

Estudio de la calidad de vida en geriatría oncológica y en diferentes tumores mediante las escalas de la EORTC. Creación de nuevas escalas de calidad de vida dentro de la EORTC

J.I. Arrarás Urdániz y Servicio de Oncología Radioterápica y Oncología Médica. Complejo Hospitalario de Navarra

FUNDAMENTO

Existe dentro de la Oncología un interés claro por evaluar y mejorar la calidad de vida del paciente oncológico. La Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer (EORTC), cuenta con un grupo estable de trabajo sobre calidad de vida. Los servicios de Oncología del Complejo Hospitalario de Navarra llevan colaborando en este grupo desde 1992.

Este Grupo creó un cuestionario general, común a todo tipo de cáncer, QLQ C-30. Éste se complementa con módulos específicos para diferentes tipos de cáncer u otras dimensiones.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se han llevado a cabo varios estudios.

1. Estudios clínicos en los que se ha evaluado a lo largo del tratamiento y/o seguimiento prolongado, la calidad de vida en tumores de mama, glotis y cerebro, y en metástasis óseas, y además en el paciente anciano con tumores de mama y pulmón. Se ha estudiado la satisfacción de los pacientes con el H de Día del Servicio de Oncología Médica.

2. Estudios de la EORTC, dirigidos a la creación y validación de cuestionarios de calidad de vida. Hemos coordinado la creación y validación de escalas de la EORTC de información y comunicación. Hemos trabajado en los cuestionarios de calidad de vida en el paciente anciano, aspectos espirituales, fatiga, testículo, endometrio, y función sexual; y de fatiga, funcionamiento social y estreñimiento mediante metodología ITR. Hemos trabajado en la actualización de las escalas de cabeza y cuello y pulmón.

3. Estudios psicométricos propios en los que se ha trabajado en la validación de las escalas de información, colorrectal y satisfacción para su uso en nuestro país.

RESULTADOS

1. Estudios clínicos. La calidad de vida de las pacientes mayores con cáncer de mama en estadios iniciales tratados con hormonoterapia y radioterapia resulta adecuada durante el periodo de tratamiento y seguimiento. Se producen afectaciones leves en áreas relacionadas con los tratamientos. La calidad de vida de pacientes mayores con cáncer de pulmón en enfermedad avanzada, la de los pacientes con tumores cerebrales avanzados, y la de los pacientes con metástasis óseas presentan limitaciones moderadas. Los tratamientos influyen en dicha calidad de vida.

La calidad de vida de los pacientes con tumores de glotis en estadios iniciales tratados con radioterapia o cirugía y que se encuentran en seguimiento, presenta unos niveles adecuados. Los resultados favorecen al tratamiento radioterápico.

La calidad de vida de las pacientes con cáncer de mama premenopáusicas en estadios iniciales en seguimiento es adecuada. Se dan limitaciones leves en áreas relacionadas con la enfermedad y el tratamiento.

Las puntuaciones de satisfacción de los pacientes con el Hospital de Día del servicio de Oncología Médica son elevadas en las diferentes áreas evaluadas.

2. Estudios de la EORTC. Hemos estudiado las diferencias transculturales en información. Hemos coordinado dos fases del desarrollo del cuestionario de comunicación. Hemos participado en diferentes pasos de los estudios internacionales de creación y de validación de los cuestionarios del paciente anciano, aspectos espirituales, fatiga, testículo, endometrio y función sexual. Hemos trabajado en la creación de ítems para las áreas de fatiga, f. social y estreñimiento mediante metodología ITR Hemos avanzado en la actualización de las escalas de pulmón, y de cabeza y cuello.

3. Hemos validado para su uso en nuestro país la escala de satisfacción OUTPATSAT35, y los cuestionarios de información y colorrectal de la EORTC.

Con la realización de este proyecto hemos podido estudiar la calidad de vida en localizaciones tumorales clave y como respuesta a pregun-

tas clínicas. Los datos obtenidos complementan a los otros valores clínicos.

Estamos trabajando en el desarrollo de un número amplio de escalas, dentro del grupo de calidad de vida de la EORTC. Ello nos va a permitir contar con instrumentos que ayudarán a contrastar nuestros datos con los de otros estudios.

La calidad de la vida relacionada con la salud en pacientes con enfermedades crónicas. El uso del instrumento EQ-5D-5L vs. la versión EQ-5D-3L

J. Cabasés Hita

Universidad Pública de Navarra. Pamplona

IDENTIFICACIÓN PRECISA DEL OBJETIVO PRINCIPAL Y APLICACIÓN PREVISTA

Las medidas de resultados en salud referidas por los propios pacientes (PatientReportedOutcomesMeasures [PROM]) van teniendo una presencia creciente en la gestión sanitaria. Se complementan con las valoraciones clínicas, informadas por los profesionales, sobre el estado de salud de los pacientes y su evolución, aunque no las sustituyen.

El EQ-5D es un PROM genérico y estandarizado desarrollado para describir y valorar la calidad de vida relacionada con la salud. Es un cuestionario auto-administrado que contiene dos páginas: un sistema descriptivo y una Escala Visual Analógica (EVA). En la primera parte se describe el estado de salud de los individuos a través de cinco dimensiones: movilidad, autocuidado, actividades cotidianas, dolor/ malestar y ansiedad/ depresión. Cada una de estas dimensiones se subdivide en tres niveles: sin problemas (1), algunos problemas (2), muchos problemas, dando lugar a 243 estados de salud potenciales. Actualmente, el Grupo EuroQol investiga una nueva versión del instrumento alternativa, elevando el número de niveles en cada una de las dimensiones de 3 a 5. La nueva versión EQ-5D-5L debe demostrar sus propiedades psicométricas antes de decidir el cambio definitivo a la misma. El proyecto que aquí se presenta trata de comprobar que el EQ-5D-5L cumple una serie de propiedades psicométricas: consistencia, ordinalidad, validez convergente, informatividad y sensibilidad, propiedades consideradas relevantes para poder validar el instrumento.

DESCRIPCIÓN DEL ÁMBITO Y SUJETOS DE ESTUDIO: RAZÓN Y FORMA DE SELECCIÓN

Nuestra hipótesis es que la nueva versión del instrumento EQ-5D-5L es válida, fiable, factible como medida de calidad de vida relacionada con la salud, y sensible para captar las diferencias en la salud percibida de pacientes con niveles de gravedad moderada y elevada.

Se realizará un estudio comparativo de ambas versiones del instrumento en diversos centros de salud, centro de salud mental y hospital de día psiquiátrico, servicio de Reumatología, y servicio de Urgencias hospitalarias en Navarra, a través de un cuestionario que incluye las dos versiones, es decir, el instrumento estándar EQ-5D-3L y la nueva versión de cinco niveles, el EQ-5D-5L. Hay cuatro categorías de pacientes, con criterios de inclusión y exclusión dependientes de la enfermedad: trauma severo, enfermedad reumática incapacitante, pacientes con enfermedad mental grave y pacientes con enfermedades crónicas que acuden a centros de salud (cardiopatía isquémica, ictus, asma, EPOC, artrosis, VIH, DM2, HTA, etc.).

TIPO DE DISEÑO GENERAL Y DURACIÓN ESTIMADA

En este trabajo aplicaremos las técnicas para comprobar que el instrumento EQ-5D-5L cumple las siguientes propiedades: Viabilidad (feasibility), Inconsistencia, Propiedad de redistribución entre respuestas consistentes, Ordinalidad, mediante la evaluación de la transitividad entre los valores del 5L, utilizando la EVA como referen-

cia; Validez convergente, Poder discriminatorio, e informatividad absoluta y a continuación, se detalla y explica cada una de las propiedades.

La duración del proyecto será de un año: 6 meses para la recogida de datos, 3 meses para la elaboración de la base de datos y tratamiento y análisis de los datos, y 3 meses para la elaboración de un informe y redacción de artículos científicos para publicar en revistas especializadas.

RASGOS FUNDAMENTALES DE LAS ACTUACIONES PRINCIPALES

Para conocer el grado de satisfacción de las propiedades psicométricas exigidas, se evaluarán los siguientes aspectos: 1. Proporción de valores perdidos o perfiles "en blanco" en el sistema descriptivo 5L en comparación con los encontrados en el 3L. 2. Inconsistencias del instrumento: mediremos las inconsistencias como la diferencia de al menos dos niveles entre las respuestas dadas por los individuos en el 5L y el 3L. 3. Ordinalidad del nuevo instrumento de cinco niveles y la transitividad entre los valores de la Escala Visual Analógica (EVA) y los estados de salud según el sistema descriptivo de cinco dimensiones. 4. Validez convergente: correlaciones entre los perfiles de salud en el 3L y los valores identificados en la EVA y entre los perfiles de salud según las respuestas al 5L y la EVA, ambas de forma separada, para medir la capacidad del 5L de medir lo mismo que el 3L. 5. Informatividad: resultado en términos de ganancias o pérdidas de información al utilizar el 5L en lugar del sistema descriptivo de tres dimensiones. 6. Sensibilidad del instrumento a la hora de medir la salud de la población. Esperamos encontrar una mayor proporción de estados intermedios con el sistema descriptivo de cinco niveles que con el de tres niveles.

INFORME FINAL

El Grupo EuroQol (www.euroqol.org) ha continuado con la actividad de impulsar el uso del EQ-5D en todos los continentes. Una línea abierta en 2010 ha sido la de realizar estudios comparativos de las versiones de 3 y 5 niveles para explorar la validez y otras propiedades psicométricas de la nueva versión. Para ello, en este proyecto realizamos un estudio comparativo de las dos versiones con una población de pacientes con enfermedades crónicas de Na-

varra (N=1000). Se trata de un grupo amplio de población, utilizadores frecuentes del sistema sanitario, pero que se diferencia de la población general en un aspecto específico: el número de individuos que se espera muestren encontrarse en el estado de salud 11111 se presume que es pequeño (alrededor del 14%, mientras que con el mismo cuestionario a la población general, este porcentaje asciende al 50%). Consideramos que la población de pacientes con enfermedades crónicas es adecuado para medir la sensibilidad del sistema descriptivo 5L. Entre los pacientes, además de la muestra de los que acuden a consultas de atención primaria de salud, se incluyen en el estudio grupos de personas con patología mental severa, pacientes de reumatología y de neumología.

Se han estudiado las siguientes propiedades psicométricas: Factibilidad (*Feasibility*), Consistencia, Ordinalidad, Informatividad, Validez convergente, Validez de Preferencia (*face validity*), y además proponemos una nueva propiedad, a la que llamamos *Preservación del Orden*, según la cual si un individuo elige un nivel peor en la dimensión X que en la dimensión Y en el cuestionario 3L, también debería elegir un nivel peor en la dimensión X que en la Y en el cuestionario 5L.

Los resultados muestran que, a pesar del número no despreciable de inconsistencias (entorno al 18% de las respuestas) la ordinalidad se preserva con el nuevo instrumento. Esto implica que los peores perfiles de salud se corresponden con una media de la respuesta en el 5L superior. También se produce un aumento en la informatividad cuando se trabaja con 5 niveles en 4 de las 5 dimensiones (hay pérdida en la dimensión de auto-cuidado). En cuanto a la validez de preferencia (*face validity*), observamos que, una vez eliminadas las inconsistencias de la muestra, el cuestionario con 5 niveles es claramente preferido al de 3 niveles, por lo que también satisface esta propiedad. Finalmente, para un 74% de los pacientes encuestados, el orden es preservado en todas las posibles comparaciones.

El equipo investigador ha contado además con la colaboración de personal clínico dispuestos a administrar el cuestionario elaborado para el estudio (se adjunta con el informe) a sus pacientes en un Centro de Salud Mental, un Hospital de Día Psiquiátrico, una Consulta de Reumatología y una consulta de Neumología, además de dos centros de atención primaria, uno rural y otro urbano.

Evaluación de las cancer-stem-cells (CSC) y la longitud telomérica como factores pronósticos en cáncer de pulmón. Nueva estrategia mediante bloqueo selectivo de la telomerasa en las CSC

A. Calvo González

Centro de Investigación Médica Aplicada. CIMA. Pamplona

FUNDAMENTO

El cáncer de pulmón representa un problema clínico de gran relevancia por su alta incidencia y mortalidad, ya que la supervivencia a los 5 años no supera el 15%. Los tratamientos de quimioterapia y radioterapia en estadios avanzados tienen sólo un efecto temporal, ya que los tumores adquieren resistencia y progresan, terminando con la vida de los pacientes. Se ha postulado que la resistencia de los tumores frente a los tratamientos podría tener relación con la presencia de células madre tumorales (cancer stem cells, CSC). Se ha demostrado que estas células tienen un alta capacidad tumorigénica y que los tratamientos quimio y radioterapéuticos son poco efectivos contra ellas. Estas células poseen la capacidad de diferenciarse hacia células más diferenciadas y altamente proliferativas, tienen la capacidad de expulsar fármacos de modo eficiente y poseen una alta capacidad de reparación del ADN. Entre las propiedades de estas células que les confieren una ventaja en la supervivencia está el hecho de que pueden tener telómeros más largos que el resto de células, con lo que se podrían dividir durante muchas generaciones sin entrar en senescencia.

La hipótesis que planteamos en el presente trabajo es que la mayor longitud y actividad telomérica de las CSC presentes en líneas celulares de cáncer de pulmón les confieren una ventaja evolutiva en el desarrollo tumoral y resistencia frente a la terapia antitumoral. Por tanto, el uso de inhibidores de la telomerasa podría inhibir específicamente a este tipo celular y tener un efecto antitumoral significativo *in vivo*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron una batería de células humanas de cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) y se caracterizó primeramente la población CSC mediante estudio de su actividad aldehído des-

hidrogenasa (ALDH), formación de tumoroesferas, capacidad clonogénica y presencia de *side population*. Se midió la longitud y actividad telomérica en células CSC y células no CSC, su sensibilidad frente a radioterapia y frente al inhibidor de la actividad telomérica MST312. Se analizaron los mecanismos moleculares de actividad antitumoral de este compuesto y se llevaron a cabo estudios *in vivo* en combinación con radioterapia.

RESULTADOS

La fracción celular ALDH+ de las células de NSCLC resultó estar enriquecida en CSC. Esta fracción poseía células con telómeros más largos que los de las células no CSC más diferenciadas. El inhibidor de telomerasa MST312 era mucho más efectivo en la población de CSC que en la no CSC, induciendo apoptosis y elevando los niveles de p21 y p27. MST312 actuaba mediante la activación de la vía ATM/pH2AX de daño de ADN (efecto a corto plazo) y mediante disminución de la longitud telomérica en las células (efecto a largo plazo). En ratones con tumores, la administración de 40 mg/Kg de MST312 redujo el volumen tumoral en un 70% comparado con los animales sin tratar. La combinación de MST312 con radioterapia (10 Gy) no aumentó la eficacia terapéutica del compuesto solo. El análisis de los tejidos tumorales mostró que el tratamiento con MST312 afectaba principalmente a la población de CSC.

CONCLUSIÓN

La terapia antitelomérica con MST312 es efectiva principalmente contra las CSC y resulta en una importante disminución del volumen tumoral en modelos de NSCLC. Por tanto, esta terapia debe ser estudiada en mayor profundidad en estudios futuros para un posible uso de este tratamiento en pacientes con NSCLC.

Nefropatía inducida por contraste (NIC) intravenoso: eficacia comparativa en la prevención de la aplicación de un protocolo de hidratación intravenosa (iv) y oral; detección de marcadores precoces y profundización en el mecanismo patogénico mediante modelo *in vitro*

N. García Fernández

Nefrología. Clínica Universidad de Navarra

FUNDAMENTO

La importancia de la NIC en pacientes hospitalizados y la eficacia de su prevención con hidratación iv son hechos constatados. Sin embargo, no son tantos los estudios en pacientes de bajo riesgo, no se dispone de marcadores diagnósticos alternativos y más precoces que la creatinina, y no hay resultados concluyentes sobre la eficacia de la hidratación oral. En este trabajo se ha pretendido analizar la incidencia de NIC y comparar la protección renal de hidratación oral con la intravenosa (iv) estudiando precozmente distintos factores potencialmente implicados en NIC en pacientes hospitalizados con bajo riesgo y hacer un estudio *in vitro* del efecto del contraste en células mononucleares de sujetos expuestos al contraste.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ensayo clínico aleatorizado secuencial no ciego que incluyó 132 individuos con GFR mayor o igual de 30 mL/min que iban a recibir en las próximas 12-24 h contraste iv (Volumen aproximado: 120 mL). Criterios de exclusión: alergia al contraste yodado, nefropatía estadio 4-5; diabéticos o con insuficiencia cardiaca, descompensación de EPOC o hipertensión >150/90 mm Hg a pesar del tratamiento farmacológico, haber recibido contraste iv en la semana precedente, colonoscopia en las 48 horas previas o administración de nefrotóxicos. Los pacientes fueron randomizados a 3 grupos (1:1:1) (Grupo I: hidratación iv, Grupo II: hidratación con suero oral y Grupo III: sólo agua). La hidratación iv se realizó con bicarbonato 1/6M 1 h antes de la prueba (3 mL/kg/h) y la oral con citrato sódico (Casen-Fleet) (1380 mg of sodio por litro; 75 mL/10 kg) en 4 dosis las 4 horas previas al contraste. El grupo III fue considerado el grupo control por no indicar ninguna hidratación (nota: no obstante no pudo evitarse la toma de agua con el contraste oral desde 6 horas antes de la prueba radiológica y en dos tomas). Se midieron (pre- y 24 h tras la prueba) creatinina y cistatina C y estimación de filtrado glomerular (eGFR) por MDRD-4 y

fórmula con sólo cistatina C (Larsson A et). NIC fue definida por un aumento de la concentración de creatinina $\geq 25\%$ al menos 24 horas después de la administración de contraste. Otras determinaciones pre- y en distintos momentos post-contraste: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) en sangre y orina (pre- y 4 h post-), IL-8 en sangre y orina (pre- y 12 h post-), Isoprostanos orina (IPF2) (pre- y 12 h post-), actividad superóxido dismutasa en plasma (pre- y 4 h post-) y cardiotrofina 1 (CT-1) en sangre y orina (pre- y 4 y 12 h post). Se estudió *in vitro* el efecto del contraste sobre la actividad de la NADPHoxidasa de PBLs aislados de controles. Análisis con STATA / SE versión 12.0 (StataCorp, College Station, TX, EE.UU.).

RESULTADOS

Fueron incluidos y aleatorizados en los 3 grupos 167 pacientes con bajo riesgo de NIC. Un total de 132 pacientes completaron el estudio. En 130 casos se realizó un TAC y sólo en 2 una arteriografía periférica. De acuerdo con la definición de NIC que tomamos en nuestro de trabajo de los 132 pacientes en 13 (9,9%) hubo NIC. En uno de ellos se había realizado arteriografía periférica. Cuando consideramos el NIC como un aumento >10% en la cistatina C se detectaron 18 casos (13,6%). Los parámetros basales de los pacientes fueron similares en ambos grupos (NIC y no NIC) excepto para: creatinina sérica, el eGFR por MDRD-4 (pero no por cistatina C) y el volumen total de contraste administrado. El volumen total de contraste administrado fue mayor en el grupo de NIC pero casualmente el GFR por MDRD-4 fue también mayor en el mismo grupo. El cambio absoluto en los parámetros urinarios y en suero (pre- y postcontraste) se comparó entre ambos grupos sin observar diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados ($p > 0,05$) (datos no mostrados) salvo, como era de esperar, en la creatinina sérica y en el GFR tanto por creatinina ($p < 0,001$) como por cistatina C ($p = 0,032$). En el grupo de NIC el cambio de la creatinina fue de 0,2, en el eGFR por creatinina (MDRD-4) de -30,2 y en

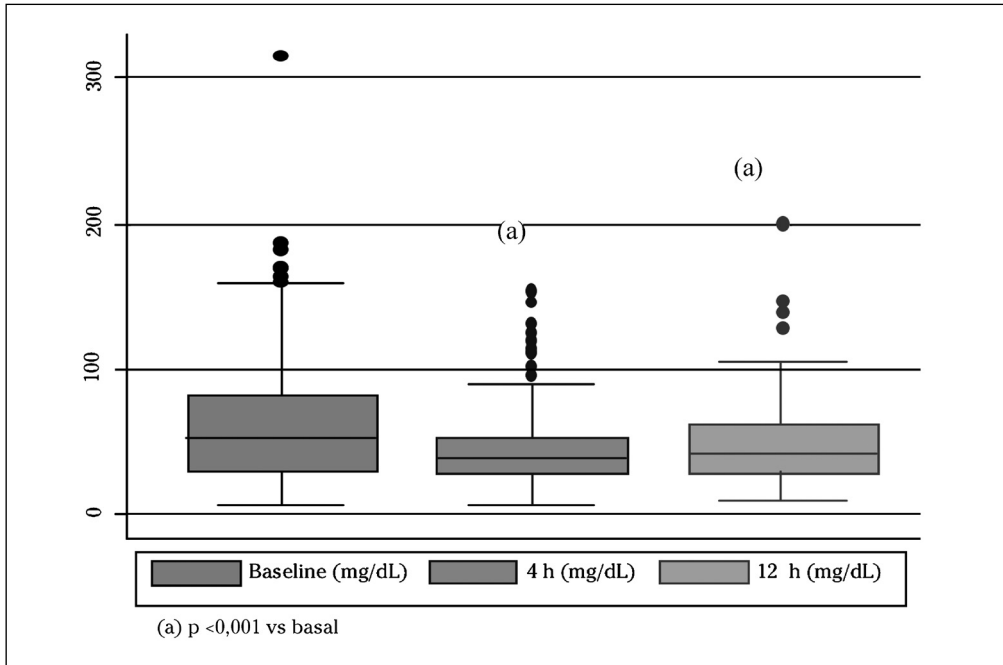


Figura 1. Creatinina en orina en la población estudiada.

el eGFR medido sólo por cistatina C de -5,02. Las características basales y la incidencia de NIC fue semejante entre los 3 grupos (Grupo I: 9,1%; Grupo II: 11,4% y Grupo III: 9,1%) diagnosticada por creatinina ($p = 1,00$) o aumento $>10\%$ de cistatina C a las 24 h ($p = 0,462$). Los parámetros de estudio basales fueron también similares en los tres grupos excepto para la actividad en plasma de SOD y la relación CT-1/creatinine orina. La actividad de SOD en plasma basal fue significativamente mayor en el grupo III frente a grupo I ($p = 0,002$) y II ($p = 0,007$). No hubo cambios estadísticamente significativos en ninguno de los parámetros estudiados en los tres grupos de tratamiento. CT-1 en suero no cambió significativamente en el tiempo (a 4 h y 12 h tras el contraste) ni de forma distinta entre tratamientos, pero sí lo hizo la creatinina en orina y la relación de CT-1/creatinine urinaria. A las 4 h del contraste iv, disminuyó significativamente la creatinina urinaria ($p < 0,001$) y CT-1/creatinine urinaria ($p = 0,003$) (Figuras 1 y 2). Este descenso se mantuvo a las 12 h para la creatinina urinaria ($p < 0,001$) pero desapareció para CT-1/creatinine urinaria ($p = 0,138$). El cambio de la relación de CT-1/creatinine urinaria fue diferente entre los tres grupos pero debido a que el valor basal fue significativamente menor en el grupo 3

($p = 0,031$). Hubo una correlación positiva significativa entre el cambio en la creatinina y la cistatina C ($r = 0,347$, $p < 0,001$). Respecto al estudio de actividad de NADPH oxidasa de PBLs aislados de pacientes de los 3 grupos, los resultados no fueron concluyentes por la gran variabilidad observada para la n

CONSIDERACIONES FINALES

En nuestro estudio la incidencia de NIC definida como el aumento $>25\%$ del valor de la creatinina a las 24 h de la administración de contraste fue de casi el 10% (13 pacientes). Este resultado se aproxima al descrito en estudios semejantes (11%) incluyendo un metanálisis más reciente (6,4%), con pequeñas diferencias atribuibles al diseño y definición de NIC. El hecho de que nuestra incidencia sea semejante o más alta a pesar de haber medido la creatinina a las 24 h del contraste (tiempo demasiado precoz para detectar algunos casos de NIC) y de tratarse de una población de bajo riesgo (se excluyeron pacientes diabéticos y con enfermedad renal crónica), plantea dar su importancia a esta complicación, aunque no dispusimos de datos sobre su impacto clínico. Más aún si consideramos que el

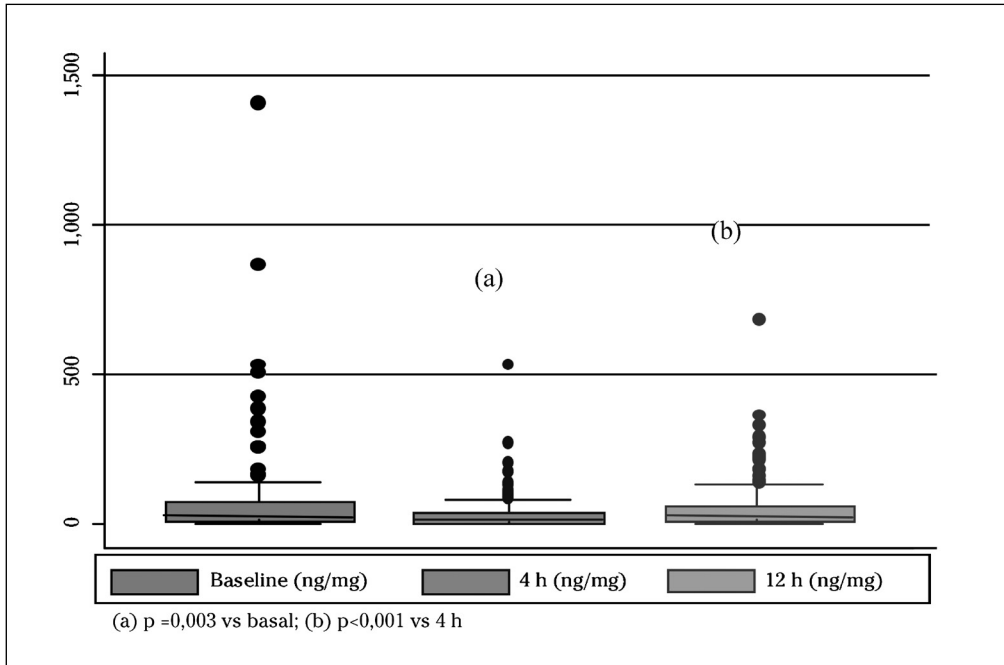


Figura 2. Cociente cardiotrofina-1/creatinina en orina en la población estudiada.

NIC aumentó al 13% por aumento >10% de la cistatina C a las 24 h del contraste iv y este resultado fue comparable al de un estudio previo. Confirmamos el impacto ya descrito que el volumen de contraste administrado tiene en el riesgo de NIC y en nuestro caso en pacientes de bajo riesgo. El hecho de haber encontrado una incidencia de NIC semejante en los dos tratamientos y en el control indica que la hidratación con suero iv, suero oral o sólo el agua tomada con el contraste oral (grupo control) son igualmente válidos para prevenir el NIC y al mismo tiempo, ninguno, evita que se dé en algunos pacientes. Algún estudio previo ya había descrito como protector de NIC el sólo beber agua. Con nuestros resultados, podríamos proponer como protección de NIC la hidratación con solución oral de citrato sódico

o sólo no restringiendo el agua que asocian al contraste oral pero sólo para pacientes con bajo riesgo de NIC. Propuesta accesible a casi todo tipo de pacientes y con bajo coste. La ausencia de diferencias significativas en el cambio de las variables de estudio en función de NIC y entre grupos de tratamiento, respecto a estudios previos podría atribuirse al momento de determinación y/o al tamaño muestral, dado que presentaban gran variabilidad. El descenso a 4 h de la creatinina en orina y en paralelo de CT-1/creatinina en orina, podría deberse a una disminución transitoria del filtrado glomerular secundario al efecto vasoconstrictor del contraste (ya descrito), que no produce necesariamente NIC, pero condiciona una menor filtración tanto de creatinina como de la CT-1 medida en nuestro estudio.

Caracterización de variables relacionadas con la fragilidad en el envejecimiento de la población: identificación de un envejecimiento libre de incapacidad y una vejez autónoma e independiente

M. Izquierdo

Universidad Pública de Navarra

El interés sobre el envejecimiento ha crecido exponencialmente en las últimas décadas. Alguno de sus aspectos, como la discapacidad y la fragilidad, se han convertido en centro de atención de la investigación básica, clínica y poblacional. En lo que a la primera se refiere, la neurociencia es una de las áreas más excitantes y caras. Con respecto a la investigación clínica y poblacional, uno de sus mayores desafíos actuales lo constituye el encontrar marcadores y predictores de sujetos vulnerables.

El objetivo principal de este proyecto ha sido 1) desarrollar un sistema portátil para la valoración en el ámbito domiciliario y en el ámbito clínico de la velocidad de marcha, el equilibrio y la potencia muscular determinar y 2) caracterizar variables relacionadas con la fragilidad en el envejecimiento. Para ello, el primer paso consistió en decidir qué tecnología portátil usar y en diseñar los test de valoración de la capacidad funcional de los individuos.

En los últimos años el avance tecnológico, la integración de circuitos y la micromecanización han permitido incluir acelerómetros, giróscopos y magnetómetros en un único dispositivo de bajo peso y tamaño, denominado unidad inercial (IMU). Estas características y su reducido precio, han potenciado su uso en el ámbito clínico y domiciliario, especialmente para aquellos estudios poblacionales longitudinales o de intervención. Las IMUs permiten detectar simultáneamente movimientos lineales y rotaciones angulares, constituyendo así una importante fuente de información sobre el movimiento. En este proyecto se usó una unidad inercial MTx, colocada en el vertebra L3 de los sujetos, que proporciona señales de aceleración y orientación al realizar los diferentes tests.

Todas las acciones musculares analizadas en este estudio fueron elegidas por su similitud con los tipos de movimientos realizados en la vida cotidiana: levantar un peso, subir escaleras, caminar o sentarse y levantarse de una silla, etc. Así, por la importancia que tiene desde el punto de vista clínico la aplicación prevista de los resultados se realizaron tests de: Equilibrio, velocidad de la marcha y de sentarse y levantarse de una silla durante 30 segundos. La importan-

cia de este tipo de pruebas funcionales radica en la posibilidad de discriminar personas sanas de personas con riesgo de caídas y establecer factores predictores de deterioro funcional, de hospitalización y de mortalidad.

Con el fin de estandarizar el análisis de los datos se creó una base de datos de MySQL. El uso de ésta base de datos permitió un manejo más sencillo de los mismos para su análisis y procesamiento. Además fue posible acceder a ellos desde otros programas como MatLab, con el que se realizaron todos los cálculos posteriores del proyecto.

TESTS DE EQUILIBRIO

En el estudio de patrones y parámetros de los tests de equilibrio, debido al carácter no estacionario de las señales se optó por un análisis wavelet de las mismas. Esto permitió mostrar que la acelerometría puede proporcionar medidas cuantitativas y precisas del equilibrio. Dichas medidas son capaces de distinguir entre sujetos sanos y sujetos frágiles o prefrágiles. Además, el método propuesto basado en la descomposición wavelet y el análisis de las componentes principales de las señales, se presenta como una herramienta clínica que podría mejorar las terapias de rehabilitación identificando las personas mayores con riesgo de sufrir caídas.

TESTS DE VELOCIDAD DE LA MARCHA

De los parámetros para identificar la fragilidad en ancianos, la velocidad de la marcha es uno de los más estudiados. Recientes estudios sugieren que la velocidad de la marcha también puede predecir la mortalidad, a cinco años vista, en ancianos mayores de 85 años. La relación entre otros parámetros de la marcha y la fragilidad no ha sido muy estudiada hasta ahora. Se ha observado que una alta variabilidad en el patrón de la marcha refleja una pérdida en su control. Usando los datos de señales de marcha se obtuvieron diferentes patrones de marcha en personas ancianas sanas, prefrágiles y frágiles durante el test de marcha de 10 m.

TEST DE 30 S. DE LA SILLA

Para este proyecto se desarrolló una herramienta definida para el test de 30-s de la silla en una población concreta de personas de edad avanzada y prefrágiles. Así, se obtuvieron los parámetros característicos del movimiento que nos ayudaran a determinar su calidad de

ejecución. Realizando los análisis estadísticos oportunos, determinamos cuáles eran los son más significativos a la hora de analizar el movimiento. En la parte final del proyecto, usando la herramienta desarrollada, fijamos que parámetros discriminan entre sujetos sanos, prefrágiles y frágiles.

Desarrollo de un sistema de electromiografía de barrido (scanning-EMG) y aplicación al estudio de la estructura de la unidad motora

J. Navallas¹, I. García de Gurtubay², L. Gila², F. Mallor¹, J. Rodríguez¹

1. Universidad Pública de Navarra Pamplona

2. Complejo Hospitalario de Navarra. Servicio de Neurofisiología

FUNDAMENTO

La electromiografía de barrido (scanning-EMG) consiste en el registro de la actividad de una sola unidad motora a través de una serie de puntos situados linealmente a lo largo del recorrido de un electrodo de aguja micro-motorizado. La innovación de esta técnica es que permite observar la unidad motora no sólo desde un punto, sino desde una serie de puntos a través de un corredor situado en el corte transversal del territorio de la unidad motora. La observación de una unidad motora desde más de un punto arroja una enorme cantidad de información extra sobre su actividad electrofisiológica. El análisis de la señal de scanning-EMG permite acceder, de una forma más directa, a la estimación de los parámetros anatómicos y fisiológicos de la unidad motora.

MATERIAL Y MÉTODOS

El objetivo principal del proyecto ha sido el diseño, construcción y puesta en marcha de un sistema completo de adquisición de señales de scanning-EMG. Para ello, se ha diseñado el sistema global, se ha desarrollado el *hardware* y *software* de control y las estructuras de soporte necesarias. El desarrollo del sistema ha implicado aunar técnicas de programación (C#) para la implementación del *software* de adquisición, diseño de placas de circuito impreso (PCBs) con la electrónica de control, así como diseño CAD y fabricación en plástico ABS para las estructuras de soporte.

El *software* de adquisición permite la visualización de los canales de disparo y de barrido, así

como la señal de scanning-EMG, que se compone de múltiples registros de duración finita dispuestos en cascada, correspondiendo cada registro a un punto espacial a lo largo del corredor que atraviesa la unidad motora. Para ello, el *software* permite establecer de forma interactiva un umbral sobre la señal del electrodo de disparo, que, en cada evento, activa el registro del electrodo que realiza el barrido y el movimiento del micro-motor. El sistema ha sido diseñado para permitir el registro simultáneo adicional de otros canales, como EMG de superficie multicanal o señales de fuerza, *twitch*, etc, aumentando su aplicabilidad como herramienta de investigación.

Como herramienta complementaria al sistema de adquisición, se ha implementado un sistema de análisis automático de las señales de scanning-EMG sobre el entorno Matlab. Dicho sistema permite obtener los parámetros estándar de caracterización de la señal de scanning-EMG (longitud de unidad motora, fracciones de unidad motora, zonas silentes, retardo temporal entre fracciones de unidad motora, etc.). Además, se ha investigado sobre nuevas formas de caracterizar la señal de scanning-EMG de tal manera que se maximice la información extraída a cerca de la estructura de la unidad motora bajo estudio.

RESULTADOS

Las principales mejoras del sistema de scanning-EMG diseñado respecto de los tres que actualmente existen en otros centros de investigación internacionales son: una gran mejora de la resolución espacial, pudiendo llegar a los

5 μm por paso, contra los 50 μm habituales; capacidad para registrar varios potenciales en un mismo punto espacial, lo que permite aplicar técnicas de promediado orientadas a la reducción de ruido y artefactos de la señal; capacidad para permitir el registro simultáneo adicional de otros canales, incluido el registro de matrices de EMG de superficie de alta densidad; y flexibilidad para permitir cambios en la marca comercial y modelo del amplificador y micro-motor empleados, siempre y cuando los nuevos modelos dispongan de una interfaz de programación (API).

La investigación sobre análisis de la señal ha permitido definir un nuevo método de caracterización de la señal de scanning-EMG basado en el perfil de la señal. En concreto, el nuevo algoritmo se basa en la ubicación de los giros (*turns*) del potencial en cada una de las posiciones espaciales, que se procesan mediante un algoritmo de seguimiento de puntos (*point-tracking*) que permite conectarlos en la dimensión espacial. De esta manera, se obtienen trayectorias tridimensionales que coinciden con los valles y las crestas de la señal de scanning-EMG. Estas trayectorias reflejan la estructura del potencial a gran escala, dando información acerca de las fracciones y zonas silentes, pero también a pequeña escala, dando información de la superposición de potenciales de dos fibras cercanas, por ejemplo.

La interpretación de las diversas morfologías del perfil de la exploración nos permite identificar las fracciones de la unidad motora como los segmentos del perfil que contienen los picos principales de la espiga, pero también permiten el estimar la extensión de la fracción, la posición a lo largo del pasillo de las contribuciones principales, y su distancia al pasillo de la exploración. Además, las latencias de las fracciones nos dan información acerca de la posición de las zonas de innervación de cada grupo de

fibras. Si se utilizan electrodos de fibra simple se pueden aislar incluso las contribuciones individuales de las fibras, permitiendo identificar la contribución espacial y temporal de cada generador.

DISCUSIÓN

El sistema desarrollado y las herramientas de análisis implementadas, y más concretamente el perfil del scanning-EMG, abre la puerta a la estimación de la estructura de la unidad motora a partir de registro de scanning-EMG. La incorporación de información espacial adicional, como en el caso de los registros de scanning-EMG, y la estimación directa de otras variables del problema no accesibles mediante registros estándar, como la velocidad de conducción o la posición de la zona innervación mediante EMG de superficie, permite reducir el número de variables a determinar, acercándonos así a la solución del problema inverso para determinar la localización relativa de las fibras, sus diámetros (vía velocidades de conducción) y las posiciones de las uniones neuromusculares. Para conseguir este objetivo se ha de trabajar en una doble línea de análisis y de modelado. El análisis permite aumentar la cantidad de información relevante obtenida a partir de los registros de scanning-EMG, y definir una figura de mérito para objetivar la optimización de parámetros al resolver el problema inverso. El modelado permite obtener el sistema a optimizar, buscando el mejor ajuste posible de los parámetros de entrada como solución óptima al problema inverso en cada caso.

El presente proyecto ha permitido dotar al grupo de investigación de la UPNA y el CHN de un sistema de registro y análisis de señales de scanning-EMG. La disponibilidad de esta nueva herramienta de investigación abre nuevas líneas de trabajo conjunto.

The heritability of psychotic disorders across different nosological systems in multiple affected families

V. Peralta, X Goldberg, M. Ribeiro, A. Sanchez-Torres, L. Fañanás, M.J. Cuesta

Psychiaty Section B, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, Spain

IMPORTANCE

Psychotic disorders are significantly influenced by genetic background, and evidence indicates that phenotype definition has a strong

impact on the degree of heritability. Nevertheless, the extent to which distinct classification systems of psychotic disorders and their constituting diagnoses affect heritability estimates has never been investigated.

OBJECTIVE

To examine heritability associated with four nosologic systems of psychotic disorders and their constituting diagnoses.

DESIGN

Multiplex families with psychotic disorders underwent phenotyping by means a comprehensive interview for psychotic and mood disorders. Cases were diagnosed according to DSM-IV, ICD-10, Leonhard's classification and a data-driven approach using latent class analysis. The heritability of phenotypes determined using these classification systems and their constituting diagnoses was estimated.

SETTING

Probands and their family members were recruited from mental health services of a defined catchment area in Navarra (Spain) between 2008 and 2012.

PARTICIPANTS

Probands with a psychotic disorder, their parents and at least one first-degree relative with a psychotic disorder. The sample was composed of 356 families comprising 1386 individuals, of whom 882 were affected and 504 unaffected.

MAIN OUTCOME MEASURES

Heritability estimates of four diagnostic systems and their constituting diagnoses.

RESULTS

The most heritable system was the Leonhard classification ($h^2=0.60$) followed by the empirical ($h^2=0.55$), ICD-10 ($h^2=0.48$) and DSM-IV ($h^2=0.47$) classifications. Except for the latent class of delusional disorder, all diagnoses were significantly heritable, although the magnitude varied considerably ($h^2=0.25-0.79$). Regarding schizophrenia diagnoses, the most heritable was the core schizophrenia latent class ($h^2=0.79$) followed by Leonhard's systematic schizophrenia ($h^2=0.73$), DSM-IV schizophrenia ($h^2=0.50$) and ICD-10 schizophrenia ($h^2=0.44$). Substantial heritabilities across nosological systems were consistently observed for psychotic bipolar disorder ($h^2=0.60-0.77$) and psychotic depression ($h^2=0.64-0.67$). As a rule, and within each nosologic system, the intermediate group(s) of psychoses showed lower heritabilities than schizophrenia and affective psychoses.

CONCLUSIONS

The heritability level of nonaffective psychotic disorders is critically dependent on the nosological scheme considered. While affective psychoses showed similar and relatively high heritability estimates across classification schemes, those of schizophrenia varied markedly, with a narrow phenotype maximizing the heritability. Leonhard's classification of psychotic disorders may be better suited for molecular genetic studies than the official diagnostic systems.

Implicación del sistema de transducción de señal mediado por c-di-GMP en la patogénesis y cronificación de *Salmonella typhi* y *Salmonella no-typhi*

C. Solano Goñi

Universidad Pública de Navarra. Pamplona

FUNDAMENTO

Salmonella entericaserovar Typhi (*S. typhi*) es el agente etiológico de las fiebres tifoideas en humanos, una enfermedad sistémica que afecta en el mundo a aproximadamente 20 millones de personas cada año. Una vez que *S. typhi* invade los macrófagos, éstos la transportan al bazo, páncreas e hígado, de donde migra a la vesícula

biliar, en donde resiste concentraciones muy altas de bilis que inhiben a la mayoría del resto de la microbiota. En la vesícula se puede producir una infección activa (colecistitis) o, en el 5% de los casos, una infección crónica (estado portador). Este estado se asocia frecuentemente con el desarrollo de cálculos biliares, y es también el factor individual más importante en

el desarrollo de carcinoma hepatobiliar. Además, estos portadores subclínicos, en los que el tratamiento antibiótico no suele ser efectivo, son los responsables de numerosos brotes por *Salmonella*. Por otra parte, el serotipo *S. enteritidis*, junto con *S. typhimurium*, es el que más frecuentemente se aísla en los casos de salmonelosis registrados en Navarra y el conjunto de España. En el hombre producen un cuadro clínico de gastroenteritis o enterocolitis. Tanto *S. typhi* como *S. typhimurium* son capaces de colonizar cálculos biliares, gracias a que la bilis es capaz de inducir la formación de biofilms de *Salmonella* sobre ellos.

En los últimos años se ha demostrado que el sistema de transducción de señal mediado por el nucleótido cíclico, c-di-GMP, regula numerosos procesos celulares, tales como la biosíntesis de exopolisacáridos, la comunicación intercelular, el desarrollo, la formación del biofilm, la movilidad y la virulencia de patógenos animales y de plantas. Así, niveles altos de c-di-GMP activan la síntesis de la matriz extracelular del biofilm y por lo tanto la formación de dicho biofilm y por otro lado reprimen la movilidad y la expresión de factores de virulencia. Además, estudios muy recientes han demostrado que el c-di-GMP (de origen sintético) actúa como PAMP (pathogen-associated molecular patterns), siendo reconocido por un dímero de la proteína STING (stimulator of interferon genes), dando lugar a la activación del factor de transcripción IRF3, necesario para la producción de interferón de tipo I por la célula huésped.

Teniendo en cuenta lo anterior, en este proyecto se ha analizado la implicación del c-di-GMP en la patogénesis y cronificación de *Salmonella*. En primer lugar, se ha analizado la relación entre los niveles celulares de c-di-GMP y la resistencia a altas concentraciones de sales biliares presentes en la vesícula biliar. Además, se ha identificado una diana del c-di-GMP implicada en la inhibición de la movilidad de *Salmonella*. Por otra parte, se ha estudiado la relación directa entre la presencia de c-di-GMP intracelular en la célula bacteriana durante la infección y la activación del sistema inmune a través de STING, utilizando ratones deficientes en la producción de STING y macrófagos derivados de médula de dichos ratones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un mutante múltiple en los doce genes que codifican las doce proteínas GGDEF presentes en el genoma de *S. enteritidis* (Δ XII), se construyó utilizando un procedimiento desarrollado en nuestro laboratorio que permite modi-

ficar secuencias de ADN en el cromosoma de una bacteria Gram negativa sin necesidad de utilizar marcadores de selección (uso del plásmido pKO3blue). La cepa que presenta niveles constitutivos muy elevados de c-di-GMP (WT P_cLrbs::adrA-3xFlag) se construyó mediante recombinación homóloga utilizando el sistema I red y la cepa MG1655_latt-kmgfp como molde para la amplificación del fragmento kmP_cLrbs. La identificación de las mutaciones supresoras de la inmovilidad de una cepa con altos niveles de c-di-GMP se realizó mediante mutagénesis por transposición utilizando el fago P22 y posterior secuenciación.

La formación de biofilm se analizó en los medios LB y ATM. La producción de celulosa y el morfotipo colonial se estudiaron en placas conteniendo calcofluor y rojo congo, respectivamente. La virulencia del mutante Δ XII se estudió en un modelo de ratón infectado oralmente con 10^9 ufc. La virulencia en ratones wt y Golden-ticket se analizó utilizando un modelo de infección experimental vía intraperitoneal con 1×10^4 ufc.

Los análisis de Western blot se realizaron utilizando anticuerpos anti-3xFlag a una concentración de 0,5 mg ml⁻¹ y el sistema ECLTM (GEHealthcare).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El análisis fenotípico del mutante Δ XII mostró que es incapaz de formar un biofilm en un medio rico en nutrientes esenciales (LB) y en un medio deficiente en nutrientes (ATM), no brilla en placas suplementadas con calcofluor y presenta una morfología marrón y lisa en placas suplementadas con el colorante rojo congo, demostrando así que es incapaz de sintetizar celulosa. Además, el mutante Δ XII presentó una virulencia en un modelo de ratón infectado oralmente algo inferior al de la cepa salvaje. Por otro lado, los resultados indicaron que la cepa Δ XII es más resistente tanto a la acción del deoxicolato como al extracto de bilis en comparación con la cepa salvaje y la que sobreexpresa la diguanilato ciclasa, adrA, la cual resultó ser significativamente más sensible a la acción de DOC y SOC. Por lo tanto, aparentemente, la ausencia del dinucleótido cíclico c-di-GMP favorecería la resistencia a ácidos biliares y probablemente la colonización de los cálculos biliares.

Por otra parte, los resultados han demostrado que la inactivación de diferentes genes del operón de síntesis de celulosa, bcsABZC, la mutación de residuos conservados en el motivo RxxxD del dominio PilZ de BcsA, o la degradación de la celulosa producida por BcsA da lugar a una recu-

peración de la movilidad de cepas con alto contenido de c-di-GMP. Además, ensayos de tethering e inmunofluorescencia han mostrado que niveles altos de c-di-GMP provocan una acumulación de celulosa alrededor de las bacterias que impide la rotación flagelar, probablemente mediante un impedimento estérico, sin afectar a los niveles de expresión de los flagelos, a su secreción ni su ensamblaje. Estos resultados resaltan el papel del c-di-GMP como regulador del modo de vida de *Salmonella*, ya que asegura que los procesos de movilidad y formación del biofilm sean excluyentes.

Por último, los ratones Golden-ticket, deficientes en la síntesis de Sting, fueron más susceptibles a la infección por *Salmonella*. Los estudios de invasión y producción de IFN- β en macrófagos derivados de médula ósea tras una infección por *Salmonella* sugirieron que Sting es necesario para la producción de IFN- β y que esta respuesta depende de la presencia de niveles elevados de c-di-GMP en el citoplasma de la bacteria. Por lo tanto, el c-di-GMP bacteriano podría inducir una respuesta inmune celular a través de la activación de Sting.

