

Resultado funcional y supervivencia de los pacientes con ictus

J. Gallego Culleré

Servicio de Neurología. Complejo Hospitalario de Navarra

FUNDAMENTO

El ictus es una tragedia y una carga social, sanitaria y económica. La enfermedad vascular cerebral representa más del 70% de todos los ingresos en los servicios de Neurología, y una de las patologías de mayor estancia hospitalaria y consecuentemente de mayor coste para la economía de los sistemas sanitarios. Es la segunda causa de muerte global y la primera en la mujer en la población española. Es la causa más importante de invalidez o discapacidad importante a largo plazo en el adulto y la segunda causa de demencia. Además, consume un 3-4% del gasto sanitario. Aproximadamente las tres cuartas partes de los ictus isquémicos afectan a pacientes mayores de 65 años, y se prevé un incremento de esta patología en los próximos años, más en España, que si se cumplen las previsiones, en el año 2050 será de las poblaciones más envejecidas del mundo. Una tercera parte de los pacientes que ingresan por un ictus, son recidivas y conllevan un incremento significativo de la morbi-mortalidad. Es evidente, dada la magnitud del problema, la necesidad de conocer mejor los diversos aspectos epidemiológicos y establecer una adecuada política de prevención, junto a la implantación de modelos organizativos de asistencia al ictus con el objetivo de disminuir la mortalidad y además reducir sus secuelas.

Son numerosos los factores que pueden predecir la mortalidad en la fase precoz y la dependencia posterior (edad, historia previa de ictus, gravedad del ictus en fase aguda, subtipo de ictus, historia de fibrilación auricular) y prácticamente en todos ellos resulta crucial la calidad de la atención en la fase aguda que contemple la atención durante todo el episodio.

El objetivo de este proyecto es estudiar la morbimortalidad precoz y tardía de los pacientes con ictus isquémico. Estimar el grado de dependencia de los pacientes y los factores asociados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio clínico, observacional, de pacientes consecutivos con ictus isquémico (definición descrita por la OMS) ingresados en el Complejo Hospitalario de Navarra en el período 2009-2011, con el seguimiento posterior de al menos un año tras el diagnóstico. Categorización etiopatogénica del ictus isquémico según el *Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST)*. Se han recogido los criterios del *Oxfordshire Community Stroke Project*, basada en aspectos clínicos: TACI (*Total anterior circulation infarct*), PACI (*Partial anterior circulation infarct*), LACI (*Lacunar infarct*), POCI (*Posterior circulation infarct*). Para el estudio se excluyeron los pacientes con ataque isquémico transitorio (AIT).

Todos los pacientes ingresaron dentro de las 72 horas desde el inicio de los síntomas. Se realizaron los exámenes complementarios adecuados en cada caso para el diagnóstico y evaluación de la enfermedad vascular cerebral: hemograma, bioquímica, hemostasia, electrocardiograma, radiología de tórax y tomografía computarizada (TC) y/o resonancia magnética cerebral (RM). La realización de exploraciones con angioRM y angio TC se consideró siguiendo los protocolos del servicio de Neurología. En el 96% de los pacientes se realizó estudio neurosonológico (Doppler continuo, Doppler transcranial, Dúplex transcranial color y Eco-Doppler de troncos supra-aórticos), ecocardiograma trans-torácico, transesofágico en el 52% de los pacientes y estudio Holter 32%. En casos seleccionados se realizaron otros estudios de acuerdo con el protocolo establecido (estudio inmunológico, punción lumbar, trombofilia, serologías).

Registramos las características basales de los pacientes: (edad, sexo, Rankin previo, NIH al ingreso; factores de riesgo; características del ictus: (hora y fecha de inicio de los síntomas, medio de traslado, pruebas realizadas, clasificación TOAST y de Oxfordshire, rasgos clínicos

neurológicos; tratamiento previo a la inclusión y durante el ingreso (anticoagulante, antiagregante, trombolisis, terapia endovascular) y las variables de resultado funcional (NIH, Escala modificada de Rankin, índice de Barthel).

Todos los pacientes fueron evaluados en la fase aguda y al alta, con posteriormente seguimiento al mes, a los 3, 6 y 12 meses tras el ictus mediante revisiones periódicas, llamada telefónica y evaluación de la historia informatizada. Analizamos la mortalidad intrahospitalaria, situación funcional (Rankin, índice de Barthel) y la tasa de recurrencia.

RESULTADOS

Se incluyeron 1.467 pacientes con infarto cerebral, edad media de 75 años (DE 12,5). 43,7% (641) mujeres. El 46% ingresaron dentro de las seis primeras horas del comienzo de los síntomas. El 26,7% (392) fueron ictus del despertar. El 34,4 % fueron infartos cardioembólicos, 19,8 % infartos aterotrombóticos, 28,6% indeterminados, 15% lacunares y 2,2% infartos de causa infrecuente.

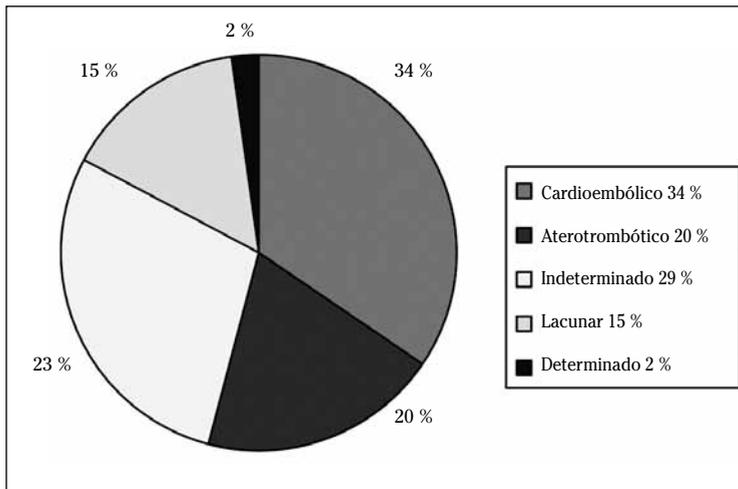


Figura 1. Etiología. Criterios TOAST (10)

Los principales factores de riesgo cardiovascular fueron la HTA (71%), dislipemia (47,5%), FA (46%), cardiopatía (43,1%), diabetes mellitus (25,6%). El 22% de los pacientes había presentado un evento vascular cerebral previo. De todos los pacientes, el 85% tenía un Rankin previo < 2, ausencia de discapacidad, con un 11% previamente institucionalizados. Un 50% de los pacientes seguían tratamiento antitrombótico: antiagregantes 38% y anticoagulantes orales 12,8% y un 29% seguía tratamiento con estatinas al ingreso. En las primeras horas, 265 (18%) pacientes recibieron tratamiento trombolítico según protocolo y de éstos, 41 pacientes fueron tratados con procedimiento endovascular.

La mortalidad a los 30 días fue del 12%. Al alta y dentro del primer mes, el 50-59% de los pacientes respectivamente presentaron dependencia en la escala mRankin y una discapacidad según índice de Barthel, muy grave o grave del 35 y 20%.

Mediante análisis de regresión logística bivariente, los factores asociados con significación estadística a éxitos en los primeros 30 días fueron: edad, Rankin previo, antecedentes de HTA, consumo de tabaco, cardiopatía, tratamiento previo con anticoagulantes, FA, Oxfordshire, etiología y NIHSS al ingreso. El sexo femenino presentó mayor mortalidad en este tipo de análisis aunque de forma no significativa. El antecedente de dislipemia y tratamiento con estatinas onstituyeron en este estudio un factor protector.

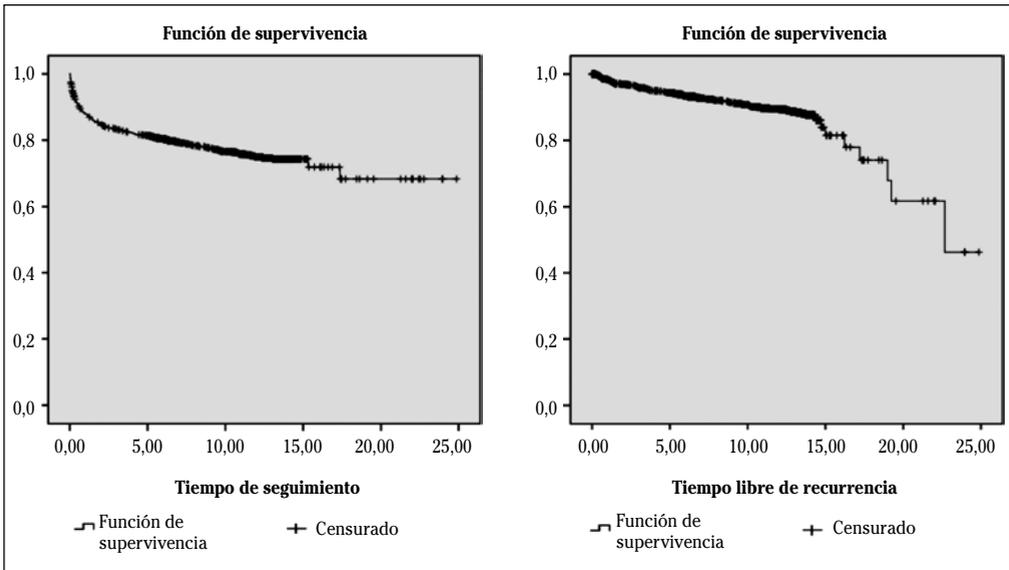
Observamos que la mortalidad aumentó con la edad, con una mayor puntuación en la escala NIHSS al ingreso, la categoría TACI de la clasificación Oxford, con ictus de etiología cardioembólica, Rankin previo superior a 2 y antecedentes personales de cardiopatía o de tratamiento anticoagulante. Ajustado el efecto del sexo según factores de confusión, el sexo femenino presentó menor mortalidad de forma significativa.

Tabla 1. Evolución de situación funcional durante 1 año tras Ictus

		ALTA	1 mes	3 meses	6 meses	1 año
		N (%)				
Rankin	Independiente	730(49,8)	232 (40,9)	720 (66,9)	772 (68,4)	586 (68,9)
	Dependiente	737 (50,2)	335 (59,1)	357 (33,1)	357 (31,6)	264 (31,1)
Barthel	Ligera	731 (55,2)	236 (47,7)	735 (72,6)	800 (74,1)	605 (74,1)
	Moderada	128 (9,7)	52 (10,5)	64 (6,3)	63 (5,8)	52 (6,4)
	Grave	112 (8,5)	51 (10,3)	66 (6,5)	62 (5,7)	38 (4,7)
	Muy severa	354 (26,7)	156 (10,6)	148 (14,6)	154 (14,3)	122 (14,9)

En el análisis multivariable con regresión logística, las variables: edad, clasificación Oxfordshire, categoría clínica, Rankin previo al ingreso, gravedad del déficit inicial (NIH), antecedente de diabetes mellitus, cardiopatía e ictus previo se asociaron a una mayor dependencia a los 3 meses (puntuación mRS >2 a 3 meses).

La mayor tasa de mortalidad ocurrió en los tres primeros meses. Al año, la supervivencia fue 74.9% (72,55-77,25). La tasa de recurrencia fue muy similar a lo largo del primer año tras el ictus. La supervivencia libre de recurrencia a los 12 meses fue 89,4% (87,4-91,4).



Al establecer diferencias por sexos, se observó que las mujeres fueron de mayor edad, con nivel de dependencia previa mayor e ictus más frecuentemente cardioembólico. En el análisis multivariable, donde se presentan las OR

ajustadas por los diferentes factores de confusión, es el sexo masculino el que pasa a ser un factor de mal pronóstico, los hombres mueren casi dos veces más que las mujeres (OR 1,82 IC95% 1,14-2,88).

DISCUSIÓN

Los infartos cerebrales de nuestro registro representan el 71% del total de los ictus. El ictus cardioembólico fue el más frecuente. La hipertensión arterial fue el factor de riesgo más prevalente. La mitad de los pacientes incluidos en el estudio seguían tratamiento antiagregante o anticoagulante, lo que demuestra su elevada morbilidad vascular. Destacamos la elevada prevalencia de FA en la población estudiada, relacionada con la etiología cardioembólica. La FA es la enfermedad causal más importante del ictus cardioembólico y que el riesgo de ictus es independiente del tipo basal de FA (de novo, paroxística, persistente, permanente). Muy probablemente esta cifra pueda ser superior dado que en un número importante de ictus criptogénico no disponen de un estudio completo y en muchos casos la búsqueda de la FA es insuficiente. Como se observó en este estudio, con la clasificación TOAST sigue siendo muy elevado el porcentaje de pacientes con ictus de etiología indeterminada. El verdadero criptogénico (estudio completo normal) en este estudio fue del 16,8%. Muchos de los ictus denominados criptogénicos, especialmente en pacientes mayores de 65 años, son causados probablemente por FA paroxística. La identificación de FA paroxística en pacientes con ictus isquémico puede por tanto alterar radicalmente el pronóstico, lo que permite aplicar el tratamiento correcto para la prevención secundaria. Actualmente y dada la importancia epidemiológica y significación clínica pronóstica de la FA es importante valorar la posibilidad de monitorización electrocardiográfica no invasiva prolongada en pacientes seleccionados con ictus criptogénico para detectar una de FA paroxística.

La mortalidad precoz, dentro de los 30 días fue del 12%, porcentaje similar a la observada en otras publicaciones. En el análisis multivariable, modelo de regresión logística las variables dependientes de muerte a los 30 días fueron la edad, sexo masculino, clasificación Oxfordshire, etiología aterotrombótica, gravedad inicial del ictus (NIH al ingreso), Rankin previo y antecedente de cardiopatía con resultados similares a estudios previos (42-46).

Evolución y seguimiento. En un análisis multivariable, donde se ajustaron los efectos de las distintas variables por los factores de confusión

con regresión logística, la edad, clasificación Oxford Shire, Rankin previo al ingreso, gravedad del déficit inicial (NIH), antecedente de diabetes mellitus e ictus previo, se asociaron a una mayor dependencia a los 3 meses.

El 59 y 33% de los pacientes presentaron dependencia (Rankin >2) al mes y tres meses respectivamente, manteniéndose constante al año. En el análisis multivariable, la edad, clasificación OxfordShire, Rankin previo al ingreso, gravedad del déficit inicial (NIH), antecedente de diabetes mellitus e ictus previo se asociaron a una mayor dependencia a los 3 meses. La tasa de recurrencia fue muy similar a lo largo del primer año tras el ictus.

Escala de predicción de dependencia y mortalidad tras el ictus isquémico. Tras el análisis de estos resultados, adquiere importancia el desarrollo y posterior validación de una escala predictiva de morbi-mortalidad para la fase aguda. A su vez permitirá optimizar la planificación y gestión de los recursos disponibles y emitir un probable pronóstico precoz, basado en la experiencia de nuestro centro, en una situación de gran incertidumbre para el paciente y su entorno.

Esta herramienta predictiva se basa en parámetros clínicos accesibles y de fácil manejo en el momento del diagnóstico del ictus, con un valor predictivo que demuestra alta sensibilidad y especificidad. Esta herramienta podría facilitar una mejor gestión de los recursos asistenciales en cada comunidad.

CONCLUSIONES

El presente estudio analiza una población con edad media muy elevada y consiguientemente alta morbilidad vascular. Los predictores de mortalidad precoz son la edad, sexo masculino, gravedad del ictus (NIH al ingreso), etiología aterotrombótica, Rankin previo y antecedente de cardiopatía. La mayor dependencia a los 3 meses se relaciona la edad, clasificación OxfordShire, Rankin previo al ingreso, gravedad del déficit inicial (NIH), antecedente de diabetes mellitus e ictus previo. La situación a los tres meses es determinante pronóstica de la evolución ulterior. Una vez más es necesario resaltar la importancia del tratamiento en la fase aguda dada su repercusión en el pronóstico funcional.

Función pulmonar y marcadores de actividad inflamatoria en condensado de aire exhalado en niños preescolares asmáticos

J.M. Olaguíbel

Servicio de Alergología. Complejo Hospitalario de Navarra

Los objetivos del presente trabajo fueron:

1. Disponer de índices objetivos de funcionamiento pulmonar válidos para diagnóstico y seguimiento en niños asmáticos de mayores de 3 a 6 años estableciendo las ecuaciones de referencia que permitan calcular valores de normalidad, para la exploración funcional más robusta que es la espirometría, no existentes en este rango de edad para nuestra población.

2. Intentar establecer rangos de normalidad para los parámetros de actividad inflamatoria NO en aire exhalado y ph en condensado de aire exhalado.

3. Evaluar la magnitud de la respuesta broncodilatadora positiva en parámetros de funcionamiento pulmonar (espirometría forzada, oscilometría de impulsos) y compararlos con la prueba de referencia de obstrucción bronquial en esta población (resistencia específica pletismográfica). Estos métodos permitirán optimizar el diagnóstico del asma en el preescolar evitando la situación actual que conduce con frecuencia a casos de infra o supratratamiento.

Podemos afirmar que se han alcanzado tanto los objetivos previstos.

A día de hoy, disponemos de unos modelos de ecuaciones lineales obtenidos en una pobla-

ción de nuestro entorno que nos permiten calcular con precisión los valores de las variables espirométricas más relevantes (FEVC, FEV1 y FEV0.5) en una población de preescolares, lo que facilitará un diagnóstico de alteración ventilatoria en este grupo de pacientes en general y de la alteración ventilatoria más frecuente que es el asma bronquial.

Con respecto a los índices de actividad inflamatoria el NO en aire exhalado se ha comportado como un buen indicador diagnóstico, estableciéndose un punto de corte de 22 ppb, con una alta sensibilidad y especificidad.

La principal limitación del estudio ha sido la dificultad de obtener respuestas broncodilatadoras espirométricas, siendo las maniobras de espiración forzada tras la administración de broncodilatador de muy baja calidad. No obstante esta circunstancia refuerza la utilidad en este rango de edad, de técnicas exploratorias que se realizan simplemente a volumen corriente, como son las resistencias pletismográficas y oscilométricas. Respuestas broncodilatadoras con incrementos iguales o superiores al 50% del valor basal pueden considerarse patológicas con seguridad.

Despistaje de neoplasia oculta en pacientes con tromboembolismo venoso idiopático mediante la realización de 18-F-FDG-PET/CT

R. Lecumberri

Departamento de Hematología. Clínica Universidad de Navarra

FUNDAMENTO

Existe una estrecha asociación entre cáncer y tromboembolismo venoso (TEV). En ocasiones un episodio de TEV puede constituir la primera manifestación de una neoplasia. La posibilidad de que exista un tumor oculto se aproxima al 10% en el caso de pacientes con TEV de carácter idiopático. Sin embargo la realización de estu-

dios de despistaje en este contexto es motivo de controversia, en parte debido a la complejidad de las pruebas a realizar y el rendimiento de las mismas.

En este estudio se pretende evaluar la posible utilidad del 18-F-FDG-PET/CT como herramienta diagnóstica única en el despistaje de neoplasia oculta en pacientes con TEV idiopático.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron pacientes >50 años con un primer episodio de TEV idiopático demostrado por métodos objetivos. A las 3-4 semanas del diagnóstico se les realizó un PET/CT. Ese mismo día se obtuvo una muestra sanguínea para la determinación de biomarcadores hemostáticos (dímero D [DD], fragmento 1+2 de la protrombina [F1+2], potencial endógeno de trombina [ETP], factor VIII [FVIII], factor tisular [FT]) que pudieran ser de utilidad para seleccionar de forma más nítida aquellos pacientes que más se beneficiarían de la estrategia de búsqueda de neoplasia oculta.

Todos los pacientes serían seguidos durante 2 años, evaluando el nuevo diagnóstico de enfermedades tumorales.

RESULTADOS

Entre enero de 2007 y junio de 2010 se incluyeron 110 pacientes, de los cuales se realizó el estudio con PET/CT en 99 de ellos. El PET/CT mostró una imagen sospechosa en 31 casos, confirmándose la presencia de una neoplasia oculta con exploraciones complementarias en 7 pacientes (22,6% de los pacientes con PET/CT sospechoso). Durante los 2 años de seguimiento se observaron 2 casos de nuevos tumores en 2 pacientes cuyo PET/CT había resultado negativo. Por tanto, la sensibilidad (S) del PET/CT como herramienta única para la detección de una neoplasia oculta en pacientes con un primer episodio de TEV idiopático fue 77,8% (IC 95%: 0,51-1); la especificidad (E), 73,3% (IC 95%: 0,64-0,82); el valor predictivo positivo (VPP), 22,6% (IC 95%: 0,08-0,37); y el valor predictivo negativo (VPN) 97,1% (IC 95%: 0,93-1). Para detectar un caso de neoplasia oculta mediante PET/CT, era necesario estudiar 14 pacientes con TEV idiopático, de los cuales 3 serían sometidos a exploraciones complementarias adicionales innecesarias.

El coste total de los procedimientos realizados en el estudio (PET/CT de despistaje + otros

procedimientos diagnósticos en los pacientes con resultado sospechoso en el PET/CT) ascendió 1.490 €/paciente. La mayor parte de los costes (72%) correspondieron a la realización del propio PET-CT.

En cuanto a los biomarcadores hemostáticos analizados, ninguno de ellos mostró diferencias significativas entre los pacientes con o sin cáncer oculto, si bien los pacientes con cáncer presentaban una tendencia a niveles más elevados de FT (mediana 5,38 vs 2,99 pM/L; $p=0,099$).

CONCLUSIONES

La utilización del PET/CT como herramienta única para el despistaje de neoplasias ocultas en pacientes con un primer episodio de TEV idiopático es posible, mostrando una elevada sensibilidad en comparación con otras estrategias evaluadas anteriormente, así como un muy alto valor predictivo negativo.

No obstante, el PET/CT se asocia con un número considerable de falsos positivos que obliga a la realización de pruebas complementarias "innecesarias", con el considerable gasto de recursos, riesgo de complicaciones derivadas de las mismas, además de causar un impacto psicológico negativo.

A pesar de lo anterior, el coste total de esta estrategia, teniendo en cuenta el potencial beneficio asociado a la detección en estadios localizados de una neoplasia, parece razonable, siendo similar al de otras estrategias previas con menor sensibilidad.

La determinación de algunos parámetros hemostáticos (DD, F1+2, ETP, FVIII) en muestras de plasma obtenidas el mismo día de la realización del PET/CT no son de ayuda relevante a la hora de seleccionar los pacientes con TEV y mayor riesgo de cáncer oculto. Únicamente la concentración de FT podría ser de utilidad, si bien se precisan nuevos estudios de mayor tamaño para confirmar este hallazgo.

Estudio de mecanismos que potencien la eficacia de los anticuerpos anti-CD20 en el tratamiento de pacientes con linfoma folicular y de parámetros biológicos que determinen la susceptibilidad genética al tratamiento con estos anticuerpos

M. Bendandi

Departamento de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

FUNDAMENTO

El linfoma folicular (LF) es una enfermedad neoplásica de células B maduras. Clínicamente se caracteriza por una fase inicial en la que se consiguen frecuentes respuestas al tratamiento quimioterápico, pero indefectiblemente la enfermedad recae. Tras esta primera recaída la tasa de respuestas y la supervivencia libre de recaída disminuyen de forma progresiva, de manera que solo tres de cada 10 pacientes estarán vivos al cabo de más de 12 años. Dada esta evolución, hoy en día el LF es considerado incurable.

Tras alcanzar la respuesta completa con la pauta estándar de quimioterapia más anticuerpo monoclonal anti CD20 (rituximab), los pacientes reciben un tratamiento de mantenimiento con rituximab porque prolonga la duración de la remisión y la supervivencia global. Sin embargo, hay pacientes que no responden al tratamiento, y sobre todo al re-tratamiento con el anticuerpo monoclonal anti CD20 y los pacientes respondedores continúan recayendo. Es por ello que es necesario diseñar estrategias que mejoren la eficacia de este tratamiento.

El efecto de los anticuerpos monoclonales depende del brazo efector del sistema inmune y de las características estructurales del anticuerpo. En cuanto al brazo celular de la respuesta inmune, las células NK parecen las más implicadas en el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, aunque también son importantes los linfocitos T CD8 y los linfocitos T $\gamma\delta$. Por tanto, si se consigue aumentar el número o la capacidad funcional estas células, se podría potenciar la acción terapéutica de los anticuerpos monoclonales. En el presente trabajo pretendemos valorar "in vitro" el efecto de la lenalidomida y de la IL-21 en la generación de células efectoras que potencien la acción biológica de los anticuerpos anti-CD20. Por otra parte, modificaciones estructurales de los anticuerpos monoclonales modifican su actividad biológica. En este trabajo nos proponemos un estudio comparativo "in vitro" de dos anticuerpos anti-CD20 estructuralmente diferentes: el rituximab y el GA-101.

Además, puesto que hay factores biológicos y genéticos (polimorfismos de los receptores Fc

de las inmunoglobulinas o del complemento) que pueden condicionar la respuesta a este tratamiento, la adecuada selección de los pacientes podría ser clave en la eficacia del tratamiento. Por tanto, nos proponemos también comprobar si existe correlación entre determinados parámetros biológicos y la respuesta al tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 20 pacientes diagnosticados de linfoma folicular y en los que estaba indicado el tratamiento con anticuerpos monoclonales. En todos los pacientes incluidos, y antes de iniciar el tratamiento con anticuerpos monoclonales, se llevó a cabo una extracción de 40 ml de sangre con heparina, 5 ml de sangre con EDTA y 5 ml de suero para realizar:

1. Estudio de subpoblaciones en sangre periférica mediante citometría de flujo. Se estudiaron además otras poblaciones que puedan influir en la respuesta antitumoral, como la población de linfocitos T reguladores y los linfocitos T $\gamma\delta$.
2. Estudio de los polimorfismos de los receptores Fc con la tecnología TaqMan de Applied Biosystems utilizando el sistema de detección ABI Prism 7900HT.
3. Estudio de la actividad del complemento y polimorfismos del complemento.
4. Estudios de citotoxicidad mediante técnicas convencionales de liberación de cromo 51.
5. Expansión y activación de células: las células mononucleadas se cultivaron en diferentes condiciones que permitieron su activación y expansión.
6. Correlación de los parámetros biológicos con la respuesta al tratamiento ante los anticuerpos monoclonales.

RESULTADOS

Este estudio está enmarcado en el contexto del ensayo clínico: "Ensayo clínico fase II contro-

lado de inmunoterapia combinada con linfocitos efectores autólogos en pacientes con linfoma no Hodgkin folicular en tratamiento de mantenimiento con rituximab tras respuesta a primera línea de quimioterapia". Aunque todavía no se han incluido todos los pacientes previstos y por tanto no se han recibido todas las muestras, hasta el momento, nuestros resultados muestran que:

- Es posible generar células LAK a partir de muestras de pacientes con linfoma folicular en tratamiento de mantenimiento con rituximab.
- Las células LAK generadas mediante expansión con IL-2 durante 2 meses tienen una capacidad citotóxica significativamente mayor que células mononucleadas de sangre periférica. Esta actividad es significativamente mayor frente a las tres líneas celulares que se han estudiado: K562, Daudi y CRL-1596 (CD20+).
- La actividad citotóxica de las células LAK generadas mediante expansión con IL-2 durante 2 meses, aumenta significativamente frente a la línea CRL-1596 cuando se combinan con rituximab. Además, "in vitro", la actividad citotóxica de las LAK+rituximab frente a la línea CD20+ es también mayor que la del rituximab solo.
- La combinación de células LAK más GA101 (otro anticuerpo anti-CD20), consigue mejorar de forma significativa los efectos conseguidos por el rituximab en la lisis de células CD20+ (CRL-1596).
- La utilización de IL21 o lenalidomida en cultivos de 21 días consigue generar una población de células LAK con mayor capacidad citotóxica frente a las dianas utilizadas (CRL-1596, Daudi, K562).

- Uno de los objetivos de nuestro estudio era estudiar la correlación de los parámetros biológicos con la repuesta al tratamiento con anticuerpos monoclonales, sin embargo como ya hemos mencionado, todavía quedan pacientes por reclutar hasta completar el ensayo y en los ya reclutados, de los 12 ciclos de tratamiento previstos, sólo 5 pacientes han completado la mitad de estos ciclos, por lo tanto, consideramos que es demasiado pronto para evaluar la respuesta al tratamiento y poder correlacionar dicha respuesta con los parámetros biológicos. Aunque se han llevado a cabo estudios fenotípicos, estudios de polimorfismos y estudios de actividad del complemento. El análisis de estos datos se hará cuando se complete el reclutamiento de los pacientes.

CONCLUSIONES

Aunque es demasiado pronto para obtener conclusiones porque no se han procesado todas las muestras del estudio, hasta el momento podemos decir que, nuestros resultados demuestran que "in vitro" la combinación de LAK+rituximab tiene mayor capacidad de lisar células CD20+ que el rituximab solo o que las células LAK solas. Además hemos comprobado que el GA101 es mejor que el rituximab en su capacidad de potenciar ADCC. Nuestros resultados muestran también que un sistema de cultivo con IL-2+IL21 podría mejorar la capacidad funcional de la población de células LAK generadas, aunque estos resultados deben confirmarse en cultivos prolongados antes de diseñar nuevos ensayos clínicos basados en la combinación de células LAK + anticuerpos monoclonales.

Implicación de TGF- β y de la vía de PI3K /Akt/mTOR en la fisiopatología de las malformaciones vasculares extensas. Estudio de posibles nuevas dianas terapéuticas

P. Redondo

Departamento de Dermatología. Clínica Universidad de Navarra

FUNDAMENTO

Las malformaciones vasculares (MV) crecen durante toda la vida y nunca desaparecen. Además de alteraciones morfológicas, las MV extensas ocasionan dolor, sangrado y limitación funcional. Las MV extensas y profundas son muy difíciles de erradicar ya que no pueden tratar-

se mediante cirugía y no responden al láser. La formación y progresión de las MV parece estar muy relacionada con la angiogénesis. Se están desarrollando múltiples tratamientos antiangiogénicos, pero es fundamental conocer los mecanismos fisiopatológicos de cada enfermedad para poder hacer uso de estas nuevas terapias.

Las alteraciones de las proteínas de la familia del TGF- β (Transforming growth factor β) están implicadas en la patogénesis de enfermedades vasculares como la telangiectasia hemorrágica hereditaria (HHT) o las MV cerebrales, pero no han sido estudiadas en pacientes con MV no cerebrales. Numerosos estudios relacionan las alteraciones en las proteínas de la familia TGF- β con las cifras alteradas de presión arterial pulmonar (tanto en los casos idiopáticos como en secundarios). En nuestro centro hemos estudiado la prevalencia de hipertensión arterial pulmonar en pacientes asintomáticos con MV extensas venosas y mixtas, y hemos observado un porcentaje muy alto con valores patológicos. Estudiar la presencia de las proteínas de la familia del TGF- β en los

pacientes con MV extensas sería útil no solo para conocer con mas precisión la fisiopatología de estas enfermedades (y por lo tanto, para establecer dianas terapéuticas), sino para entender (y por lo tanto, intentar prevenir) el desarrollo de hipertensión arterial pulmonar en estos enfermos.

Por otra parte, la vía de la PI3K /Akt/mTOR (Fig. 1) es una nueva diana terapéutica que juega un importante papel en la angiogénesis, con fármacos disponibles que frenan su activación: sirolimus (rapamicina) y derivados (temsirolimus y everolimus). Esta vía se ha implicado en la patogenia de las MV en modelos animales, y también se ha comprobado su activación en pacientes con malformaciones capilares, pero no en pacientes con otro tipo de MV.

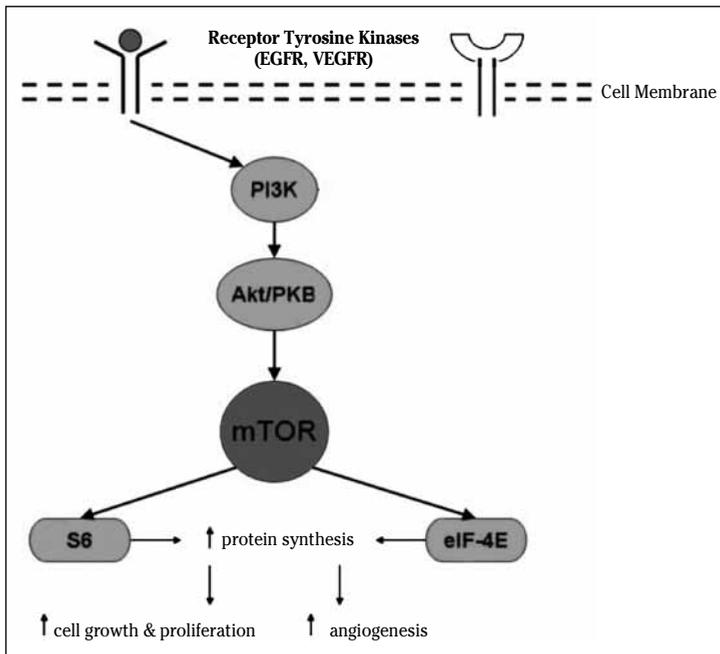


Figura 1. La vía de la PI3K /Akt/mTOR

El objetivo de este estudio es determinar si existe una alteración de las proteínas de la familia TGF- β y/o de la vía PI3K /Akt/mTOR en los pacientes con MV, así como determinar si existe relación entre la hipertensión arterial pulmonar que presentan estos pacientes y la alteración en las proteínas de la familia TGF- β .

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio de casos y controles, con una duración de 2 años.

Se realizó una extracción de sangre periférica. En el suero se determinaron mediante ELISA los niveles de TGF- β , endoglina soluble y activina A. En las células mononucleares se estudiaron mediante Western blot, proteínas de la vía PI3K /Akt/mTOR (AKT, mTOR total y S6K (las tres tanto en su forma total como fosforilada (activa))). El mismo día de la extracción, se realizó un ecocardiograma para estimar la presión arterial pulmonar sistólica (PAPS).

En el estudio de la vía PI3K /Akt/mTOR participaron 32 pacientes con MV extensas (venosas,

arteriovenosas, linfáticas o mixtas) y 32 controles sanos pareados por sexo y edad. En el estudio de las proteínas TGF- β y de su relación con la hipertensión pulmonar, participaron 30 pacientes y 30 controles pareados.

RESULTADOS

Las formas fosforiladas de las proteínas de la vía PI3K /Akt/mTOR estaban sobreexpresadas en algunos pacientes con MV en comparación con su control pareado, aunque no en todos ellos. Encontramos diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles en la expresión de pS6 (Media en casos: $1,84 \pm 2,1$; controles: 1 ± 0 ; $p=0,031$). No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles en la expresión de mTOR, pmTOR, Akt ni pAkt.

Respecto a las proteínas de la familia del TGF- β , encontramos diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles en los niveles de endogлина (casos: $3,87 \pm 0,9$; controles: $4,3 \pm 0,75$; $p=0,032$).

Hemos observado una correlación moderada negativa entre los valores de PAPS y los de TGF- β ($rs=-0,37$, $p=0,007$). Al estudiar las relaciones por separado en el grupo de casos y en el de controles, encontramos que en los casos se vuelve a observar una correlación negativa entre los valores de PAPS y los de TGF- β , pero en esta ocasión la correlación es intensa ($rs=-0,74$, $p<0,001$).

DISCUSIÓN

Los ratones transgénicos con sobreexpresión de Akt en sus células endoteliales mueren en el periodo perinatal debido al desarrollo de malformaciones vasculares. También se ha observado que tras la implantación en ratones desnudos de células endoteliales con sobreexpresión de Akt, los ratones desarrollaban malformaciones vasculares. Otro dato que sugiere la implicación de la vía PI3K /Akt/mTOR en las malformaciones vasculares es el hecho de que el Síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba (que presenta una mayor prevalencia de malformaciones vasculares, sobre todo arteriovenosas), está producido por una deficiencia de PTEN, que es un regulador negativo de Akt.

El único trabajo publicado que ha estudiado la expresión de proteínas de la vía PI3K /Akt/mTOR en biopsias humanas se ha realizado en malformaciones capilares. Realizaron inmunohistoquímica en biopsias de pacientes con Síndrome de Sturge-Weber, y encontraron que el 70.8% expresaban la proteína S6 fosforilada. No hemos encontrado en la literatura estudios realizados acerca de la expresión de las proteínas de esta vía en biopsias

humanas de otro tipo de malformaciones vasculares (venosas, arteriovenosas o linfáticas).

La sobreexpresión de proteínas de la vía PI3K/Akt/mTOR en biopsias de distintas patologías, ha sido interpretada en otros estudios como una base racional para el tratamiento con rapamicina (o derivados) de esas enfermedades.

Por otra parte, biopsiar un tejido implica realizar una técnica cruenta y no exenta de riesgos. No siempre es posible realizar una biopsia a un paciente con una malformación vascular extensa (por el riesgo de sangrado, y porque puede ser un factor desencadenante para que su malformación crezca mas). Las células mononucleares de sangre periférica son un tejido sustituto muy atractivo, debido a su gran accesibilidad.

En nuestro trabajo, al comparar los niveles de pS6 en células mononucleares de sangre periférica, hemos encontramos diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles. Por ser una proteína situada al final de la vía PI3K /Akt/mTOR, un incremento en su expresión indica un incremento en la actividad total de la vía. No obstante, no todos los pacientes presentaban incrementos en la expresión en comparación con su control pareado.

Ya se han publicado casos aislados de pacientes con malformaciones vasculares que han respondido al tratamiento con rapamicina. La sobreexpresión de la parte final de la vía PI3K/Akt/mTOR que hemos observado aporta una nueva base racional para usar rapamicina (o derivados) en el tratamiento de algunas malformaciones vasculares en humanos. Debido a que hemos observado que no todas las malformaciones vasculares presentan esa sobreexpresión, es posible que el grado de respuesta de los pacientes a la rapamicina no sea similar. Por ello, podrían ser beneficiosos nuevos estudios que correlacionen la intensidad de expresión de la pS6 con la respuesta al tratamiento, para poder seleccionar mejor a los pacientes que se beneficiarían más de este tratamiento antes de iniciarlo.

Por otra parte, se ha descrito que los niveles de endogлина son menores en pacientes con HHT que en controles. Se ha descrito aumento de TGF- β , de activina, y de endogлина en pacientes con hipertensión arterial pulmonar tanto primaria como secundaria a otras enfermedades (esclerodermia, VIH, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Eisenmenger...) con respecto a los controles. En nuestro trabajo, los niveles de endogлина eran mayores en los controles.

Hemos encontrado una correlación negativa entre los valores de PAPS y los valores de TGF- β . Esta correlación se hace mas intensa cuando se descartan los controles y se evalúan solo los pacientes.

Las diferencias observadas entre casos y controles en los niveles de endoglina así como la correlación negativa entre los valores de PAPS y los de TGF β sugieren que las proteínas de la fa-

milia del TGF β podrían estar implicadas no solo en la fisiopatología de las MV sino también en la presencia de hipertensión arterial pulmonar que se observa en algunos de estos pacientes.

Estimulación de linfocitos T antivirales con células dendríticas autólogas en pacientes con hepatitis crónica C: caracterización funcional y aplicación en vacunación terapéutica

P. Sarobe

Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra

Una de las características de los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC), en contraposición a los pacientes que se curan de la enfermedad, es la falta de respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T (LT) frente a los antígenos virales.

Se ha propuesto que una disfunción en las células dendríticas (CD), principal población de células presentadoras de antígeno, podría ser una de las causas de este fenómeno. Por este motivo, se ha postulado que la vacunación con CD funcionales que expresen antígenos del VHC podría ser una estrategia de inmunoterapia en estos individuos. Con objeto de obtener CD funcionales que expresen antígenos del VHC hemos usado una estrategia basada en la transducción de CD derivadas de monocitos con un vector adenoviral que codifica la proteína NS3 del VHC (AdNS3). Además, para favorecer la transducción y simultáneamente inducir la activación funcional de las CD hemos utilizado la proteína adaptadora CFh40L, que contiene un dominio con el receptor adenoviral CAR unido al dominio extracelular de CD40L.

La transducción de CD de acuerdo a esta estrategia induce CD maduras, tanto fenotípicamente como funcionalmente, caracterizadas por la alta expresión de las moléculas de membrana asociadas a maduración (CD54, CD86, HLA-DR),

la producción de IL-12 y la capacidad de activar a LT alogénicos. Esta estrategia de activación, al contrario de lo que ocurre con otros estímulos, promueve la maduración tanto de las CD de individuos sanos como de pacientes con infección crónica por VHC. Desde el punto de vista de su utilización en vacunación, es interesante destacar que estas CD son capaces de activar in vitro a LT autólogos específicos del antígeno viral NS3 e inducir la producción de varias citoquinas proinflamatorias, como IFN-gamma, TNF-alfa e IL-2 tras el reconocimiento antigénico, incluyendo tanto a las subpoblaciones de LT CD4 como CD8. Esta activación de los LT inducida por CD transducidas con AdNS3 y CFh40L no sólo ocurre en individuos sanos, sino también en pacientes crónicamente infectados por VHC, lo que destaca la capacidad de esta estrategia de estimulación. Finalmente, el bloqueo de IL-10, citoquina anti-inflamatoria producida por las CD de algunos individuos durante la transducción, es capaz de potenciar la respuesta, tanto a nivel de las propias CD como de los LT estimulados por esta población celular.

Estos resultados han dado lugar a un ensayo clínico de vacunación terapéutica en pacientes con hepatitis crónica C que recientemente ha comenzado y permitirá conocer el verdadero potencial clínico de esta estrategia.

