al contacte donant valors sobre un 70% respecte a aquest tipus de lesions i un 30% sense contacte. No obstant, trobem alguna excepció com l'estudi fet per Drawer i Fuller (2002), on diuen que només el 39% de les lesions són degudes al contacte i el 47% al moviments específics d'aquest esport. No s'han pogut treure conclusions significatives en aquest estudi al respecte, degut a que no s'han estudiat les lesions en funció de si es van produir per contacte

físic o no. Respecte a la incidència, els autors també tenen diferents opinions pel que no podem validar els resultats obtinguts.

El tercer objectiu que es va proposar era dissenyar mètodes de treball per a prevenir lesions³. La informació trobada de la recerca bibliogràfica sobre mètodes utilitzats per a prevenir lesions ha estat molt limitat pel que en molts de casos s'ha decidit per intuïció, experiència i conceptes assimilats anteriorment. Sempre que s'ha pogut, s'ha individualitzat l'entrenament, tal i com Petersen i Hölmich (2005) recomanen en el seu estudi. Per tant en repeticions, càrregues, temps d'execució,... depenent del jugador es donaven indicacions per augmentar o disminuir el que s'havia dit en l'explicació general del circuit.

Respecte al treball per a prevenir lesions musculars, tal i com Greig i Siegler (2009) diuen en el seu estudi, s'han plantejat de forma majoritària exercicis en el que es treballin de forma excèntrica el múscul. Segons el seus estudis, en aquest tipus moviment muscular

és quan més lesions es produeixen en la pràctica de futbol. Per altra banda també parlen de la transferència que s'ha de fer després de cada exercici per poder aprofitar el treball fet en els moviments específics de l'esport. En el nostre cas, a les sessions de treball proposades, el treball de transferència no han estat gests tècnics específics de l'esport, sinó que han estat salts i diferents tipus de tècnica de carrera.

Finalment, fent referència al darrer dels objectius redactats, que era validar o no els resultats del mètode aplicat en aquest estudi⁴, s'ha de dir que no han estat els esperats en la majoria de les seccions d'estudi, ja que només podem validar els que fan referència a la lesió de pubis. Deduïm que és degut a que els exercicis de les sessions proposades majoritàriament estaven destinats a la prevenció de pubalgia, i per altre banda degut a un desgast excésiu de la plantilla al ser més curta que les altres al estar formada per 19 jugadors davant els 22 jugadors permesos per plantilla i això ha accentuat l'aparició de lesions.

Bibliografia

1. Hawkins R, Fuller C. A prospective epidemiological study of injuries in four English professional football clubs. *Br J Sports Med* 1999; 33:196-203
2. Koutoures CG, Gregory AJ. Injuries in Youth Soccer. *Pediatrics* 2010; 125(2):410-4.
3. Krosshaug T, Andersen T, Olsen O, Myklebust G, Bahr R. Research approaches to describe the mechanisms of injuries in sport: limitations and possibilities. *Br J Sports Med* 2005; 39:330-9.
4. Dvorak J, Junge A, Derman W, Schwellnus M. Injuries and illnesses of football players during the 2010 FIFA World Cup. *Br J Sports Med* 2011; 45:626-30.
5. Agel J, Evans T, Dick R, Putukian M, Marshall S. Descriptive Epidemiology of Collegiate Men's Soccer Injuries: National Collegiate Athletic Association Injury Surveillance System, 1988-1989 Through 2002-2003. *Journal of Athletic Training* 2007; 42(2):270-7.
6. Woods C, Hawkins R, Hulse M, Hodson A. The Football Association Medical Research Programme: an audit of injuries in professional football – analysis of preseason injuries. *Br J Sports Med* 2002; 36:436-41
7. Bayraktar B., Dinç C, Yücesir I, Evin A. Injury evaluation of the Turkish national football team over six consecutive seasons. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery* 2011; 17 (4):313-7.
8. Kirkendall D, Junge A, Dvorak J. Prevention of Football Injuries. *Asian Journal of Sports Medicine* 2010; 1(2):81-92.
9. Andersen T, Larsen O, Tenga A, Engebretsen L, Bahr R. Football incident analysis: a new video based method to describe injury mechanisms in professional football. *Br J Sports Med* 2003; 37:226-32.
10. Fuller C, Dick R, Corlette J, Schmalz R. Comparison of the incidence, nature and cause of injuries sustained on grass and new generation artificial turf by male and female football players. Part 1: match injuries. *Br J Sports Med* 2007;41:20-6
11. Fuller C, Dick R, Corlette J, Schmalz, R. Comparison of the incidence, nature and cause of injuries sustained on grass and new generation artificial turf by male and female football players. Part 2: training injuries. *Br J Sports Med* 2007; 41:27-32
12. Wong P, Hong Y. Soccer injury in the lower extremities. *Br J Sports Med* 2005; 39:473-82.
13. Woods C, Hawkins R, Hulse M, Hodson A. The Football Association Medical Research Programme: an audit of injuries in professional football: an analysis of ankle sprains. *Br J Sports Med* 2003; 37:233-8.
14. Dvorak J, Junge A, Grimm K, Kirkendall D. Medical report from the 2006 FIFA World Cup Germany. *Br J Sports Med* 2007;41:578-81
15. Drawer S, Fuller CW. Evaluating the level of injury in English professional football using a risk based assessment process. *Br J Sports Med* 2002; 36:446-51
16. Lehanç C, Binet J, Bury T, Croiser J. Muscular strength, functional performances and injury risk in professional and junior elite soccer players. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 2009; 19:243-51
17. Beijsterveldt A, Krist M, Schmikli S, Stubbe J, Wit G, Inklaar H, et al. Effectiveness and cost-effectiveness of an injury prevention programme for adult male amateur soccer players: design of a cluster-randomised controlled trial. *Injury Prevention* 2011; 17(1): e2.
18. Hawkins R, Fuller C. A preliminary assessment of professional footballer's awareness of injury prevention strategies. *Br J Sports Med* 1998;32:140-3
19. Petersen J, Hölmich P. Evidence based prevention of hamstring injuries in sport. *Br J Sports Med* 2005; 39:319-23
20. Waddington G, Adams R. Football boot insoles and sensitivity to extent of ankle inversion movement. *Br J Sports Med* 2003; 37:170-5
21. Greig, M, Siegler J. Soccer-Specific Fatigue and Eccentric Hamstrings Muscle Strength. *Journal of Athletic Training* 2009;44(2):180-4
22. Ekstrand J, Timpka T, Hägglund M. Risk of injury in elite football played on artificial turf versus natural grass: a prospective two-cohort study. *Br J Sports Med* 2006;40:975-80
23. Andersen TE, Tenga A, Engebretsen L, Bahr R. Video analysis of injuries and incidents in Norwegian professional football. *Br J Sports Med* 2004;38:626-31
24. Junge A, Dvorak J, Graf-Baumann T. Football Injuries During the World Cup 2002. *The American Journal of Sports Medicine* 2004;32(1 Suppl):43S-53S

REVISIÓ

Scientific evidence of the benefits of virgin olive oil for human health

Evidencia científica de los beneficios del consumo de aceite de oliva para la salud humana

María-Isabel Covas^{1,2,3}, Rafael de la Torre^{2,4}, Montserrat Fitó^{1,2}.

¹Cardiovascular Risk and Nutrition Research Group, ⁴Human Pharmacology and Neurosciences Research Group, and ²CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición. IMIM- Institut Hospital del Mar d' Investigacions Mèdiques.

³NUPROAS (Nutritional Project Assessment) Handesbolag (NUPROAS HB). Nackå. Sweden.

Correspondence

Dr. María-Isabel Covas.

NUPROAS HB. Spanish.

Office: Apartado de Correos 93. Cassà de la Selva. Girona. Spain.

Tel: +34 630 153 442

E-mail: maria.nuproas@gmail.com

Received: 2 – V – 2014

Accepted: 19 – V - 2014

doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.29.02.39

Abstract

Olive oil is considered to be one of the most healthy dietary fats. There are, however, several types of olive oil present on the market. With the data at present available, the most healthy of them is the virgin olive oil (VOO), rich in phenolic compounds. On November 2011, the European Food Safety Authority (EFSA) released a claim concerning the benefits of the daily ingestion of olive oil rich in phenolic compounds, such as the VOO. In this review, we will summarize the work which have provided scientific evidence of the benefits of VOO consumption over other type of edible oils even olive oils. Data from randomized, controlled human studies, will be presented. This type of studies are able to provide evidence of Level I which is that required for performing nutritional recommendations at population level.

Key words: Virgin olive oil, benefits, nutritional recommendations, tyrosol, hydroxytyrosol

Resumen

Se considera al aceite de oliva una de las grasas más saludables de la dieta. Hay, sin embargo, varios tipos de aceite de oliva presentes en el mercado. Con los datos actualmente disponibles, el más saludable de ellos es el aceite de oliva virgen (AOV), rico en compuestos fenólicos. En noviembre de 2011, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) publicó un declaración acerca de los beneficios de la ingesta diaria de aceite de oliva rico en compuestos fenólicos, como el VOO. En esta revisión, vamos a resumir el trabajo que ha proporcionado la evidencia científica de los beneficios del consumo de AOV sobre otro tipo de aceites comestibles e incluso sobre los otros tipos de aceite de oliva. Presentamos, asimismo, los datos de estudios aleatorizados y controlados en humanos. Este tipo de estudios proporcionan evidencia de nivel I, que es el nivel requerido para ofrecer recomendaciones nutricionales a nivel poblacional.

Palabras clave: Aceite de oliva virgen, beneficios, recomendaciones nutricionales, tirosol, hidroxitirosol

Introduction

Olive oil is the primary source of fat in the Mediterranean diet which is associated with a low mortality for cardiovascular disease¹. A large body of knowledge exists providing evidence of the benefits of olive oil consumption on secondary end points for cardiovascular disease². On November 2004, the Federal Drug Administration (FDA) of the U.S.A permitted a claim on olive oil labels concerning: "the benefits on the risk of coronary heart disease of eating about 2 tablespoons (23 grams) of olive oil daily, due to the monounsaturated fat (MUFA) in olive oil"³. Recently, results of large EPIC cohorts have reported an in-

verse relationship between olive oil consumption and coronary heart disease (CHD) mortality and incidence^{4,5}. An inverse relationship between olive oil consumption and stroke risk in women has been reported in the Three-City Study⁶.

Olive oil has major and minor components. The former are the fatty acids, of which the monounsaturated fatty acid (MUFA), the oleic acid, represents from 55% to 83% of the total fatty acids⁷. The minor components of olive oil constitute from 1% to 2% of the total content of an olive oil and are classified as: 1) the unsaponifiable fraction, which can be extracted with solvents after the saponi-

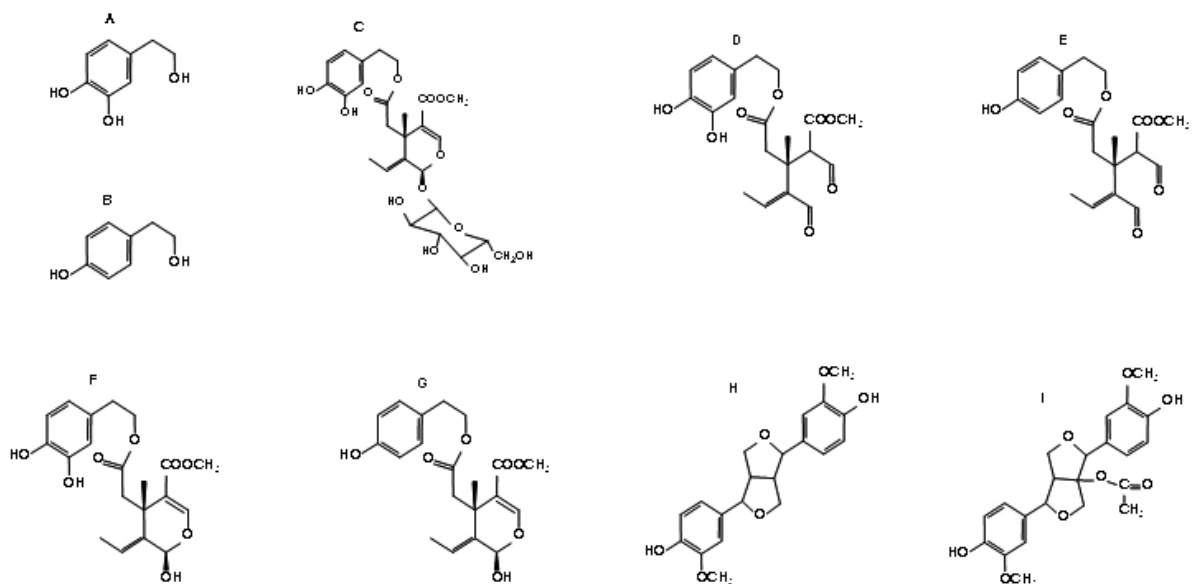
fication of the oil and contains squalene and other triterpenes, sterols, tocopherol, and pigments, and 2) the soluble fraction that includes the phenolic compounds, the complex forms called polyphenols. Phenolic compounds are present as simple phenols or conjugated forms (**Figure 1**). Tyrosol (Tyr), hydroxytyrosol (OHTyr), and their secoiridoid derivatives make up around 90% of the total phenolic content of a virgin olive oil. Phenolic compounds from olive oil are the most studied and best known components in terms of their benefits for health⁷. The content of the minor components of an olive oil varies, depending on the cultivar, climate, ripeness of the olives at harvesting, and the processing system employed to produce the olive oil. Olive oils currently present on the market are: extra-virgin, virgin, olive oil (UE, 1991), or pomace (also called *orujo*) olive oil. Virgin olive oils (VOOs) are those obtained from the fruit of the olive tree solely by mechanical or other physical means under conditions that do not lead to alteration in the oil. Extra-VOOs are VOOs with a free acidity, expressed as g of oleic acid/100 g of olive oil, less than 0.8 g. VOOs with an acidity greater than or equal to 3.3 (International Olive Oil Council Regulation/ T.15/NC.n3.Rev2.Nov24, 2006) or greater than 2 in Europe (European Regulation N. 1513/0) are submitted to a refining process in which some components, mainly phenolic compounds, and to a lesser degree squalene, are lost⁸. By mixing virgin and refined olive oil an ordinary olive oil (olive oil, UE 1991) is produced and marketed. After VOO production, the rest of the olive drupe and seed is submitted to a refining process, resulting in pomace olive oil, to which a certain quantity of VOO is added before marketing⁸.

Here, we will summarize the key work which has provided evidence of the benefits of VOO consumption over other type of edible oils even olive oils. We will focus on data from randomized, controlled human studies, which are those capable to provide the evidence of Level I⁹. On the basis of the Evidence-Based Medicine, evidence of Level I is which is required for performing nutritional recommendations at population level.

Metabolic disposition of olive oil phenolic compounds in humans from real-life doses of natural olive oils.

One of the prerequisites for assessing the physiological significance of olive oil phenolic compounds is the ability to determine their bioavailability in human beings. Tyr and OHTyr are absorbed by humans from olive oil in a dose-dependent manner with the phenolic content of the olive oil administered both after a single dose or after sustained olive oil consumption^{10,11}. This implies an accumulation in the body even from moderate doses of olive oil (25 mL/d) which are lower than the traditional daily dietary intake in Mediterranean countries (30-50g/day). The bioavailability of OHTyr, however, has been shown to change largely depending on the matrix in which the phenolic compounds are administered, the most effective matrix being the olive oil¹². Around 98% of Tyr and OHTyr are present in plasma and urine in conjugated forms, glucuronocjugates or sulfates. This fact indicates the existence of an extensive first-pass intestinal/hepatic metabolism of the ingested primary forms¹³.

Figure 1: Structures of the major phenolic compounds identified in olives and olive oil. A, hydroxytyrosol; B, tyrosol; C, oleuropein glucoside; D, dialdehydic form of oleuropein (SID-1); E, ligstroside (SID-2); F, aglycone form of oleuropein glucoside (SID-3); G, ligstroside SID-4; H, lignanes (+)-pinoresinol; I: (+)-1-acetoxypinoresinol.



Lipoproteins and Lipoprotein Oxidation

The replacement of saturated fatty acids (SFA) by oils enriched in MUFA versus polyunsaturated fatty acids (PUFA) had similar effects on lowering total and low density lipoproteins (LDL) cholesterol. The PUFA-enriched oil had a slight triglyceride lowering effect, and there was an increase in HDL cholesterol after MUFA consumption in some studies¹⁴. There is, however, an issue in which MUFA consumption prevails over the PUFA one: the lipoprotein oxidation. Oleate-rich LDL are less susceptible against oxidation than linoleate-rich particles. This is due to the fact that PUFAs are the key substrate for lipid peroxidation whose propagation chain is going on via the double bonds of the fatty acid¹⁵. From 14 studies comparing the resistance of LDL to oxidation only in 2 of them did MUFA-rich diets not promote a higher resistance of LDL to oxidation than PUFA-rich ones¹⁶.

Oxidation of the lipid part, or directly of the apolipoprotein (apo) B, of the LDL leads to a change in the lipoprotein conformation by which the LDL is better able to enter into the monocyte/macrophage system of the arterial wall, and develop the atherosclerotic process¹⁷. Oxidized LDL has been shown to be independently associated with 10-year coronary artery disease (CAD) events in the general population, and improved the reclassification capacity of Framingham-derived CAD risk functions¹⁸.

Phenolic compounds present in VOO have proven to be protective against LDL oxidation. On November 2011, the European Food Safety Authority (EFSA) released a claim concerning the benefits of the daily ingestion of olive oil rich in phenolic compounds, such as the virgin olive oil. The Panel considers that in order to bear the claim, 5 mg of OHTyr and its derivatives (e.g. oleuropein complex and Tyr) in olive oil should be consumed daily. These quantities, if provided by moderate amounts of olive oil, can be easily consumed in the context of a balanced diet¹⁹. Here we will revise the main studies which supported this EFSA claim concerning the benefits of phenolic compound-rich olive oil such as VOO.

Human studies on the postprandial effect of olive oil on oxidative stress and oxidative damage

After meals, particularly those rich in fats, a postprandial hyperlipemia and hyperglycemia occurs, which is linked to oxidative stress. Although fasting hyperlipidemia is considered an important risk for cardiovascular disease, postprandial serum lipid levels have been found to correlate more closely to cardiovascular diseases than fasting lipids²⁰. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR α) suppresses postprandial lipidemia through fatty acid oxidation in enterocytes²¹. A functional

olive oil enriched with its own phenolic compounds has shown to enhance the gene expression of PPAR α in mononuclear cells of pre- and stage I hypertensive patients²².

Several data on the effect of olive oil rich in phenolic compounds, such as VOO, on the postprandial oxidative stress have been reported. They are, however, difficult to compare because some studies do not mention whether or not postprandial lipemia and/or hyperglycemia, which could lead to oxidative stress, occur after olive oil ingestion, while in other studies neither hyperlipemia nor hyperglycemia occur at postprandial state after the olive oil ingestion^{7,8}. The ingestion of a 25 mL olive oil dose did not promote postprandial oxidative stress, with independence of the phenolic content of the olive oil, whereas single doses of 40 mL and 50 mL did⁸. With olive oil doses at which oxidative stress occurs, data from randomized, cross-over, controlled studies in humans showed: i) an increase in the serum antioxidant capacity after VOO ingestion, but not after ordinary olive oil, in comparison with corn oil, suggesting a role for the phenolic compounds of the VOO; and ii) the phenolic content of an olive oil modulates the degree of lipid and LDL oxidation, the lipid oxidative damage being lower after high- than after low-phenolic content olive oil⁹. In comparison with sunflower oil, meals submitted to a deep frying with olive oils rich in phenolic compounds, both natural and added, have shown to reduce the postprandial oxidative stress in obese people²³. Recently, it has been described that food fried in extra-virgin olive oil improves postprandial insulin response, an oxidative stress associated phenomenae, in obese, insulin-resistant women²⁴.

Human studies of the sustained effect of olive oil on oxidative stress and oxidative damage

Controversial results have been obtained in short sample size ($n < 30$) human randomized controlled studies performed up to now on the effect of sustained doses of olive oil phenolic compounds on oxidative stress^{7,8}. Extensive differences existed among the studies in the experimental design, control of diet, sample population, age of the participants, measurement or not of markers of the compliance of the intervention, as well as in the sensitivity and specificity of the oxidative stress biomarkers evaluated. This fact could explain the differences of results observed among studies.

The results of the EUROLIVE study, however, have provided final evidence of the in vivo protective role of phenolic compounds from olive oil on lipid oxidative damage in humans, at real-life olive oil doses¹⁰. The EUROLIVE (The effect of olive oil consumption on oxidative damage in European populations) study was a large, crossover, multi-centre, clinical trial performed in 200 individuals from five European countries. Participants were randomly assigned

to receive 25 mL/day of three similar olive oils, but with differences in their phenolic content (from 2.7 mg/kg to 366 mg/kg of olive oil), in intervention periods of 3 weeks preceded by 2 week washout periods. All olive oils increased the HDL-cholesterol and the ratio between the reduced and oxidized forms of glutathione. In the EUROLIVE study, consumption of medium- and high-phenolic content olive oil decreased lipid oxidative damage biomarkers such as plasma oxidized LDL, uninduced conjugated dienes, and hydroxy fatty acids, without changes in F2-isoprostanes. But the most important results of the EUROLIVE study were that the increase in HDL cholesterol and the decrease in the lipid oxidative damage were linear with the phenolic content of the olive oil consumed. The results of the EUROLIVE study provided first level evidence that olive oil is more than a MUFA fat.

Concerning DNA oxidative damage, the urinary excretion of 8-oxo-deoxyguanosine (dGuo) is advocated as a biomarker of the whole body DNA oxidation, a risk factor for cardiovascular and cancer diseases. A protective effect of phenolic compounds from VOO has been reported on *in vivo* DNA oxidation both in healthy male subjects and in postmenopausal women⁸. Results of the EUROLIVE study, however, show that consumption of 25 mL of olive oil per day during 3 weeks reduced DNA oxidation in 182 healthy males, as measured by the 24 h urinary excretion

of dGuo, irrespective of the olive oil phenolic content²⁵. Differences in the type of population involved (with or without oxidative stress) could explain differences among results. In this sense, one conclusion of the Consensus Report made by the Expert Panel in the International Conference of Olive Oil and Health held in Jaen, Spain, October 2004^{7,26} was that the protective effects on oxidation markers in human trials were better displayed in oxidative stress conditions.

Inflammation, endothelial function, and blood pressure

Other pathological conditions, present in chronic degenerative diseases, such as cardiovascular, cancer, and neurodegenerative, and linked to oxidative stress are inflammation, endothelial dysfunction, hypertension etc. Here we will revise the available information related concerning the effects of VOO consumption on these conditions.

Although the protective mechanism of oleic acid-rich diets on inflammation has been attributed to a decrease in the LDL linoleic acid content, oleic acid is not the single responsible factor for the anti-inflammatory properties of olive oil. Several studies have examined the anti-inflammatory and vasculoprotective effect of olive oil phenolic

Table 1: Randomized controlled studies on the effect of VOO on inflammatory and vasculoprotective markers.

Author, year (Reference)	Type of study	Subjects	Intervention	Biomarkers	Effects
Visioli et al. 2005 ²⁷	Randomized, crossover	Hyperlipidemic patients (12 men and 10 women)	VOO vs refined olive oil (intervention, 40 mL/d, 7 weeks; washout period, 4 weeks with usual diet) VOO vs oleic acid-rich sunflower oil	Serum TBX ²	Decrease with the phenolic content of the olive oil
Oubiña et al. 2001 ²⁸	2 consecutive periods, no washout, diets ad libitum	12 postmenopausal women	VOO vs oleic acid-rich sunflower oil	TXB ₂ in PRP TXB ₂ in urine 6-keto-PGF _{1α}	Lower in VOO Similar Similar
Bogani et al. 2006 ²⁹	Randomized, crossover postprandial	12 healthy men	VOO vs refined olive oil (50 mL with potatoes)	Plasma LTB ₄ Plasma TBX ₂	Decrease with the phenolic content of the olive oil
Fitó et al. 2008 ³⁰	Randomized, crossover	28 men with CHD	VOO vs refined olive oil (intervention period, 50 mL/d, 3 weeks; washout period 2 weeks with refined olive oil ad libitum)	hsCRP, IL-6 Serum ICAM-1 and VCAM-11	Decrease with the phenolic content of the olive oil No changes
Moreno-Luna et al. 2012 ³¹	Randomized, crossover	24 women with high-normal BP or stage 1 essential hypertension	Rich polyphenol-VOO (30 mg/day) vs free polyphenol olive oil (2month; 4-week washout period)	ADMA hs-CRP	Decrease with the phenolic content of the olive oil
Pacheco et al. 2007 ³²	Randomized, crossover, postprandial	Healthy (14) and hypertriglyceridemic (14) men	Fat meal with VOO vs refined olive oil, after 1 week of each (50 mg/m ² body surface)	Serum ICAM-1 and VCAM-1 area under curve	Decrease with the phenolic content of the olive oil
Pérez-Herrera et al. 2012 ³³	Randomized, crossover postprandial	20 obese participants	Breakfast with VOO, sunflower oil (SFO) and SFO+canola oil (heated) with added polyphenols or artificial antioxidants	TNF-α, IL-1β, IL-6, MIF, JNK, and LPS NFκB and subunits activators	Decrease with oils containing polyphenols and antioxidants
Windmer et al. 2013 ³⁴	Randomized, parallel	82 patients with early atherosclerosis	VOO* and VOO+ EEOG (30mL/d, 4 months)	ICAM-1 White blood cells	Decrease with VOO

TXB₂, thromboxane B₂; 6-keto-PGF_{1α}, 6-keto-prostaglandin_{1α}; PRP, platelet-rich plasma; LTB₄, leukotriene B₄; ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1; CHD, coronary heart disease; hsCRP, high sensitivity C reactive protein; IL-6, interleukin 6; ADMA, asymmetric dimethylarginine; TNF-α, tumour necrosis factor alpha; IL-1β, interleukin 1β; MIF, macrophage migration inhibitory factor; JNK, c-Jun Nterminal kinase; LPS, lipopolysaccharide.

compounds in humans (**Table I**). In these studies, VOO with high phenolic content has been shown to be effective in reducing the eicosanoid inflammatory mediators derived from arachidonic acid, such as thromboxane B2 and 6-keto-prostaglandin F_{1 α} ²⁷⁻²⁹, as well as other inflammatory markers, such as high-sensitivity C-reactive protein or interleukin-6^{30,31}. A decrease of intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) serum levels at postprandial state after VOO when compared with refined olive oil ingestion has been reported³². Also, the postprandial inflammatory response after ingestion of heated oils in obese persons was reduced by the presence of oils with phenolic compounds or non natural antioxidants³³. In this study³³, VOO or a mix of sunflower and canola oil artificially enriched with olive oil phenolic compounds and other antioxidants, lowered the postprandial nuclear factor κ B (NF- κ B) activation, increased NF- κ B inhibitor (I κ B- α), and decreased lipopolysaccharide (LPS) plasma concentration, compared with sunflower oil. In sustained consumption studies, a decrease in ICAM-1 after VOO, but not after VOO plus epigallocatechin-3-galate (EGCG) in early atherosclerosis patients has been reported³⁴. However, no differences in ICAM-1 or VCAM-1 levels were reported after sustained virgin or refined olive oil consumption in coronary heart disease (CHD) patients³⁰.

Vasomotor, haemostatic, antioxidant, and inflammatory activities are involved in endothelial dysfunction, a recent focus of intense research in cardiovascular medicine³⁵. The effect of VOO reducing oxidative stress and oxidative damage, as well as the inflammatory markers has been described above. The postprandial prothrombotic profile improved in healthy subjects and hypercholesterolemic patients after intake of phenol-rich VOO versus a low-phenolic content olive oil². Several studies have reported beneficial effects of VOO on the endothelial function. An improved post-ischemic hyperemia via reduced oxidative stress and increased nitric oxide metabolites was reported after the intake of phenol-rich VOO in comparison with a low-phenol olive oil in hypercholesterolemic patients³⁶. The effect of VOO phenols on the postprandial endothelial function seems to be mediated by the NOS3 Glu298Asp polymorphism in patients with metabolic syndrome³⁷. Beneficial effects improving the endothelial function have been observed after a 4-month diet with polyphenol-rich olive oil in patients with early atherosclerosis³⁴.

Consumption of olive oil reduces blood pressure². However, phenolic compounds in VOO play also a beneficial role. A decrease in systolic (SBP) and diastolic blood pressure, with an improvement of endothelial function, has been reported after a 2-month diet with rich-polyphenol olive oil versus a low polyphenol one, in young women with mild hypertension³¹. In this study³¹, changes in blood pressure and endothelial function were concomitant with markers related with vasodilatation, such as an increase in nitric oxide and a decrease in serum asymmetric di-

methylarginine, as well as a reduction in oxidized LDL and hsCRP. VOO, reduced SBP in hypertensive women and stable CHD patients in comparison with high-oleic sunflower oil and refined olive oil, respectively³⁸. In a parallel study comparing the effect of VOO on blood pressure in diabetic patients and healthy individuals, a reduction in SBP was observed in both conditions³⁹.

Mechanisms by which VOO and its phenolic compounds can exert their benefits *in vivo* in humans.

Although there is a huge body of experimental studies concerning mechanisms by which VOO and its phenolic compounds could exert their beneficial effects, up-to-date only two have been reported to occur *in vivo* in humans: 1) an increase of the antioxidant content of the LDL, and 2) a nutrigenomic effect.

Consumption of VOO increases the antioxidant content of the LDL

In human studies the best results obtained on lipid oxidation markers after VOO consumption are displayed in those markers directly associated with LDL. This was one of the conclusions of the Consensus Report made by the Expert Panel in the International Conference of Olive Oil and Health held in Jaen, Spain, October 2004^{7, 26}. This could be explained on one hand by the fact that ingestion of any type of olive oil increases the plasma oleic acid content of the LDL lipoprotein. After olive oil ingestion, oleic acid concentration in LDL increased and those of linoleic and arachidonic acid decreased⁴⁰. As has been referred to before, oleate-rich LDL are less susceptible against oxidation than linoleate-rich particles¹⁴. On the other hand, the total polyphenol content bound to human LDL increase in a dose dependent manner with the phenolic content of the olive oil administered¹⁰. OHTyr and Tyr metabolites, glucuronides and sulfates, have been reported to bind human LDL after VOO ingestion, but were not detected after refined olive oil ingestion⁴⁰. An inverse relationship between plasma levels of oxidized LDL and the content of phenols bound to LDL has been reported⁴⁰. Phenolic compounds which can bind LDL are likely to perform their peroxy scavenging activity in the arterial intima, where full LDL oxidation occurs¹⁷.

Nutrigenomic effect of VOO and its phenolic compounds

Nutrigenomics embrace all "omics" fields, such as genomics, transcriptomics, proteomics, and metabonomics with the aim of understanding and characterizing how nutrients and/or food act at molecular level. Here we will focus in the transcriptomic data available from human

studies, and particularly in those studies in which different types of olive oils have been tested with the same dietary pattern as background. Several studies have examined the transcriptomic profile after VOO, in comparison with low phenolic content olive oil, both at postprandial state and after sustained consumption⁴¹. A breakfast based on VOO, high in polyphenols (398 ppm), was able to postprandially repress the expression of proinflammatory genes when compared with a common olive oil based breakfast (low in polyphenols, 70 ppm) in metabolic syndrome individuals. Microarray results showed 19 upregulated and 79 downregulated genes, linked to obesity, dyslipemia, and type 2 diabetes mellitus, after the intake of VOO⁴¹. A VOO enriched with its own phenolic compounds enhanced the postprandial expression of cholesterol efflux related genes *in vivo* in humans versus a standard VOO. In our pre- and stage I hypertensive patients, we observed an increase in ATP binding cassette transporter-A1 (*ABCA1*), scavenger receptor class B type 1 (*SR-B1*), peroxisome proliferator-activated receptors and binding protein (*PPARBP*, *PPAR α* , *PPAR β* , *PPAR δ*) and *CD36* gene expression in white blood cells at postprandial after high polyphenol VOO when compared with standard VOO²².

Also within the frame of a Mediterranean diet (MeD), in a parallel, controlled, 3-month intervention trial, 90 healthy volunteers were randomized to three intervention dietary patterns: I) MeD supplemented with rich-polyphenol VOO (328mg/kg); II) MeD supplemented with washed VOO (low in polyphenols: 55 mg/kg); and III) habitual diet (control group). Only after the MeD supplemented with rich-polyphenol VOO there was a significant decrease, versus the control group, in the expression of inflammatory genes: interferon gamma (*IFN γ*), Rho GTPase activating protein 15 (*ARHGAP15*), and interleukin 7 receptor (*IL7R*); and oxidative stress: adrenergic b-2 receptor (*ADRB2*). Changes in gene expression after the MeD supplemented with VOO were concomitant with decreases in lipid oxidative damage and systemic inflammation markers⁴². In the frame of the PREDIMED study, two studies have reported differences when an enrichment of the MeD with VOO occurs. In the first⁴³, a 3-month intervention with VOO-enriched MeD prevented the increase in cyclooxygenase-2 (*COX2*) and LDL receptor-related protein (*LRP1*) genes, as well as reduced the expression of monocyte chemoattractant protein (*MCP1*) gene, compared with a MeD enriched

with nuts or with a low-fat diet. In the second, study⁴⁴, we compared 3-month changes in the whole genome of peripheral blood mononuclear cells. Results of functional annotation analyses showed that from 18 cardiovascular canonical pathways, 9 were modulated by a MeD enriched with VOO and 4 when the MeD was enriched with nuts⁴⁴. In a sub-study of the EUROLIVE study, we proposed for the first time an integrated scheme for the *in vivo* downregulation of the CD40/CD40L system and its downstream products promoted by the consumption of VOO⁴⁵. Our results showed a decrease in the expression of pro-atherogenic genes: CD40 antigen ligand (*CD40L*), interleukin 23A (*IL23A*), *ADRB2*, oxidized LDL (lectin-like) receptor 1 (*OLR1*), interleukin-8 receptor-a (*IL8RA*), and *IL7R*) after consumption of VOO high in polyphenols when compared with the refined olive oil, low in polyphenols. The decrease in these genes was concomitant with the decreasing trend of interlinked ones such as vascular endothelial growth factor (*VEGF*), *ICAM-1*, and *MCP1*. In this study⁴⁵, the reduction in LDL oxidation and the increase in antioxidant polyphenols in LDL promoted by the regular dietary intake of phenolic compound-rich VOO, were associated with a down regulation in the expression of genes related with the CD40/CD40L pathway. Due to all referred above, VOO and its phenolic compounds can modulate the expression of atherosclerosis related genes towards a protective mode *in vivo* in humans.

Conclusions

We have scientific data providing level I evidence that VOO can promote additional benefits to those of provided by other vegetable oils on risk factors for cardiovascular disease such as lipids and lipid oxidation, inflammation, endothelial dysfunction and systolic blood pressure. At present, the known mechanisms by which VOO can exert these beneficial effects in humans are the increase in the antioxidant content of LDL, and a nutrigenomic effect, modulating towards a protective mode the expression of atherosclerosis-related genes.

Acknowledgements

CIBEROBN is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

References

- Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*. 2013; 368 (14):1279-90.
- López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E, De Caterina R, Badimón L, Covas MI, et al. Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaen and Córdoba (Spain) 2008. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010;20 (4): 284-94.
- US. Food and Drug Administration. Press Release P04-100. November 1, 2004. <http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2004/NEW01129.html>. Accessed on March 28, 2014.
- Buckland G, Travier N, Barricarte A, Ardanaz E, Moreno-Iribas C, Sánchez MJ, et al. Olive oil intake and CHD in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Spanish cohort. *Br J Nutr*. 2012;108 (11):2075-82.
- Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, et al. Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. *Am J Clin Nutr*. 2011;93 (2):275-83.
- Samieri C, Féart C, Proust-Lima C, Peuchant E, Tzourio C, Stapf C, et al. Olive oil consumption, plasma oleic acid, and stroke incidence: the Three-City Study. *Neurology*. 2011;77 (5):418-25.
- Covas MI, Ruiz-Gutiérrez V, de la Torre R, Kafatos A, Lamuela-Raventós RM, Osada J, et al. Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans. *Nutr Rev*. 2006; 64(Suppl II):S20-S30.
- Fitó M, de la Torre R, Covas MI. Olive Oil and oxidative stress. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(10):1215-24.
- Woolf SH, Battista RN, Anderson GM, Logan AG, Wang E. Assessing the clinical effectiveness of preventive maneuvers: analytic principles and systematic methods in reviewing evidence and developing clinical practice recommendations. A report by the Canadian Task Force on the Periodic Health Examination. *J Clin Epidemiol*. 1990;43 (9):891-905.
- Covas MI, de la Torre K, Farré-Albaladejo M, Kaikkonen J, Fitó M, López-Sabater C, et al. Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in humans. *Free Radic Biol Med*. 2006;40 (4):608-16.
- Covas MI, Nyssönen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiewewetter H, et al. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors. *Ann Intern Med*. 2006;145 (5): 333-41.
- Visioli F, Galli C, Grande S, Colonnelli K, Patelli C, Galli G, et al. Hydroxytyrosol excretion differs between rats and humans and depends on the vehicle of administration. *J Nutr*. 2003;133 (8):2612-15.
- Rubió L, Valls RM, Macià A, Pedret A, Giral M, Romero MP, et al. Impact of olive oil phenolic concentration on human plasmatic phenolic metabolites. *Food Chem*. 2012;135(4):2922-9.
- Gardner CD, Kraemer HC. Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(11):1917-27.
- Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, Miller E, Steinberg D, Witztum JL. Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects. *Clin Invest*. 1993; 91(2):668-76.
- Lapointe A, Couillard C, Lemieux S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. *J Nutr Biochem*. 2006;17(10):645-58.
- Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum J.L. Beyond cholesterol. Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*. 1989;320 (14):915-24.
- Gómez M, Vila J, Elosua R, Molina L, Bruguera J, Sala J, et al. Relationship of lipid oxidation with subclinical atherosclerosis and 10-year coronary events in general population. *Atherosclerosis*. 2014;232 (1):134-40.
- EFSA Panel on Dietetic Products. Nutrition and allergies (NDA). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive oil and protection of LDL particles from oxidative damage. *EFSA Journal* 2011;9:2033. Available from: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2033.htm> (accessed on March 28, 2014).
- Roche HM, Gibney MJ. The impact of postprandial lipemia in accelerating atherothrombosis. *J Cardiovasc Risk*. 2000;7 (5):317-24.
- Kimura R, Takahashi N, Murota K, Yamada Y, Niiya S, Kanzaki N, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR α) suppresses postprandial lipidemia through fatty acid oxidation in enterocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;410 (1):1-6.
- Farràs M, Valls RM, Fernández-Castillejo S, Giral M, Solà R, Subirana I, et al. Olive oil polyphenols enhance the expression of cholesterol efflux related genes in vivo in humans. A randomized controlled trial. *J Nutr Biochem*. 2013;24 (7):1334-9.
- Pérez-Herrera A, Rangel-Zúñiga OA, Delgado-Lista J, Marín C, Pérez-Martínez P, Tasset I, et al. The antioxidants in oils heated at frying temperature, whether natural or added, could protect against postprandial oxidative stress in obese people. *Food Chem*. 2013;138 (4):2250-9.
- Farnetti S, Malandrino N, Luciani D, Gasbarrini G, Capristo E. Food fried in extra-virgin olive oil improves postprandial insulin response in obese, insulin-resistant women. *J Med Food*. 2011;14 (3):316-21.
- Machowetz A, Poulsen H E, Gruendel S, Fitó M, Marrugat J, de la Torre R, et al. Effect of olive oils on biomarkers of oxidative DNA stress in North and South Europeans. *FASEB J*. 2007;21 (1):45-52.
- Pérez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L, Barja G, Battino M, Blanco A, et al. International Conference on the healthy effect of virgin olive oil. Consensus Report, Jaen (Spain). *Eur J Clin Invest*. 2004;35 (7):421-4.
- Visioli F, Caruso D, Grande S, Bosisio R, Villa M, Galli G, et al. Virgin olive oil study (VOLOS): vasoprotective potential of extra virgin olive oil in mildly dyslipidemic patients. *Eur J Nutr*. 2005;44 (2):121-7.
- Oubiña P, Sanchez-Muniz FJ, Rodenas S, Cuesta C. Eicosanoid production, thrombogenic ratio, and serum and LDL peroxides in normo- and hypercholesterolaemic post-menopausal women consuming two oleic acid-rich diets with different content of minor components. *Br J Nutr*. 2001;85 (1):41-7.
- Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis*. 2007;190 (1):181-6.
- Fitó M, Cladellas M, de la Torre R, Martí J, Muñoz D, Schröder H, et al. Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: a randomized, crossover, controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2008;62 (4):570-4.
- Moreno-Luna R, Muñoz-Hernández R, Miranda ML, Jiménez-Jiménez L, Vallejo-Vaz AJ, et al. Olive oil polyphenols decrease blood pressure and improve endothelial function in young women with mild hypertension. *Am J Hypertens*. 2012; 25 (12):1299-304.

32. Pacheco YM, Bermúdez B, López S, Abia R, Villar J, Muriana FJ. Minor compounds of olive oil have postprandial anti-inflammatory effects. *Br J Nutr*. 2007;98 (2):260-3.
33. Pérez-Herrera A, Delgado-Lista J, Torres-Sánchez LA, Rangel-Zúñiga OA, Camargo A, Moreno-Navarrete JM, et al. The postprandial inflammatory response after ingestion of heated oils in obese persons is reduced by the presence of phenol compounds. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56 (3):510-4.
34. Widmer RJ, Freund MA, Flammer AJ, Sexton J, Lennon R, Romani A, et al. Beneficial effects of polyphenol-rich olive oil in patients with early atherosclerosis. *Eur J Nutr*. 2013;52 (3):1223-31.
35. Shantsila E, Wrigley BJ, Blann AD, Gill PS, Lip GY. A contemporary view on endothelial function in heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2012;14 (8):873-81.
36. Ruano J, López-Miranda J, Fuentes F, Moreno JA, Bellido C, Pérez-Martínez P et al. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46 (10):1864-8.
37. Jiménez-Morales AI, Ruano J, Delgado-Lista J, Fernández JM, Camargo A, López-Segura F, et al. NOS3 Glu298Asp polymorphism interacts with virgin olive oil phenols to determine the postprandial endothelial function in patients with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96 (10): E1694-702.
38. Covas MI, Konstantinidou V, Fitó M. Olive Oil and Cardiovascular Health. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009;54 (6):477-82.
39. Perona JS, Montero E, Sánchez-Domínguez JM, Cañizares J, García M, Ruiz-Gutiérrez V. Evaluation of the effect of dietary virgin olive oil on blood pressure and lipid composition of serum and low-density lipoprotein in elderly type 2 diabetic subjects. *J Agric Food Chem*. 2009;57 (23):11427-33.
40. De la Torre-Carbot K, Chávez-Servín JL, Jauregui O, Castellote AI, Lamuela-Raventós R, Nurmi T, et al. Elevated circulating LDL phenol Levels in Men Who Consumed Virgin Rather Than Refined Olive Oil Are Associated with Less Oxidation of Plasma LDL. *J Nutr*. 2010;140 (3):501-8.
41. Konstantinidou V, Covas MI, Solá R, Fitó M. Up-to date knowledge on the in vivo transcriptomic effect of the Mediterranean diet in humans. *Mol. Nutr. Food Res*. 2013; 57 (5):772-83.
42. Konstantinidou V, Covas MI, Muñoz-Aguayo D, Khymenets O, de la Torre R, Sáez G, et al. In vivo nutrigenomic effects of virgin olive oil polyphenols within the frame of the Mediterranean diet: a randomized controlled trial. *FASEB J*. 2010; 24 (7); 2546-57.
43. Llorente-Cortés V, Estruch R, Mena MP, Ros E, González MA, Fitó M, Lamuela-Raventós RM, Badimon L, et al. Effect of Mediterranean diet on the expression of proatherogenic genes in a population at high cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2010; 208 (2);442-50.
44. Castañer O, Corella D, Covas MI, Sorlí JV, Subirana I, Flores-Mateo G, et al. In vivo transcriptomic profile after a Mediterranean diet in high cardiovascular risk patients. A randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2013;98 (3):845-53.
45. Castañer O, Covas MI, Khymenets O, Nyssonen K, Konstantinidou V, Zunft HF, et al. Protection of LDL from oxidation by olive oil polyphenols is associated with a downregulation of CD40-ligand expression and its downstream products in vivo in humans. *Am J Clin Nutr*. 2012;95 (5):1238-44.

ESTUDI DE CASOS

Mujer joven con astenia, disnea y muerte súbita

Young woman with asthenia, dyspnea and sudden death

Joaquín Colomina Climent¹, Elena Timoner Salvà², Elisa Albacar Riba³, Rocío Amézaga Menéndez¹, Carles Saus Sarrias², Manuel del Río Vizoso⁴

1 Medicina Intensiva, 2 Anatomía Patológica, 3 Urgencias, 4 Medicina Interna.

Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca. Illes Balears

Correspondencia

Manuel del Río Vizoso

Unidad de Hospitalización a Domicilio, Planta 0, módulo F.

Hospital Universitario Son Espases.

Carretera de Valldemossa, 79

07010 Palma de Mallorca.

Recibido: 21 – I – 2014

Aceptado: 9 – V – 2014

doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.29.02.47

Resumen

Una mujer joven, sin patología asociada, acude a Urgencias por disnea, rigidez y astenia de reciente aparición. Un año antes había presentado un cuadro similar, que se solucionó de forma ambulatoria. En Urgencias presenta empeoramiento súbito en relación con administración de fármacos. El ecocardiograma practicado de urgencia muestra disfunción ventricular severa, que requiere ingreso en Cuidados intensivos donde la paciente presenta disociación electromecánica y *exitus* sin haberse llegado a diagnóstico clínico definitivo, por lo que se solicita autopsia.

Palabras clave: muerte súbita, miocarditis, disfunción ventricular.

Abstract

A young woman with no co-morbidities comes to the emergency room with sudden onset- dyspnea, stiffness and asthenia. A year ago she had suffered a similar episode, managed successfully as outpatient. In the emergency room she presents sudden deterioration related to drug administration. The echocardiogram finds severe left ventricular dysfunction. She was referred to intensive care unit, where the patient suffers an episode of electromechanical dissociation that did not respond to prolonged cardiopulmonary resuscitation, and dies. An autopsy is requested because of the lack of definitive clinical diagnosis.

Keywords: Sudden death, myocarditis, ventricular dysfunction.

Descripción del caso

Se trata de una mujer de 46 años sin alergias, fumadora de 10 cigarrillos diarios, exconsumidora de cocaína.

Acude al hospital presentando un episodio de 24 horas de evolución, con afectación del estado general, rigidez muscular y debilidad en contexto de cuadro catarral. Presentó un cuadro similar siete meses antes, siendo dada de alta desde Urgencias con pruebas complementarias normales, mejorando en días.

En la exploración destaca edema palpebral bilateral, leve taquipnea, aquicardia (136x') con tensión arterial mantenida y afebril.

En ECG presenta taquicardia sinusal a 120 x' con bajos voltajes de QRS. En la analítica se objetiva leucocitosis.

La radiografía de tórax es normal.

En el servicio de Urgencias solicita atención en diversas ocasiones por empeoramiento de estado general, sin observarse cambios en la exploración, en sus constantes vitales o en el ECG. El Dímero D es negativo. Por dolor y rigidez muscular se pauta paracetamol y diazepam endovenoso con mejoría posterior. Pero tras una hora la paciente muestra nerviosismo, dice que "se le cierra la garganta". No es posible explorar la vía aérea y se pauta dexclorfeniramina maleato y corticoides endovenosos, presentando hipotensión, hipotermia, cianosis y disminución del nivel de conciencia.

Un nuevo ECG realizado es normal. Se solicita ecocardiograma (ETT) que objetiva disfunción VI severa, sin signos de

hipertensión pulmonar. El resultado de las enzimas cardíacas es: CPK 1.383 U/L, CKMB y troponina I hemolizadas.

Se inicia la administración de drogas vasoactivas e ingresa en UCI estuporosa, hipotensa y anúrica. Tras aumento de inotrópicos e inicio de ventilación mecánica no invasiva (VMNI) y diurético en perfusión, la situación hemodinámica y neurológica mejora parcialmente aunque la paciente necesita dobutamina y noradrenalina a dosis crecientes.

Se repite ETT, que revela los siguientes adtos de interés: Ventrículos pequeños, restrictivos, no dilatados, hiperdinámicos con disfunción sistólica severa y diastólica tipo restrictivo; engrosamiento de paredes ventriculares (1,8 cm) con hiperecogenicidad parcheada parenquimatosa ("granular sparkling") sugestiva de patología infiltrativa; aurículas de tamaño conservado destacando engrosamiento de los velos mitrales y la presencia de probable masa-engrosamiento de la pared auricular izquierda con superficie mal delimitada, que ocupa la pared posterior yuxtamitral sin comprometer función mitral; engrosamiento pericárdico con derrame pericárdico moderado sin compromiso de la función cardíaca.

Inicialmente precisa VMNI, con lo que se consigue mejorar la mecánica respiratoria y la oxigenación. La radiografía de tórax no muestra cardiomegalia, ni infiltrados radiológicos significativos.

En la analítica destaca leucocitosis ($23.70 \cdot 10^3/uL$ (83%N)), hemoglobina 16 gr/dl con hematocrito 52,40%, CPK 1.415 u/l, CKMB 39 ng/ml, troponina 1.038 ng/ml y TSH normal con T4 0,64 ng/dl.

A las 4 horas, presenta progresiva bradicardización, con estupor, que requiere de resucitación cardiopulmonar. La evolución es a disociación electromecánica y *exitus*.

Discusión

La **Tabla I** muestra el diagnóstico diferencial del caso expuesto, en base a los hallazgos ecocardiográficos y electrocardiográficos, sobre entidades que pueden pre-

sentarse en forma de miocardiopatías con comportamiento hemodinámico principalmente restrictivo^{1,2}.

1. Miocardiopatías infiltrativas

La *amiloidosis* es una enfermedad infiltrativa con afectación multiorgánica, en especial cardíaca (tipos AL, AA y ATTR)³. Debuta entre los 30 y 70 años en forma de insuficiencia cardíaca sistólica y diastólica, arritmias, derrame pericárdico y, de manera excepcional, como shock cardiogénico, con datos ecocardiográficos (hipertrofia simétrica, dilatación auricular, patrón miocárdico en "granular sparkling", disfunción biventricular, engrosamiento velos valvulares, derrame pericárdico, trombos intracavitarios) y electrocardiográficos característicos (bajos voltajes sobre todo en el plano frontal, trastornos de la conducción, etc)⁴.

En nuestro caso podría considerarse este diagnóstico como probable en el contexto de un proceso infeccioso que haya descompensado el proceso.

La *infiltración grasa del miocardio* es un hallazgo en hasta un 3% de las autopsias⁵; su presentación clínica más habitual es en forma de arritmias o muerte súbita.

En referencia al hallazgo ecocardiográfico de una masa a nivel auricular, debería plantearse la posibilidad de *infiltración neoplásica*, aunque los tumores primarios son muy poco frecuentes y con localizaciones diferentes a la descrita; además no disponemos de datos clínicos que puedan hacernos pensar en metástasis de pulmón, mama o melanoma⁶.

2. Miocardiopatías no infiltrativas

Cabe tener en cuenta la *miocardiopatía hipertrófica*, por su comportamiento restrictivo y clínica de insuficiencia cardíaca de predominio diastólico, aunque sería improbable puesto que habitualmente se presenta en forma de muerte súbita en adultos jóvenes y atletas, además de asociarse a herencia autosómica dominante⁷. Los datos ecocardiográficos más característicos son hipertrofia ventricular izquierda asimétrica, de predominio septal con aspecto esmerilado del miocardio y función sistólica normal o aumentada. La *miocardiopatía restrictiva idiopática* presenta características hemodinámicas muy similares a las que presenta

Tabla I

Miocardiopatías infiltrativas	Miocardiopatías no infiltrativas	Enfermedades por depósito	Infecciones	Endocrinopatías	Miscelánea
Amiloidosis cardíaca	Miocardiopatía hipertrófica	Hemocromatosis	Miocarditis/ Miopericarditis	Hipotiroidismo	Fibrosis endomiocárdica
Infiltración grasa del miocardio	Miocardiopatía restrictiva idiopática	Enfermedad de Fabry		Diabetes Mellitus	Esclerodermia
Neoplasias				Acromegalia	L.E.S
				Feocromocitoma	Sarcoidosis
					Tóxicos

la pericarditis constrictiva, siendo además un diagnóstico de exclusión.

3. Enfermedades por depósito

La *hemocromatosis*⁸ o la *enfermedad de Fabry*⁹ pueden cursar con disfunción miocárdica secundaria a depósito de hierro o glucolípidos lisosómicos, respectivamente. No obstante la afectación cardiaca nunca es aislada.

4. Infecciones

La paciente presenta un cuadro que podría sugerir un proceso infeccioso vírico, con el antecedente de un proceso similar. Una posibilidad diagnóstica a considerar sería una *miocarditis infecciosa*.

Principalmente es causada por virus (Coxsackie B, Enterovirus, Adenovirus, Parvovirus B19, VHC y VHS6) la miocarditis bacteriana o por otros microorganismos es muy infrecuente en individuos sin inmunodeficiencias. Cursa con insuficiencia cardiaca de debut en sujetos jóvenes sin antecedentes de cardiopatía, pericarditis, arritmias o shock cardiogénico.

Presenta signos electrocardiográficos con bajos voltajes, alteraciones en la repolarización y trastornos de la conducción. En la ecocardiografía se puede encontrar el característico miocardio en "granular sparkling", hipertrofia de paredes, disfunción sistólica/diastólica y derrame pericárdico asociado, además de elevación de biomarcadores de daño miocárdico¹⁰.

5. Metabolopatías y endocrinopatías

El *hipotiroidismo* puede presentar alteraciones cardiacas, como hipertrofia septal asimétrica, patrón diastólico restrictivo y derrame pericárdico, así como electrocardiográficas con disminución llamativa de voltajes y alteraciones inespecíficas de la repolarización¹¹. Su presentación más grave, el coma mixedematoso, habitualmente se desencadena tras una infección, exposición al frío, evento isquémico o tras administración de fármacos como las benzodiacepinas¹², como en el caso expuesto. En contra de este diagnóstico, la analítica de hormonas tiroideas era normal y la paciente presentaba taquicardia. Otras endocrinopatías como *Diabetes Mellitus*¹³, *acromegalia* o *feocromocitoma*, resultan improbables por no presentar el caso síntomas clínicos.

6. Miscelánea

La *fibrosis endomiocárdica* es la forma más común de miocardiopatía restrictiva¹⁴. De etiología incierta, se han propuesto desencadenantes como la eosinofilia, infecciones (parásitos, fiebre reumática), exposición ambiental (cerio), inmunológica o genética. Ecocardiográficamente presentaría fibrosis apical, "tethering" de músculos papilares, aurículas dilatadas, patrón diastólico restrictivo, trombos apicales y derrame pericárdico. Es más frecuente en áreas tropicales.

En la *esclerodermia* es frecuente la pericarditis, la afectación parcheada del miocardio por colágeno y las arritmias cardiacas; sin embargo, por la afectación multiorgánica sería improbable en el caso de estudio.

El *lupus eritematoso* sistémico puede presentar afectación cardiaca en forma de valvulopatía, pericarditis, disfunción miocárdica (miocarditis) y endocarditis (Libman-Sacks), aunque se desconocen datos clínicos de afectación multiorgánica que pudiesen sugerir esta entidad.

En la *sarcoidosis*, aunque el compromiso cardiaco está presente en un 20-30% de los pacientes, sólo un 5% presenta síntomas. La ausencia de afectación pulmonar, de los ganglios intratorácicos, piel, ocular o hepática la descartaría.

Los *fármacos quimioterápicos* constituyen la causa más frecuente de miocardiopatía tóxica, especialmente las antraciclina. En la paciente de referencia, no consta exposición a dichos fármacos.

Diagnóstico de presunción

Los diagnósticos más probables serían *miocarditis fulminante* y *amiloidosis* cardiaca.

Una RM cardiaca podría haber aportado datos importantes de cara a diferenciarlas según el patrón de realce tardío con gadolinio.

Hallazgos autópsicos

Examen externo

Cadáver de mujer de edad media, de raza caucásica. Edema palpebral evidente. Resto sin relevancia.

Examen interno

Los hallazgos en la autopsia se centran en el corazón y a nivel pulmonar.

El corazón pesa 286g, con aspecto macroscópico normal. Al corte el miocardio presenta un punteado blanquecino formado por lesiones de menos de 1mm, sin otras alteraciones (**Imagen 1**) que, tras fijación, se observa con mayor nitidez.

El estudio histológico muestra expansión intersticial del parénquima cardíaco por edema e infiltrado celular (**Imagen 2**).

Este infiltrado intersticial está compuesto, predominantemente, por linfocitos sin atipia, con ocasionales neutrófilos y eosinófilos.

Los linfocitos están focalmente en relación con miocardiocitos necróticos (**Imagen 3**). No se observan abscesos, granulomas, células gigantes, infiltrado eosinófilo denso ni áreas sugestivas de isquemia aguda.

Por inmunohistoquímica se objetiva que el infiltrado difuso linfocitario es de predominio T (CD3 +), con mezcla de linfocitos CD4 y CD8, acompañado de escasos macrófagos y neutrófilos **Imagen 4**. Los cambios corresponden a una miocarditis linfocitaria.

Los pulmones, de apariencia muy congestiva, pesan 723 g el derecho y 619 g el izquierdo. No se aprecian masas ni signos de TEP, macroscópicamente ni derrame pleural.

A nivel histológico se aprecian zonas de hemorragia, focos con descamación alveolar, hiperplasia de neumocitos tipo II y focales acúmulos densos linfocitarios sin atipia a nivel intersticial y peribronquial. Los cambios no son específicos, pero pueden verse asociados a neumonías víricas. No se aprecian fenómenos trombóticos ni inflamatorios agudos, ni lesiones neoplásicas.

Imagen 1



Imagen 3. Cambios degenerativos y/o necrosis miocardiocitaria.

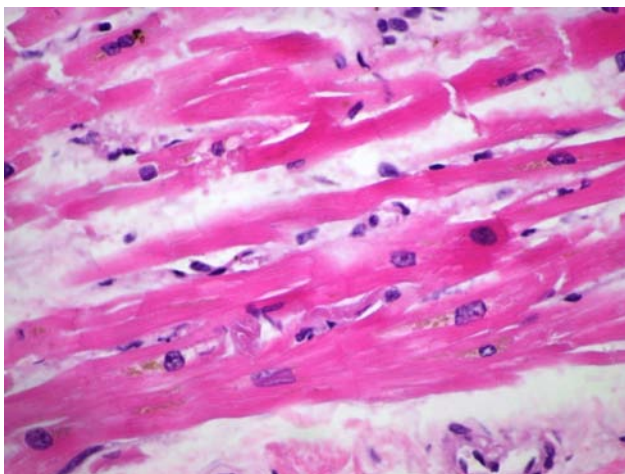


Imagen 2

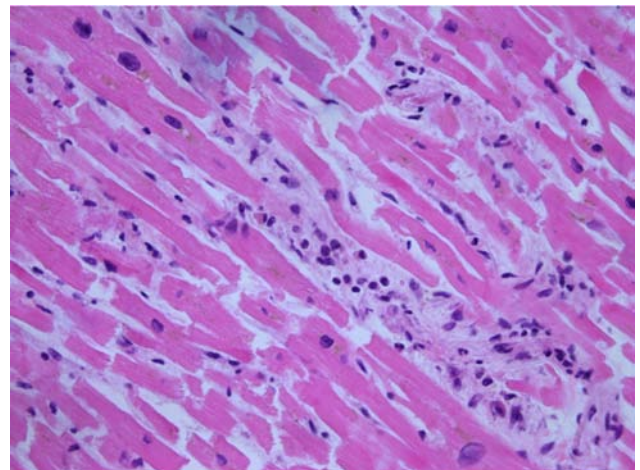


Imagen 4. Expansión intersticial por edema y numerosas células linfocíticas de estirpe T, principalmente en VI y septo. Predominio de CD8 sobre CD4.

Diagnósticos

1. Miocarditis aguda linfocitaria

- 1.1 Shock cardiogénico
- 1.2 Edema y hemorragia pulmonar
- 1.3 Isquemia aguda renal bilateral
- 1.4 Congestión pasiva hepática aguda

2. Cambios compatibles con neumonía vírica no específica
3. Mioma uterino. Leiomioma en trompa.
4. Cambio mixoide de la válvula mitral con trombo adherido
5. Examen neuropatológico: Arterioesclerosis moderada, localizada predominantemente en vasos cerebelosos. Resto del examen neuropatológico sin alteraciones.

Causa probable de la muerte: Shock cardiogénico secundario a miocarditis de probable origen vírico.

La miocarditis linfocítica se caracteriza histológicamente por infiltrado linfocitario rico en células T y macrófagos de distribución difusa, con necrosis focal de miocardiocitos¹⁵.

Se asocia mayoritariamente a procesos infecciosos de origen vírico, aunque puede verse en procesos autoinmunes, por toxicidad o idiopáticos¹⁶.

En las primeras fases de la miocarditis viral podría existir un infiltrado neutrófilo que haga pensar en etiología bacteriana o fúngica.

El diagnóstico de miocarditis linfocitaria puede ser difícil y requerir biopsia endomiocárdica, aunque se indica sólo si existe insuficiencia cardiaca.

Los criterios de Dallas para el diagnóstico por biopsia de la miocarditis, establecidos en 1987, valoran la necrosis de los miocitos y la inflamación. Una biopsia, sin embargo, no siempre se correlaciona con los síntomas clínicos¹⁷.

Actualmente cualquier tipo de inflamación crónica en una biopsia cardiaca en contexto de insuficiencia cardiaca de debut, se considera diagnóstica de miocarditis.

Histológicamente, existe cierta superposición entre las categorías de miocarditis aguda. En general, los patrones histológicos se dividen en las siguientes categorías^{18, 19, 20}.

1. Linfocitaria (virales y autoinmunes).
2. Eosinofílica (hipersensibilidad, síndrome hipereosinofílico).
3. Granulomatosas (sarcoidosis y miocarditis de células gigantes).
4. Neutrófilica (Formas bacterianas, fúngicas miocarditis vírica incipiente).

La inflamación debida a la isquemia es uno de los principales diagnósticos diferenciales histopatológicos en la autopsia, ya que en el borde de los infartos de reperfusión puede haber un infiltrado rico en neutrófilos. Se trata de lesiones con localización subendocárdica, con gran proporción de neutrófilos y relacionadas con zonas extensas de necrosis.

Tabla 2. Criterios de Dallas para el diagnóstico de miocarditis

Miocarditis activa
Presencia de infiltrado inflamatorio y necrosis miocitaria
Miocarditis <i>borderline</i>
Presencia de infiltrado inflamatorio en ausencia de necrosis
Ausencia de miocarditis
Ausencia de infiltrado inflamatorio y necrosis miocitaria

Bibliografía

1. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2008; 29:270.
2. Kushwaha SS, Fallon JT, Fuster V. Restrictive cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1997; 336:267.
3. Rapezzi C, Merlini G, Quarta CC, et al. Systemic cardiac amyloidosis: disease profiles and clinical courses of the 3 main types. *Circulation* 2009; 120:1203.
4. Dubrey SW, Hawkins PN, Falk RH. Amyloid diseases of the heart: assessment, diagnosis, and referral. *Heart* 2011; 97:75.
5. Lucena J., Hernández Al., Rico A, et al. Lipomatosis cardiaca y muerte súbita: Diagnóstico diferencial con la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho y la metaplasia grasa del infarto de miocardio antiguo. *Quad. med. forense [revista en Internet]*. 2007 Oct; (50): 275-282
6. Lam KY, Dickens P, Chan AC. Tumors of the heart. A 20-year experience with a review of 12,485 consecutive autopsies. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117:1027.
7. Braunwald E, Seidman CE, Sigwart U. Contemporary evaluation and management of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002; 106:1312.
8. Cutler DJ, Isner JM, Bracey AW, Hufnagel CA, Conrad PW, Roberts WC, Kerwin DM, Weintraub AM. Hemochromatosis heart disease: an unemphasized cause of potentially reversible restrictive cardiomyopathy. *Am J Med* 1980; 69: 923-8.
9. O'Mahony C, Elliott P. Anderson-Fabry disease and the heart. *Prog Cardiovasc Dis* 2010; 52:326.
10. Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2013; 34:2636.
11. Perel C, Echin M. Insuficiencia cardíaca y tiroides: Daño miocárdico en el hipotiroidismo. *Insuf. card.*, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, v.1, n. 1, marzo 2006.
12. Pinto Valdivia, Miguel et al . Coma mixedematoso y midazolam: Reporte de caso. *Rev Med Hered, Lima*, v. 19, n. 4, oct. 2008.
13. Codinach Huix P, Freixa Pamias R. Miocardiopatía diabética: concepto, función cardíaca y patogenia. *An Med Interna*. 2002 Jun;19(6):313-20.
14. Mocumbi AO, Yacoub S, Yacoub MH. Neglected tropical cardiomyopathies: II. Endomyocardial fibrosis: myocardial disease. *Heart* 2008; 94:384.
15. Magnani JW, Dec GW. Myocarditis: Current Trends in Diagnosis and Treatment. *Circulation* 2006; 113:676-890.
16. Felker GM, Hu W, Hare JM, Hruban RH, Baughman KL, Kasper EK. The spectrum of dilated cardiomyopathy: the Johns Hopkins experience with 1,278 patients. *Medicine (Baltimore)*. 1999; 78:270 –283.
17. Morentin B, Suarez-Mier P, Audicana C, Aguilera B, Garamendi PM, Elexpe X. Incidencia y causas de muerte súbita en menores de 36 años. *Med Clin* 2001; 116:281-285.
18. Karjalainen J, Heikkilä J, Nieminen MS, et al. Etiology of mild acute infectious myocarditis. Relation to clinical features. *Acta Med Scand*. 1983; 213(1):65-73.
19. Cioc AM, Nuovo GJ. Histologic and in situ viral findings in the myocardium in cases of sudden, unexpected death. *Mod Pathol*. Sep 2002; 15(9):914-22.
20. Barin JG, Ciháková D. Control of inflammatory heart disease by CD4+ T cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2013; 1285:80-96.

COMENTARI D'ARTICLE

La ingesta de líquids i el risc de càncer vesical en els Estudis de Salut d'Infermeria

Antoni Gelabert Mas, MD, PhD

Servei i Càtedra d'Urologia. Hospital del Mar. UAB - UPF

Comentari al treball de l'**International Journal of Cancer**, Feb. 2014. DOI : 10.1002/ijc.28764, titulat:

Fluid intake and risk of bladder cancer in the Nurses' Health Studies

Jiachen Zhou , Karl T. Kelsey , Edward Giovannucci and Dominique S. Michaud

What's new?: *Increase in fluid intake may reduce bladder cancer risk by decreasing the contact time between carcinogens in urine and bladder epithelium. However, this association has not been examined in a large cohort of women. The association between total fluid intake and bladder cancer risk in two large prospective women's cohorts with 427 incident bladder cancer cases was examined. Detailed information on total fluid intake was collected by repeated food frequency questionnaires over time. The findings suggested that total fluid intake may reduce bladder cancer risk for female smokers, as well as reduce the risk of invasive bladder cancer.*

Increased fluid intake means more dilute urine and more frequent urination, which according to the urogenous contact hypothesis may limit the amount of time that potential carcinogens are in contact with the bladder uroepithelium, thereby reducing the risk of bladder cancer. This study examined the urogenous contact hypothesis in two large female populations, uncovering a possible inverse relationship between fluid intake and bladder cancer risk. The relationship was most pronounced among female cigarette smokers, where a generous amount of total fluid intake was linked to a reduction in bladder cancer and invasive bladder cancer risk.

Què hi ha de nou?: Un interessant article que des del meu punt de vista té un triple interès:

a) es tracta d'un treball epidemiològic amb una cohort molt extensa de pacients estudiats, el que li confereix validesa estadística amb un potència de càlcul molt elevada;

b) es conclou que hi ha una significativa disminució en la incidència de Ca vesical en pacients femenines fumadores, amb especial incidència en les molt fumadores, en relació a un augment significatiu en la ingesta de líquids;

c) l'aspecte que des del meu personal anàlisi, trobo més interessant, i alhora més controvertit. Parla de **"hipòtesi del contacte urotelial"** com a mecanisme de carcinogènesi, en contraposició a les teories àmpliament acceptades de la lesió genètica per via sistèmica.

Analitzem la discussió :

La gran cohort de l'estudi ofereix fiabilitat a les conclusions donada la metodologia correcta seguida. Però com sabem, la gran majoria de grans estudis epidemiològics només relacionen dades i fenòmens, les conclusions no suposen relació de causalitat.

Certament aquest treball tampoc cau en aquest gap d'interpretació, però només fins a cert punt . D'aquí la controvèrsia. Hi ha altres estudis on les conclusions no relacionen ni suggereixen el menor risc de càncer vesical amb ingesta abundant de líquids.

Son coneguts estudis que descriuen la presència de carcinògens potencials en l'aigua de beguda corrent. D'aquí la necessitat de plantejar-se noves investigacions amb una definició prèvia d'objectius directament enfocats a identificar i reconèixer carcinogènics, superant la

simple relació casual i no causal de dades i d'aquesta manera aproximar-nos a l'etiopatogènia.

Fem èmfasi que la teoria de uropatogènesi tumoral de contacte en el Càncer urotelial té poc predicament actualment, per dues raons bàsicament:

1) les hipotètiques molècules causants de la malignització no travessen la barrera de les cèl·lules en paraigua de la capa superficial urotelial, es a dir, no s'esmuny per entre la paret urotelial, i per contra si sabem que el tumor s'inicia en les capes bassals, aquestes dues evidències estan en total contradicció.

2) com podríem explicar el càncer urotelial de urèter, si l'orina amb les seves substàncies carcinogèniques en suspensió només té contacte amb l'uroteli per períodes de temps de dècimes de segon durant el seu trasllat des de la pelvis renal fins a la bufeta urinària?.

Hi ha encara llacunes en el coneixement de la via d'inducció a la carcinogènesi en el càncer urotelial, en contraposició a uns coneixements cada dia més precisos de les passes de malignització de la cèl·lula urotelial i de les alteracions genètiques que la caracteritzen en els distints estadis i graus.

No obstant això la prevenció encara descansa en evitar el contacte amb aquests molècules inductores, com es evitar absolutament fumar activa i/o passivament, actitud universalment acceptada, però moduladors de la seva efectivitat, actualment no existeixen o són molt poc conloents. Aquest treball abunda en això, però donades els contradictoris resultats que coneixem per la literatura, hem de ser cauts en la seva valoració. Es necessita més investigació causal en el Ca de uroteli i en les mesures de prevenció.



www.ramib.org

Junta Directiva de la Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears

President	Macià Tomàs Salvà
Vicepresident	Fèlix Grases Freixedas
Secretari General	Antonio Cañellas Trobat
Vicesecretari	Josep F. Forteza Albertí
Tresorer	Joan Besalduch Vidal
Bibliotecari	Ferran Tolosa Cabani

Acadèmics d'honor

2003 -	Excm. Sr. Santiago Grisolia García, Premi Príncep d'Astúries
2007 -	Excm. Sr. Ciril Rozman, Premi Jaime I

Acadèmics numeraris

M.I. Sr. Miguel Munar Qués
M.I. Sra. Juana Ma Román Piñana
M.I. Sr. José Tomás Monserrat
M.I. Sr. Guillermo Mateu Mateu
M.I. Sr. Arnaldo Casellas Bernat
M.I. Sr. José Miró Nicolau
M.I. Sr. Bartolomé Anguera Sansó
M.I. Sr. Bartolomé Nadal Moncadas
M.I. Sr. Alfonso Ballesteros Fernández
M.I. Sr. Francesc Bujosa Homar
M.I. Sr. Ferran Tolosa Cabani
Excm. Sr. Macià Tomàs Salvà
M.I. Sr. Alvaro Agustí García-Navarro
M.I. Sra. Juana Ma Sureda Trujillo
M.I. Sr. Juan Buades Reinés
M.I. Sr. José L. Olea Vallejo
M.I. Sr. Pere Riutord Sbert
M.I. Sr. Joan Besalduch Vidal
M.I. Sr. Fèlix Grases Freixedas
M.I. Sr. Antonio Cañellas Trobat
M.I. Sra. Marta Couce Matovelle
M.I. Sr. Josep F. Forteza Albertí
M.I. Sr. Jordi Ibáñez Juvé
M.I. Sr. Joan March Noguera
M.I. Sr. A. Arturo López González

Protectors de la Reial Acadèmia

Banca March
Col·legi de Metges de les Illes Balears
ASISA

Benefactors de la Reial Acadèmia

D. Manuel Cifré Ramos
Consell de Mallorca
Salut i Força

Patrocinadors de la Reial Acadèmia

Clinica Rotger
Fundación MAPFRE
Médicos Rosselló
TIRME
USP. Clínica Palmaplanas

MEDICINA · BALEAR

PUBLICACIÓ DE LA REIAL ACADEMIA DE MEDICINA DE LES ILLES BALEARS

www.medicinabaleaer.org