

Volumen 67 • N.º 3

Julio-Septiembre 2011

## Editorial

- 269 La medicina y cirugía experimental, entre la apocatástasis y la nanotecnología  
*Moreno Fernández-Caparrós L.*

CONCESIÓN DEL PREMIO FIDEL PAGÉS MIRA VÉ 2011

CONVOCATORIA DEL PREMIO INTERNACIONAL FIDEL PAGÉS MIRA VÉ 2012

## Artículos originales

- 273 PREMIO FIDEL PAGÉS MIRA VÉ 2011  
Desarrollo de una nueva forma farmacéutica líquida necesaria en una situación de accidente nuclear  
*Juberías Sánchez A., Verón Moros M., Cabrera Merino JI., Zamanillo Sainz A., Broncano Berenguer FJ.*
- 284 ACCESIT DEL PREMIO FIDEL PAGÉS MIRA VÉ 2011  
Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado  
*Lozano Benito D., Gil Huerta L., Álvarez San Martín C.*
- 291 Adaptación psicométrica del inventario de Texas revisado de duelo (ITRD) en población militar española joven adulta  
*Samper Lucena E.*
- 299 Metilmercurio en el cabello de población infantil  
*Llorente Ballesteros M<sup>ª</sup>T, Vírveda Chamorro I, Peral Jiménez R, Sanz Grimaldi M<sup>ª</sup>J, Ruiz Tejada M<sup>ª</sup>A, López Colón JL.*

## Comunicación breve

- 304 Trombosis venosa profunda asociada a bacteriemia por campylobacter fetus  
*Membrillo de Novales FJ., Priego de Montiano P., Lucena Calvet P., Perea Perea C.*

## Nota Técnica

- 306 Evaluación positiva de medicamentos: 2º Trimestre 2011  
*García-Luque A., Puerro Vicente M., Sánchez López P., Cabanes Mariscal MA.*

## Informes

- 310 El sueño en ambientes extremos  
*Martínez Ruiz M., Martínez Galdámez M<sup>ª</sup>E.*
- 317 Identificación sanitaria: la huella genética  
*Marqués Negrodo M<sup>ª</sup>L., Sanz Zamarro M<sup>ª</sup>I., Villa Rodríguez L., García Tejerina R., Álvarez-Maldonado Paramés T., Rubiano Rubiano JC., Coca Menchero S.*

## Imagen problema

- 321 Dolor lumbar irradiado a testes y calcificación en radiografía de abdomen  
*Salinas Vela FT., Fernández Antón R.*
- 323 Cólico nefrítico y hallazgo casual torácico  
*Martín García AM<sup>ª</sup>, Hernández Navarro JC., Baquero López FR.*

## Cartas al Director

- 325 Melatonina y jet lag ¿un suplemento alimenticio o un principio activo de interés militar?  
*García-Luque A., Puerro Vicente M.*
- 326 Normas de publicación

Incluida en el IME,  
en el IBECS y en

 **SciELO** España

Disponible en [www.mde.es](http://www.mde.es)



ISSN 1887-8571



9 771887 857001



# Sanidad Militar

Revista de Sanidad de las Fuerzas Armadas de España

EDITA:



Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de información almacenada, sin la autorización del editor.

#### Distribución y suscripciones

MINISTERIO DE DEFENSA  
Dirección General  
de Relaciones Institucionales  
Subdirección General  
de Publicaciones  
Camino de los Ingenieros, 6  
28071 Madrid  
Tfno. 91 364 74 21 RCT 814 74 21  
Fax 91 364 74 07 RCT 814 74 07  
Correo electrónico: suscripciones@oc.mde.es

#### Redacción

HOSPITAL CENTRAL DE LA DEFENSA  
Glorieta del Ejército, s/n  
27047 Madrid  
Tfno. 91 422 22 33  
Fax 91 422 81 95  
E-mail: medicinamilitar@oc.mde.es

#### Fotocomposición e Impresión

Imprenta del Ministerio de Defensa

NIPO: 075-11-059-6 (edición en papel)

NIPO: 075-11-060-9 (edición en línea)

www.mde.es

ISSN: 1887-8571

Título abreviado: Sanid. mil.

Depósito Legal: M. 1046-1958

Soposte válido: SVR n.º 352

Periodicidad: trimestral, un volumen por año

Tirada: 1.800 ejemplares

Tarifas de suscripción anual:

España: 10,82 euros.

Extranjero: 12,02 euros.

Precio por ejemplar: 3 euros



## Director

**D. Juan Manuel Montero Vázquez. G.D. Med. Inspector General de Sanidad de la Defensa (Inspección General de Sanidad)**

## Director Ejecutivo

**D. Agustín Herrera de la Rosa, Col. Med. (R) Especialista en Neumología. (Inspección General de Sanidad)**

## Comité de Redacción

**REDACTOR JEFE: D. Miguel Puerro Vicente, Tcol. Médico. Farmacólogo. Profesor Asociado. Universidad San Pablo CEU.**

#### EDITORES:

- D. Julio Astudillo Rodríguez. Cap. Enf. Lic. en Veterinaria. Profesor Asociado. Universidad San Pablo CEU.
- D. José Barberán López. Tcol. Med. Especialista en Medicina Interna. Profesor Asociado. Universidad San Pablo CEU.
- D. Enrique Bartolomé Cela. Tcol. Med. Especialista en Medicina Intensiva.
- D. José Enrique Benedet Caraballo. Tcol. Enf. Inspección General de Sanidad.
- D. Juan Ramón Campillo Laguna. Tcol. Med. Director del Departamento de Logística Sanitaria de la Escuela Militar de Sanidad.
- D. Rafael García Rebollar. Tcol. Med. Odontólogo. Profesor Asociado de la UCM.
- D.ª Amelia García Luque Cte. Med. Especialista en Farmacología Clínica.
- D. Mario González Alfonso. Tcol. Far. Especialista en Farmacia Hospitalaria y Análisis de medicamentos y drogas.
- D. Arturo Lisbona Gil. Tcol. Méd. Especialista en Endocrinología. Profesor Honorífico Universidad de Alcalá.
- D. Francisco Martín Sierra. Tcol. Med. Especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública. Jefe de la Unidad de Medicina Preventiva. IGESAN.
- D. Rafael Mombiedro Sandoval. Tcol. Med. Estomatólogo.
- D. Luis Moreno Fernández Caparrós. G.B. Vet. Académico de número de la Real Academia de Ciencias Veterinarias y de la Real Academia de Doctores de España y miembro correspondiente de la Real Academia de Veterinaria de Francia. Profesor Asociado de la UCM.
- D. Pablo Sarmiento Pérez. Cte. Vet. Prof. Cátedra Almirante D. Juan. Especialista en Bromatología e Higiene de los alimentos.
- D. José Ignacio Robles. Cte. Psi. Director del Departamento de Psicología de la Escuela Militar de Sanidad. Profesor Asociado de la UCM.
- D. Juan Manuel Torres León. Tcol. Med. Especialista en Medicina Interna. Profesor Asociado. Universidad San Pablo CEU.
- D. Mariano Antonio Villegas Ramírez. Tcol. Psi. Jefe de la Unidad de Psicología. IGESAN.

## Comité Científico

- D. José Luis Álvarez Sala
- D. José Badiola Diez
- D. José Manuel Ballesteros Arribas
- D. Luis Callol Sánchez
- D. Manuel Diaz Rubio
- D. Vicente Domínguez Rojas
- D. Fernando Gilsanz Rodríguez
- D. Máximo A González Jurado
- D. Francisco Javier Labrador Encinas
- D. Marcel Merlin
- D.ª María Teresa Miras Portugal
- D. Alfonso Moreno González
- D. José Carlos Nunes Marqués
- D.ª Carmen Peña López
- D. Francisco Javier Puerto Sarmiento
- D.ª María Pilar Sánchez López
- D. Juan José Rodríguez Sendín
- D. Francisco José Santolaya Ochando
- D.ª María Jesús Suárez García
- D. Jesús Usón Gargallo
- D. Manuel Alfonso Villa Vigil

## SUMARIO

### Editorial

- 269 La medicina y cirugía experimental, entre la apocatástasis y la nanotecnología  
*Moreno Fernández-Caparrós L.*

### CONCESIÓN DEL PREMIO FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2011

### CONVOCATORIA DEL PREMIO INTERNACIONAL FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2012

### Artículo original

- 273 PREMIO FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2011  
Desarrollo de una nueva forma farmacéutica líquida necesaria en una situación de accidente nuclear  
*Juberías Sánchez A., Verón Moros M., Cabrera Merino JI., Zamanillo Sainz A., Broncano Berenguer FJ.*
- 284 ACCESIT DEL PREMIO FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2011  
Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado  
*Lozano Benito D., Gil Huerta L., Álvarez San Martín C.*
- 291 Adaptación psicométrica del inventario de Texas revisado de duelo (ITRD) en población militar española joven adulta  
*Samper Lucena E.*
- 299 Metilmercurio en el cabello de población infantil  
*Llorente Ballesteros M<sup>a</sup>T., Vírveda Chamorro I., Peral Jiménez R., Sanz Grimaldi M<sup>a</sup>J., Ruiz Tejada M<sup>a</sup>A., López Colón JL.*

### Comunicación breve

- 304 Trombosis venosa profunda asociada a bacteriemia por *campylobacter fetus*  
*Membrillo de Novalés FJ., Priego de Montiano P., Lucena Calvet P., Perea Perea C.*

### Nota técnica

- 306 Evaluación positiva de medicamentos: 2º Trimestre 2011  
*García-Luque A., Puerro Vicente M., Sánchez López P., Cabanes Mariscal MA.*

### Informes

- 310 El sueño en ambientes extremos  
*Martínez Ruiz M., Martínez Galdámez M<sup>a</sup>E.*
- 317 Identificación sanitaria: la huella genética  
*Marqués Negrodo M<sup>a</sup>L., Sanz Zamarro M<sup>a</sup>I., Villa Rodríguez L., García Tejerina R., Álvarez-Maldonado Paramés T., Rubiano Rubiano JC., Coca Menchero S.*

### Imagen problema

- 321 Dolor lumbar irradiado a testes y calcificación en radiografía de abdomen  
*Salinas Vela FT., Fernández Antón R.*
- 323 Cólico nefrítico y hallazgo casual torácico  
*Martín García AM<sup>a</sup>., Hernández Navarro JC., Baquero López FR.*

### Cartas al Director

- 325 Melatonina y jet lag ¿un suplemento alimenticio o un principio activo de interés militar?  
*García-Luque A., Puerro Vicente M.*
- 326 Normas de publicación

## CONTENTS

### EDITORIAL

- 269 **Experimental medicine and surgery, between apokatastasis and nanotechnology**  
*Moreno Fernández-Caparrós L.*

### AWARD OF THE PRIZE FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2011

### INTERNATIONAL PRIZE FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2012: CALL OF PAPERS

### ORIGINAL ARTICLE

273 *PRIZE FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2010*

**Development of a new liquid pharmaceutical form needed in a situation of a nuclear accident**

*Juberías Sánchez A., Verón Moros M., Cabrera Merino JI., Zamanillo Sainz A., Broncano Berenguer FJ.*

**SUMMARY: Introduction:** The administration of stable iodine in the form of iodide, is used as a buffer against the harmful effects of radiation, this prophylactic regimen is also assumed by NATO STANAG 2461 in NBC / MED. The difficult delivery to specific population groups with difficulties in swallowing solid oral forms of stable iodine, requires the availability of certain preparations that would circumvent the disadvantages of these formulations and facilitate the management of this asset. **PLACE:** Center Pharmacy Military Defense. **Objective:** Design and to evaluate a stable preparation of potassium iodide in solution for oral administration to complete the gap in the Spanish and European therapeutic arsenal. Production and validation of industrial-scale process of an oral solution of potassium iodide. Defining the parameters which determine the quality of the product. Evaluation of the stability of the preparation. Statistical treatment of results. **Material and methods:** Components manufactured product. Process and control equipment used in industrial pharmaceutical manufacturing solutions. Definition of limits applied to product specifications. Stability study according to protocol IQE ICH climatic zones III and IV on manufactured industrial lots. SPSS version 15. **Results:** The results corroborate the quality and stability of three industrial lots under study (18-22 ml packed volume, density :1,100-1, 300 g / ml, pH :5,5-6, 5; iodide content: 90% -110%, molecular iodine <2% total aerobes at 37 ° C and 25 ° C <100 col / g; no pathogens). The level of significance obtained from analysis of variance in the uniformity of size, density, pH, content of iodine and free iodine value is greater than 0.05. The values set for lots meet all specifications for 2 years. Third and fourth year there is damage to the packaging and elevated concentration of the solution, without any alteration of specifications. **Discussion:** The absence of significance in the comparison of the means in the variables studied in the three lots, shows that the process is robust and repetitive. The results of stability allow to assign a validity period of at least 2 years. The upkeep specifications product, despite the deterioration observed in the package, ensures a high degree of stability of the scheme drawn up. **Conclusions:** A stable solution of potassium iodide has been designed and manufactured on an industrial scale. The data obtained concerning the quality of the manufactured product helps to ensure the absence of significant variations between different batches studied, confirming that process design is the proper. The data obtained allow us to ensure, also a stable behavior of the solution, both from the standpoint of chemical and biological.

**KEY WORDS:** Nuclear accident. Potassium iodide. Oral solution. Special populations.

284 *SPECIAL MENTION PRIZE FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2010*

**Effect of seminal plasma addition on frozen-thawed equine semen**

*Lozano Benito D., Gil Huerta L., Álvarez San Martín C.*

**SUMMARY: Background and objectives:** Stallion sperm cryopreservation offers benefits not available in cooled semen. However various factors affect the success of artificial insemination with frozen-thawed equine semen. This study aims to evaluate if adding different concentrations of seminal plasma on frozen-thawed equine spermatozoa affects sperm motility, viability and membrane status. **Material and Methods:** Different breeds were used; four saddle stallions and two draft stallions. In the first experiment thawed semen was centrifuged and in the second one it was not. Subsequent to that, the spermatozoa resuspended with 10, 20, 30% seminal plasma in phosphate buffered saline and pure seminal plasma (100%). **Results:** Semen parameters of saddle stallions were not affected ( $p > 0,05$ ), but a possible toxic effect of pure seminal plasma was observed on sperm characteristics. Seminal plasma samples in draft breed got better rates in viable sperm with intact acrosome. A lower percentage was also found on spermatozoa with acrosome reaction than in control samples. This category showed significant differences ( $p < 0,05$ ). **Conclusions:** Post-thawing spermatozoa incubation with seminal plasma can stop acrosome reaction, due to the low percentage of spermatozoa suffering true acrosome reaction.

**KEY WORDS:** Seminal plasma, Frozen-thawed spermatozoa, Equine, Acrosome reaction, Artificial insemination.

291 **Psychometric Adaptation of Texas Revised Inventory of Grief (TRIG) in a Spanish young adult military population**

*Samper Lucena E.*

**SUMMARY. Introduction:** The losses that accompany the human condition are a difficult process to come to terms with, and according to scientific literature one of the most stressful life events. Today there is an increased interest in these issues and their social demand. The daily performance of male and female service members, especially during their participation in operations abroad, is the reason for the Armed Forces prestige among our fellow citizens. But operations also originate casualties and this affects colleagues, families and friends. **Objectives:** This paper seeks to explore psychometrically the Texas Revised Inventory of Grief (TRIG) by Faschingbauer et al., in young adult military personnel, reviewing some of the variables that have been associated in the literature with the psychological process studied. This paper provides relevant information to support the specialist consultation or in disaster situations to help people who have lost loved ones. **Methodology:** We prepared a questionnaire to collect data. It was applied to a sample of young adults, members of the Spanish Armed Forces, performing the psychometric study (descriptive analysis, scales by percentiles, and factorial study). **Discussion:** We compared the results with those of other studies by the authors of both the original test and the version used in other populations of different origin. **Conclusions:** The test used is psychometrically adequate for a young adult population as it has been proven in other studies with different populations. There are differences between men and women in the grieving process. The classification of the scales of the test must be adapted to the population where it is applied, clinical symptoms or not, different age groups, or different cultural backgrounds, since the grieving process is different in

each group. The profile of the person in need of specialized support in this study is a woman with no mental health problems and who has lost a loved one to disease. This paper contributes to enrich the psychological diagnostic tools in a specific Spanish military population.

KEY WORDS: Grief, Loss, TRIG, Psychometrics, Psychological care, Spanish Armed Forces.

299 **Methylmercury in the hair of a children population**

*Llorente Ballesteros M<sup>a</sup>T., Vírveda Chamorro I., Peral Jiménez R., Sanz Grimaldi M<sup>a</sup>J., Ruiz Tejada M<sup>a</sup>A., López Colón JL.*

**SUMMARY: Introduction:** The methylmercury (MeHg) is the most abundant organic compound of mercury in the environment. This is a strong neurotoxic which is able to cross the blood-brain and the placental barriers. Even at low levels, it can originate alterations in the brain that affect the processes of the fetus - children development. The main source of MeHg is the intake of contaminated fish. **Objectives:** The EPA (US Environmental Protection Agency) recommended MeHg levels in hair of 1 µg/g, while the JECFA (FAO / OMS) established safety levels of MeHg in hair of 2,2 µg/g. This study of MeHg in hair was carried out in the Region of Madrid's young population because Spain is a great fish consumer, and due to the fetal and children vulnerability to MeHg. **Material and methods:** 472 children participated, They were categorized by age and by frequency of weekly fish consumption. The age categories were the following: 0-5, 6-10, 11-15 and older than 15, and the frequency of weekly fish consumption was based on an individualized questionnaire with four options (non consumers, consume 1-2 times / week, consume 3-4 t/w, consume more than 4 t/w). The analyses were made by Cold Vapor Atomic Absorption Espectroscopy. **Results:** The study carried out with SPSS shows significant differences in the levels of MeHg in hair, among those that consume more than 4 t/w, and those that do not consume (0,68 vs 2,34 µg/g). The median obtained for the different age categories were: 0,53 µg/g, 1,01 µg/g, 1,56 µg/g and 0,93 µg/g. **Discussion:** Similar studies in countries with low or no consume or fish show that hair mercury levels are below 0.5 µg/g. In contrast, in Spain, because its diet rich in fish, the lowest hair mercury levels are higher than that figure. **Conclusion:** The study concludes that, at least 2,5% of the children population of the Region of Madrid exceed the limits of safety recommended by JECFA (FAO / OMS) and approximately 30% exceed the limits of safety for MeHg in hair establish by US EPA.

KEY WORDS: Mercury, Methylmercury, Hair, Children, Fish.

BRIEF COMMUNICATION

304 **Deep vein thrombosis related to *Campylobacter fetus* bacteriemia**

*Membrillo de Novalés F.J., Priego de Montiano P., Lucena Calvet P., Perea Perea C.*

**SUMMARY:** We present a patient who was admitted with symptoms of disorientation, fever, and diarrheal stools. Examination and laboratory tests showed a deep vein thrombosis in the left leg, and isolation of *C. fetus* in blood cultures taken during a fever peak. The association of *C. fetus* with thromboembolic events has been reported, but we haven't found any cases in our bibliographic search describing this association confirmed by the isolation of the organism in blood cultures, except for a ovarian vein thrombosis.

KEYWORDS: Deep vein thrombosis, *Campylobacter fetus*, Bacteriemia, Pulmonary thromboembolism.

TECHNICAL NOTICE

306 **Positive assessment of drugs: 2<sup>nd</sup> quarter 2011**

*García-Luque A., Puerro Vicente M., Sánchez López P., Cabanes Mariscal MA.*

**SUMMARY:** The drugs assessed by the Spanish Agency for Medicines and Health Products made public in the first quarter of 2011, and considered of interest in hospital healthcare professional, are reviewed. These are positive technical reports prior to the authorization and placing on the market of the product.

REPORTS

310 **Sleep under extreme environments**

*Martínez Ruiz M., Martínez Galdámez M<sup>a</sup>E.*

**SUMMARY:** Human sleep is sensitive to the individual's environment. Heat and nocturnal cold exposures provokes reactions in SWS and REM sleep. Altitude and high pressure are deleterious to sleep, especially in non-acclimatized individuals. Jet lag is a recognized aeronautical sleep disorder that results from crossing time zones too rapidly for the circadian clock to keep pace. In their controlled environment, astronauts can sleep well in microgravity. The present article examines current knowledge of human sleep patterns under different environments: heat exposure, cold exposure, altitude, aviation and microgravity in space.

KEYWORDS: Sleep, Heat exposure, Cold exposure, Altitude, Jet lag, Space microgravity.

317 **Medical identification: genetic fingerprint**

*Marqués Negrodo M<sup>a</sup>L., Sanz Zamarró M<sup>a</sup>L., Villa Rodríguez L., García Tejerina R., Álvarez-Maldonado Paramés T., Rubiano Rubiano JC., Coca Menchero S.*

**SUMMARY:** Until recently the identification of human remains was based on comparing the data available of the missing persons before and after their disappearance or the disaster. Nowadays DNA analysis allows complete and reliable identification. The variability of the genome and the identification of that variability through the study of different polymorphisms (RFLP, SNP, etc) facilitate the differentiation of individuals with a high degree of reliability (99.999 %) and simultaneously follow their lineage. These techniques have been validated and are highly automated. The system «AmpFISTR® Identifier™ PCR Amplification Kit», together with the «ABI Prism® 3130 Genetic Analyzer» of Applied Biosystems, allows the identification of 15 loci and one sex marker (amelogenin). The CODIS system is integrated by 13 STRs among the 15 analyzed by this kit.

KEY WORDS: DNA polymorphisms, STR, AmpFISTR, Genetic fingerprint.

PICTURE PROBLEM

321 **Lumbar pain radiating to the testicles and calcification in abdominal radiography**

*Salinas Vela FT., Fernández Antón R.*

323 **Renal colic and thoracic chance finding**

*Martín García AM<sup>a</sup>, Hernández Navarro JC., Baquero López FR.*

LETTERS TO EDITOR

325 **Melatonin and jet lag, food supplement or active principle of military interest?**

*García-Luque A., Puerro Vicente M.*

## La medicina y cirugía experimental, entre la apocatástasis y la nanotecnología

La Sanidad Militar, no se nos escapa a ninguno, se está preparando para una profunda remodelación. Un nuevo modelo se acerca. Esta es la razón del título de esta editorial. He utilizado deliberadamente estos extraños y llamativos términos con el único objeto de atraer inmediatamente la atención del lector hacia un asunto que nos va a permitir mejorar la formación e instrucción de nuestros cirujanos dentro de ese nuevo modelo que perseguimos. La cirugía del tiempo presente es una disciplina científica capaz de obtener los más asombrosos resultados. Precisamente ha sido el desarrollo tecnológico el que ha permitido avances trascendentales en el campo de la cirugía, al menos desde las últimas décadas del siglo XX. Principalmente la cirugía mínimamente invasiva (laparoscopia) ha logrado disminuir los tiempos de recuperación y las complicaciones postquirúrgicas en muchas intervenciones. La telemedicina o la robótica han dotado también de nuevas herramientas a los cirujanos, permitiendo el desarrollo de intervenciones a distancia, o con un nivel de precisión muy superior al del ojo humano. Por otra parte, la aparición de nuevas técnicas de detección de imagen como las de Ecografía de última generación, Endoscopia, RMN o PET entre otras, ha posibilitado el desarrollo de intervenciones selectivas mucho menos agresivas y más seguras.

De este modo comprobamos que la medicina es uno de los sectores que está siendo profundamente influido por los nuevos materiales desarrollados por la ingeniería y, como consecuencia de ello, por la aparición de dispositivos nanoscalares. La nanotecnología o el diseño de sistemas quirúrgicos automatizados son los avances que transformarán el modo de desarrollar esta disciplina médica a la que podemos denominar como «medicina nanológica».

Pero qué sucede con el otro término de tan extraña, pedante y difícil pronunciación que he utilizado para fijar su atención. La «apocatástasis» es un término filosófico que significa: «Retorno de todas las cosas o de cualquiera de ellas a su primitivo punto de partida» o bien «restituir, reintegrar, devolver a su estado primitivo las cosas». En realidad hace alusión a la recuperación del orden inicial, e incluso, arrojando el ascua a nuestro asunto, se puede hablar de regeneración o «nueva creación». Por todo ello los nuevos cirujanos de las Fuerzas Armadas requerirán también de un nuevo modelo de instrucción y de perfeccionamiento de sus técnicas.

Ahora, más que nunca, los servicios de medicina y cirugía experimental están llamados a recorrer un nuevo camino, una «apocatástasis». Para ello se requiere un cambio de mentalidad de sus responsables y de las personas llamadas a utilizarlos.

Precisamente nuestra estructura sanitaria dispone de un excelente servicio de medicina y cirugía experimental que está siendo remodelado para subvenir a las necesidades de una nueva medicina militar. Se ha mejorado notablemente el servicio de radiología, dotándolo de un sistema de radiología digital, de un nuevo ecógrafo, de un microscopio para cirugía oftalmológica y, recientemente, se le ha incorporado cuatro simuladores para la práctica de la cirugía de mínima invasión. También se han realizado las obras oportunas para incorporar un microscopio electrónico que permitirá a los investigadores completar sus estudios. Aún con ser mucho lo alcanzado

con todas las mejoras introducidas no nos sentimos satisfechos y ya están sentadas las bases para incorporar una nueva columna de quirófano destinada a la cirugía traumatológica, un resonador y también nuevos modelos inanimados para la mejora de las técnicas de microcirugía, aspectos todos ellos que conviene atender con generosidad y prontitud. Para ello es necesario disponer de los modelos biológicos apropiados.

Contar con un bioterio en funcionamiento no es fácil. Supone un esfuerzo añadido en personal cualificado. Nuestro bioterio cubre las necesidades actuales de instrucción e investigación y además está atendido por personal idóneo, y nuestra intención es reforzarlo en los próximos meses.

Como es fácil comprender la utilidad de este servicio estriba en su capacidad de atender la formación, la instrucción y la investigación del personal facultativo. En la medida que lo cumpla este servicio está llamado a participar directamente en la «enseñanza de formación» de los alumnos de nuevo ingreso en el Cuerpo Militar de Sanidad y por extensión también en la «enseñanza de perfeccionamiento» de las diferentes especialidades del Cuerpo Militar de Sanidad.

Sus acciones se concretarán en:

- Instruir a los alumnos de nuevo ingreso, futuros miembros del Cuerpo Militar de Sanidad.
- Formar a los alumnos que cursan especialidades quirúrgicas de medicina, veterinaria, odontología y de enfermería.
- Impartir cursos de formación e instrucción continuada en diferentes áreas de interés, como técnicas básicas de cirugía, venopunciones, microcirugía, introducción y entrenamiento de cirugía de mínima invasión, soporte vital avanzado, cirugía urológica y otras técnicas que ya se están preparando sobre modelos inertes, *in vitro* y biológicos.
- Organizar seminarios y sesiones de cirugía artroscópica virtual.
- Preparar sesiones para estimular la investigación.
- Redactar un manual de procedimientos de experimentación para nuestros sanitarios, y
- Formar parte del comité de ética y bienestar animal para el cumplimiento de la legislación vigente.

Y todo ello sin desdeñar que es el sitio idóneo para la realización de tesinas y tesis doctorales de todas las especialidades fundamentales. Este servicio, con un poco de paciencia y generosidad, está llamado a ser en poco tiempo un espacio de acogida y reunión de los amantes de la Ciencia. Verdaderamente entre la «apocatástasis» como ente regenerador, y la «nanotecnología», como camino de futuro, aparecen los servicios de medicina y cirugía experimental, ¡y nosotros tenemos uno!

**Luis Ángel Moreno Fernández-Caparrós**  
General de Brigada Veterinario  
Académico

## CONCESIÓN DEL PREMIO INTERNACIONAL FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2011

### EXTRACTO DEL ACTA DE LA CONCESIÓN

Reunidos en la sala de juntas de la Inspección General de la Defensa, los integrantes del Jurado del Premio Fidel Pagés Miravé, y en presencia del Excmo Sr General de División Médico Inspector General de Sanidad de la Defensa Don Juan Manuel Montero Vázquez, el Interventor, Comandante Interventor Don Tomás Guillermo De La Piñera Barreras, Interventor Delegado en la Inspección General de Sanidad de la Defensa, procede a la apertura de los dos sobres que han resultado seleccionados, tras previa deliberación del Jurado, como los galardonados con el Premio Fidel Pagés Miravé, y con el accésit del citado premio.

De la apertura de los sobres resulta que el ganador del Premio Fidel Pagés Miravé, ha sido el trabajo titulado «ACCIDENTE O DETONACIÓN NUCLEAR: DESARROLLO GALÉNICO DE UNA NUEVA FORMA FARMACÉUTICA LÍQUIDA, DIRIGIDA A LA POBLACIÓN INFANTIL Y GRUPOS ESPECIALES, NECESARIA PARA PALIAR LOS EFECTOS PROVOCADOS POR RADIACIONES IONIZANTES», cuyo Lema es «La vida no se mide por las veces que respiras, si no por los momentos que te dejan sin aliento».

Los autores del trabajo son:

El Teniente Coronel Farmacéutico Don Antonio Juberías Sánchez. Doña Mercedes Verón Moros, Licenciada en Farmacia, el Teniente Coronel Farmacéutico Don Juan Ignacio Cabrera Merino, el Teniente Coronel Farmacéutico Don Alejandro Zamanillo Sainz y el Coronel Farmacéutico Don Javier Broncano Berenguer.

El accésit ha sido otorgado al trabajo «EFECTO DE LA ADICIÓN DE PLASMA SEMINAL EN EL SEMEN EQUINO DESCONGELADO», presentado bajo el seudónimo de «Higia pécaris, salud populus».

Los autores del trabajo son:

El Teniente Veterinario Don Diego Lozano Benit, Doña Lydia Gil Huerta, Doctora en Veterinaria y la Comandante Veterinario Doña Cristina Álvarez San Martín.

## CONVOCATORIA DEL PREMIO INTERNACIONAL FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2012



### BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO



Núm. 168

Jueves 14 de julio de 2011

Sec. III. Pág. 78608

### III. OTRAS DISPOSICIONES

#### MINISTERIO DE DEFENSA

**12148** Orden DEF/1947/2011, de 30 de junio, por la que se publica la quinta convocatoria del premio «Fidel Pagés Miravé».

De acuerdo con la Orden DEF/1760/2007, de 11 de junio, por la que se crea el premio «Fidel Pagés Miravé», la Inspección General de Sanidad promueve su quinta convocatoria, fijando, a través de esta Orden Ministerial, las bases y requisitos.

Primera. *Denominación.*

Dada la posibilidad de autores no españoles que se contempla en la base segunda, se considera Premio Internacional Fidel Pagés Miravé desde el año 2011.

Segunda. *Concurrentes.*

Podrán optar al premio personas físicas, españolas o extranjeras, a título individual o integradas en grupos de trabajo.

Tercera. *Trabajos.*

Los trabajos, objeto del presente premio, serán inéditos, no considerándose como tales los que constituyan la totalidad o la mayor parte de Tesis Doctorales defendidas en cualquier Universidad, pública o privada y que hayan sido publicadas en cualquier soporte incluido el electrónico. Deberán estar escritos en español o inglés, las páginas irán numeradas y escritas en una sola cara a doble espacio en formato DIN A-4 y fuente Arial tamaño 12, con una extensión máxima de 100 páginas. Serán presentados en papel (por quintuplicado) y en soporte informático. Se incluirá un resumen no superior a una página en español e inglés. El tema será un trabajo original en Ciencias de la Salud, con especial exigencia a la metodología científica de investigación, se valorará su relación o utilidad para la Sanidad Militar; o un trabajo original en Ciencia Histórica de la Sanidad Militar con igual exigencia metodológica y que se base en su mayor parte en fuentes primarias.

Cuarta. *Identificación.*

Los trabajos se presentarán con título y firmados bajo lema o seudónimo, no incluyéndose datos que identifiquen de forma directa o indirecta a sus autores y dentro del mismo envío se incluirá un sobre cerrado, en cuyo exterior figure el Título del trabajo, el Lema o seudónimo y que contenga un documento con los siguientes datos: Título, Lema o seudónimo, Autor o autores (los militares empleo y destino), dirección completa, teléfono, fax o e-mail y autorización para su publicación en la Revista «Sanidad Militar» firmada por el autor o autores del trabajo. Los trabajos se remitirán a la Inspección General de Sanidad de la Defensa, Hospital Central de la Defensa «Gómez Ulla», Glorieta del Ejército s/n, 28047 Madrid, España.

Quinta. *Plazo de presentación.*

Los trabajos podrán presentarse desde el día siguiente a la publicación de esta convocatoria hasta el 30 de abril de 2012. Los trabajos recibidos después de la citada fecha o que no cumplan con las especificaciones establecidas, serán rechazados.

cv: BOE-A-2011-12148



Sexta. *Premio.*

Se establecen los siguientes premios: Premio «Comandante médico Fidel Pagés Miravé», dotado con 6.000 € y un accésit de 3.000 €. En caso de ser premiado un trabajo realizado por varios autores, el premio se entregará al primer firmante.

Séptima. *Jurado.*

El Jurado estará compuesto de acuerdo con lo estipulado en la disposición sexta de la Orden DEF/1760/2007, de 11 de junio (BOE núm. 144, de fecha 16 de junio de 2007). La decisión del jurado será inapelable, se comunicará a los premiados y se hará pública en el Boletín Oficial de la Defensa (BOD), a través de la Revista «Sanidad Militar», y en todos los Centros dependientes de la Inspección General de Sanidad Militar. Ningún trabajo podrá obtener más de un premio. El Jurado podrá considerar desierto cualquier premio.

Octava. *Resolución y publicidad.*

El Premio se otorgará por orden de la Ministra de Defensa, que se publicará en el «Boletín Oficial del Estado», a propuesta del Jurado.

Novena. *Publicación de los trabajos.*

Todos los trabajos se considerarán presentados para su publicación en la revista Sanidad Militar. Los trabajos premiados serán considerados aceptados para su publicación, en su totalidad, o en un resumen que se solicitaría a los autores, en un número ordinario o extraordinario de la Revista de Sanidad Militar o en otro soporte a determinar por la Inspección General de Sanidad y la Subdirección General de Publicaciones del Ministerio de Defensa.

Décima. *Entrega de premios.*

La entrega de premios se realizará en acto público en fecha próxima al 23 de septiembre, día del fallecimiento del Comandante Fidel Pagés Miravé. Anteriormente, durante la celebración de la Festividad de Nuestra Señora del Perpetuo Socorro, Patrona del Cuerpo Militar de Sanidad, se dará a conocer el fallo del Jurado.

Undécima.

La participación supone la aceptación de todas y cada una de estas bases y la renuncia a cualquier reclamación.

Madrid, 30 de junio de 2011.—La Ministra de Defensa, Carme Chacón Piqueras.

## PREMIO FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2011

**Desarrollo de una nueva forma farmacéutica líquida necesaria en una situación de accidente nuclear**Juberías Sánchez A.<sup>1</sup>, Verón Moros M.<sup>2</sup>, Cabrera Merino JI.<sup>1</sup>, Zamanillo Sainz A.<sup>3</sup>, Broncano Berenguer FJ.<sup>4</sup>*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 273-283; ISSN: 1887-8571*

## RESUMEN

**Introducción:** La administración de yodo estable, en forma de yoduro, es empleado como protector frente a los efectos nocivos de la radiación, esta pauta profiláctica también es asumida por la OTAN en su STANAG 2461 NBC/MED. El dificultoso suministro a determinados grupos de población, con dificultades en la deglución, de formas orales sólidas de yodo estable, obliga a disponer de determinados preparados que soslayen los inconvenientes de estas formas farmacéuticas y faciliten la administración de este activo. **Lugar de realización:** Centro Militar de Farmacia de la Defensa. **Objetivo:** Diseñar y evaluar una preparación estable de yoduro potásico en solución, para administración oral, que complete la laguna existente en el arsenal terapéutico español y europeo. Producción y validación del proceso a escala industrial de una solución oral de yoduro potásico. Definición de los parámetros indicativos de la calidad del producto. Evaluación de la estabilidad del preparado. Tratamiento estadístico de los resultados obtenidos. **Material y métodos:** Componentes del producto fabricado. Equipos de proceso y control utilizados en la fabricación farmacéutica industrial de soluciones. Definición de límites aplicados a especificaciones de producto. Estudio de estabilidad según protocolo ICH IQE para zonas climáticas III y IV sobre los lotes industriales fabricados. Paquete estadístico SPSS versión 15. **Resultados:** Los resultados corroboran la calidad y estabilidad de tres lotes industriales sometidos a estudio (Volumen envasado 18-22 ml; densidad: 1,100-1,300 g/ml; pH:5,5-6,5; contenido yoduro: 90%-110%, yodo molecular  $\leq 2\%$ ; aerobios totales a 37°C y 25°C < 100 col/g; ausencia microorganismos patógenos). El nivel de significación obtenido en el análisis de varianza en la uniformidad de volumen, densidad, pH, contenido de yoduro y valoración de Yodo libre es superior a 0,05. Los lotes cumplen valores establecidos para todas las especificaciones durante 2 años. En tercer y cuarto año se observa deterioro del envase y elevación de la concentración de la solución, sin ninguna otra alteración. **Discusión:** La ausencia de significación en la comparación de las medias, en las variables estudiadas en los tres lotes, muestra que el proceso es robusto y repetitivo. Los resultados de estabilidad permiten asignar un periodo de validez de al menos 2 años. El mantenimiento de las especificaciones del producto, salvo la concentración de la solución, a pesar del deterioro observado en el envase, permite asegurar un elevado grado de estabilidad de la fórmula diseñada. **Conclusiones:** Se diseña y fabrica a escala industrial una solución estable de yoduro potásico. Los datos obtenidos, referentes a la calidad del producto fabricado, permiten asegurar la ausencia de variaciones significativas entre los diferentes lotes estudiados, demostrando el adecuado diseño del proceso. Los datos obtenidos permiten asegurar, igualmente, un comportamiento estable de la solución, tanto desde el punto de vista químico como microbiológico, al menos durante dos años.

PALABRAS CLAVE: Accidente nuclear. Yoduro potásico. Solución oral. Grupos de población especiales.

**Development of a new liquid pharmaceutical form needed in a situation of a nuclear accident**

## SUMMARY

**Introduction:** The administration of stable iodine in the form of iodide, is used as a buffer against the harmful effects of radiation, this prophylactic regimen is also assumed by NATO STANAG 2461 in NBC / MED. The difficult delivery to specific population groups with difficulties in swallowing solid oral forms of stable iodine, requires the availability of certain preparations that would circumvent the disadvantages of these formulations and facilitate the management of this asset. **Place:** Center Pharmacy Military Defense. **Objective:** Design and to evaluate a stable preparation of potassium iodide in solution for oral administration to complete the gap in the Spanish and European therapeutic arsenal. Production and validation of industrial-scale process of an oral solution of potassium iodide. Defining the parameters which determine the quality of the product. Evaluation of the stability of the preparation. Statistical treatment of results. **Material and methods:** Components manufactured product. Process and control equipment used in industrial pharmaceutical manufacturing solutions. Definition of limits applied to product specifications. Stability study according to protocol IQE ICH climatic zones III and IV on manufactured industrial lots. SPSS version 15. **Results:** The results corroborate the quality and stability of three industrial lots under study (18-22 ml packed volume, density :1,100-1,300 g / ml, pH :5,5-6, 5; iodide content: 90% -110%, molecular iodine <2% total aerobes at 37 ° C and 25 ° C <100 col / g; no pathogens). The level of significance obtained from analysis of variance in the uniformity of size, density, pH, content of iodine and free iodine value is greater than 0.05. The values set for lots meet all specifications for 2 years. Third and fourth year there is damage to the packaging and elevated concentration of the solution, without any alteration. **Discussion:** The absence of significance in the comparison of the means in the variables studied in the three lots, shows that the process is robust and repetitive. The results of stability allow to assign a validity period of at least 2 years. The upkeep specifications product, despite the deterioration observed in the package, ensures a high degree of stability of the scheme drawn up. **Conclusions:** A stable solution of potassium iodide has been designed and manufactured on an industrial scale. The data obtained concerning the quality of the manufactured product helps to ensure the absence of significant variations between different batches studied, confirming that process design is the proper. The data obtained allow us to ensure, also a stable behavior of the solution, both from the standpoint of chemical and biological.

KEY WORDS: Nuclear accident. Potassium iodide. Oral solution. Special populations.

<sup>1</sup> Tcol. Farmacéutico. Centro Militar de Farmacia de la Defensa. Burgos. España.<sup>2</sup> Lda. en Farmacia. Centro Militar de Farmacia de la Defensa. Madrid. España.<sup>3</sup> Tcol. Farmacéutico. Inspección General de Sanidad de la Defensa. Madrid. España.<sup>4</sup> Col. Farmacéutico. Centro Militar de Farmacia de la Defensa. Madrid. España.**Dirección para correspondencia:** A. Juberías Sánchez. Centro Militar de Farmacia de la Defensa. Paseo de las Fuentes, s/n. 09001 Burgos. ajubsan@oc.mde.es

Recibido: 28 de junio de 2011

Aceptado: 4 de julio de 2011

## INTRODUCCIÓN

El yodo es un oligoelemento esencial para nuestro organismo y está especialmente implicado en la síntesis de hormonas tiroideas. La administración de yodo estable, en forma de yoduro, es empleado como protector frente a los efectos nocivos de la radiación. El mecanismo de acción consiste en provocar una saturación de la citada glándula con el fin de impedir la captación de yodo radioactivo<sup>1</sup>.

La exposición a radiaciones de origen artificial puede estar originada por accidentes nucleares voluntarios, como en caso de guerras nucleares, incidentes terroristas; o involuntarios, como en el caso de fugas radioactivas de centrales nucleares, buques de propulsión nuclear, etc.

Para la medida de la dosis absorbida por algunos órganos, en concreto el tiroides, se utiliza el gray (Gy) y sus fracciones. Todas estas unidades del Sistema Internacional han sido aceptadas por los países pertenecientes a la OTAN para unificar criterios<sup>2</sup>.

Los límites de dosis actualmente vigentes en España se recogen en el *Reglamento de Protección Sanitaria contra Radiaciones Ionizantes*<sup>3</sup>. En él se establecen límites anuales para el público y para trabajadores que puedan estar expuestos profesionalmente.

Son numerosos los antecedentes que manifiestan el uso de yoduro potásico como agente protector frente a las radiaciones. La FDA (Food and Drug Administration) estadounidense en el Registro Federal de 15 de diciembre de 1978<sup>4</sup>, anunció como conclusión, el uso de yoduro potásico como medio seguro y efectivo para el bloqueo de la glándula tiroidea tras exposición a yodo radioactivo, bajo ciertas condiciones específicas de uso. En el Registro Federal de 29 de junio de 1982, la FDA anunció finalmente la recomendación de administrar a la población yoduro potásico en caso de emergencia por radiación, cuando la radiación sea superior a 250 mSv<sup>5</sup>.

La NRC (Nuclear Regulatory Commission), organismo asimismo estadounidense, en 1997<sup>6</sup> consideró como norma el uso de yoduro potásico dentro de los planes de emergencia. La ATA (American Thyroid Association) en 1997 y través de su comité consultivo (Public Health Committee) recomendó sólidamente el uso de yoduro potásico como profilaxis frente a accidentes nucleares. La WHO (World Health Organization) en 1999<sup>7</sup> a través de una *guidelines* recomendó el uso de yoduro potásico tras un accidente nuclear.

Después de la cuidadosa revisión de los datos relativos al accidente de la planta nuclear de Chernobyl, nuevamente la FDA, en 2001<sup>8</sup> publica su última *Guidance*, referente a las recomendaciones para la administración de yoduro potásico, como agente bloqueante del tiroides, basada en la edad y exposición con el fin de obtener una óptima profilaxis.

Esta pauta profiláctica también es asumida por la OTAN en su STANAG 2461 NBC/MED<sup>9</sup>, y es la profilaxis que se está llevando a cabo en la actualidad en Japón, como consecuencia del terremoto que ha provocado una situación de emergencia nuclear en la central de Fukushima.

El inadecuado suministro de esta especie química, ya sea debido a inestabilidad de la sustancia activa o a un incumplimiento de la pauta posológica profiláctica, puede originar un fracaso de las medidas tendentes a reducir la nociva influencia de la radiación nuclear. En este sentido, el Comité Científico de las Naciones Unidas para los efectos de la radiación Atómica (UNSCEAR), en su informe de 6 de junio de 2.000, descubre que los efectos relacionados directamente con las radiaciones, en la población general afectada por el

accidente de Chernobyl, han consistido en un incremento agudo de los cánceres de tiroides en niños, no evidenciándose ningún otro impacto en la población, atribuible a la exposición, catorce años después del accidente. Algunas publicaciones<sup>10</sup> establecen que el riesgo es máximo en niños, adolescentes y mujeres embarazadas.

Desde el punto de vista militar, la doctrina OTAN establece una adecuada gestión del riesgo producido por un incidente NBQR (nuclear, biológico, químico y radiológico)<sup>11-13</sup> que incluye contramedidas médicas así como preparaciones farmacéuticas. La capacidad preventiva en un ambiente NBQR determinando, incluye aplicación de medidas profilácticas y curativas<sup>14</sup>, entre las que cabe considerar el bloqueo tiroideo de las fuerzas expuestas a posibles radiaciones.

En el ámbito cívico-militar los países aliados aprobaron en Praga una serie de medidas destinadas a potenciar sus planes de defensa, frente a un posible ataque con armas nucleares, biológicas, químicas o radiológicas; entre ellas se consideran una mejora de los equipos de protección de las fuerzas y el apoyo a las autoridades civiles en caso de emergencia<sup>15</sup>.

La efectividad del Yoduro potásico está relacionada con el periodo de tiempo transcurrido desde la exposición<sup>1</sup>. La capacidad protectora se cifra en un 97% si el suministro se efectúa de manera simultánea a la exposición, en un 90 a un 70% si se hace 24 horas antes de la exposición y en un 85 al 50% si se lleva a cabo entre 1 y 3 horas posteriores a la exposición; mientras que, la eficacia del bloqueo del tiroides será prácticamente nula transcurridas 24 horas. Resultará, por tanto, de vital importancia, procurar un suministro rápido, seguro, cómodo y bajo una forma farmacéutica estable de las dosis de yoduro potásico requeridas por la población.

Para conseguir el bloqueo tiroideo, se suministra yoduro potásico en comprimidos o cápsulas de gelatina dura. En determinados grupos de población, con dificultades en la deglución, el uso de estas formas farmacéuticas dificultará tanto su administración, como el mantenimiento de la pauta posológica establecida para ellos, por lo que en ocasiones será necesario llevar a cabo determinado tipo de manipulaciones<sup>16</sup> que pueden ser fuente de errores.

En relación con lo indicado, el CDER (Center for Drug Evaluation and Research) de la FDA<sup>8</sup>, reconoce que en situaciones de emergencia, las especificaciones de dosificación para determinados estratos poblacionales puede ser complicado; debido a ello, las recomendaciones referidas a las dosis proporcionadas deberían ser interpretadas con flexibilidad; no obstante, se enfatiza que los beneficios proporcionados por el suministro de yoduro potásico, como bloqueante tiroideo, superan los posibles riesgos derivados de la sobredosificación, especialmente en niños.

En este mismo sentido, el citado informe de UNCSER, de junio de 2000, alude a la inferior protección de la población infantil frente a radiaciones originadas por el accidente nuclear; esta menor protección tiene su origen en una ausencia de formas farmacéuticas adecuadas para el suministro del ión yoduro, con las debidas garantías de eficacia, seguridad y calidad, que debe proporcionar un medicamento; tal y como se refleja en el sumario del National Center for Disasters Preparedness (Columbia University) 2003<sup>17</sup>, según el cual debería facilitarse el desarrollo de formas pediátricas para administración de yoduro potásico. También el Proyecto Bioshield (US Department of Health and Human Services), aprobado en 2004, con la intención de acelerar la investigación, desarrollo, adquisición y disponibilidad de las denominadas *contramedidas médicas* frente a los efectos adversos de agentes NBQR, utilizados en bioterrorismo,

contempla la necesidad de disponer de solución de yoduro potásico, en cuanto puede ser más fácilmente suministrada a niños en lugar de comprimidos<sup>18,19</sup>. Esta deficiencia es satisfecha en el mercado estadounidense con la aprobación por la FDA, del medicamento *Thyroshield* solución (Fleming & Company, Pharmaceuticals).

Esta situación, es también puesta de manifiesto en nuestro país; concretamente, la Unidad de Protección Civil, de la Subdelegación del Gobierno de Burgos, en el ámbito del Plan de Emergencia Nuclear de la Provincia de Burgos (PENBU), solicita al Centro de Farmacia del Ejército del Aire (Burgos), en octubre de 2001, la posibilidad contemplar una formulación y presentación farmacéutica de yoduro potásico para niños muy pequeños; esta petición se basa en el mencionado informe del UNSCEAR. A raíz de la misma se inician estudios tendentes a dotar al arsenal de medicamentos NBQR del petitorio de Farmacia Militar con un medicamento que satisfaga ese requerimiento. Hasta la fecha no se dispone en el arsenal terapéutico español ni europeo de una preparación estable de yoduro potásico en solución diseñada para la administración a todos los sectores de la población.

El inconveniente de preparar soluciones extemporáneas de yoduro potásico<sup>16</sup> radica en su elaboración doméstica, en la que no se tiene en cuenta la estabilidad del yoduro potásico disuelto en estos líquidos, pues su única finalidad es disolver y enmascarar el sabor del yoduro potásico, sin certeza de la dosis suministrada, además una vez preparada debe mantenerse en refrigeración por un corto periodo de tiempo, al no disponer de estudios que avalen la estabilidad de la solución obtenida. Además, se ha comprobado la dificultad de mantener la pauta terapéutica, cuando es necesaria la manipulación del medicamento de manera previa al suministro, observándose un incremento el error en la misma<sup>20</sup>.

Para la elección de la nueva forma farmacéutica se estudian las diferentes alternativas, que se disponen al uso de formas orales y sólidas, que son las que a continuación se indican:

- Soluciones para uso oral
- Soluciones para uso parenteral
- Supositorios

Las soluciones para uso parenteral son descartadas, ya que no permiten una autoadministración de forma masiva en la población.

El uso de supositorios, si bien evita problemas derivados del mal sabor u olor de los medicamentos, la absorción de numerosos principios activos es errática, ya que se produce a través de las venas hemorroidales<sup>21</sup>, lo que desaconseja su utilización al impedir un mantenimiento adecuado de los niveles plasmáticos<sup>22</sup>.

Las soluciones para administración oral son las que presentan más ventajas para el objeto de este estudio entre otras presentan las siguientes:

- Buena aceptación por facilidad de ingestión (pediatría, geriatría, etc). Fácil utilización y deglución.
- Mayor biodisponibilidad que las formas sólidas. Mejor absorción. Actúa más rápidamente.
- Concentración determinada (% p/v) y fácil dosificación. Además, se consideran las mejores formas de dosificación en casos de pacientes dependientes de un tercero que suministre la dosis<sup>20</sup>.

Por contra, presentan los siguientes inconvenientes:

- Una estabilidad comprometida y riesgo de contaminación alto, por lo que es necesario el uso de conservantes
- Difícil enmascarar malos caracteres organolépticos

- Las formulaciones son complejas, con la utilización de un gran número de sustancias coadyuvantes (solubilizantes, conservantes, estabilizantes, cosolventes, edulcorantes, aromatizantes, reguladores pH, viscosidad etc.)
- No se puede administrar a pacientes inconscientes
- Acondicionamiento caro, frágil y de gran volumen
- Presentan un mal comportamiento en condiciones ambientales extremas (Congelación, evaporación, ajuste cierre envase)<sup>23</sup>.

Los inconvenientes descritos, deberán solventarse con un adecuado diseño de la formulación, del envase y los correspondientes estudios que demuestren la validez de la preparación en el tiempo.

### OBJETIVO

Desarrollo y estudio de un nuevo medicamento de Yoduro Potásico bajo forma farmacéutica de solución para administración oral en envases de 20 ml conteniendo 65 mg/ml, con gotero para administración de las dosis adecuadas, desde 0,25 ml a 1 ml, necesaria para un grupo de población, que por sus características especiales no son capaces de deglutir correctamente un sólido oral (comprimido o cápsula de gelatina dura).

Proponer una fórmula partiendo de la información obtenida en la preformulación del activo, y realizar un estudio de los excipientes más adecuados conservantes, antioxidantes, enmascaradores del sabor, reguladores de pH, etc.

Aplicar un estudio de estabilidad que demuestre la validez de la fórmula seleccionada a lo largo del tiempo de caducidad propuesto. Así mismo, se deberá comprobar la idoneidad del envase elegido, mediante estudios de fotoestabilidad con exposición controlada a radiación luminosa visible, al tratarse el ión yoduro de una especie fotosensible.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Diseño de la solución

La solubilidad en agua de la molécula de yoduro potásico es elevada (1g/0,7ml)<sup>24</sup>. En relación con su estabilidad, el ión yoduro puede degradarse a yodo molecular o ión yodato, estas especies químicas carecen de efecto protector sobre la glándula tiroidea; esta degradación se produce por exposición al aire o a la luz. La presencia de yodo origina un color amarillento y pardeamiento del yoduro potásico. Esta alteración obliga a su almacenamiento en contenedores bien cerrados y protegidos de la luz<sup>25</sup>. Un medio ligeramente alcalino y/o la adición de compuestos reductores retrasan esta degradación<sup>26</sup>.

Respecto a sus propiedades organolépticas, cabe considerar el sabor, demasiado salado para beber<sup>16</sup>, de la solución de yoduro potásico, por lo que puede ser rechazada por el consumidor, sobre todo si es de corta edad; justificándose, por tanto la utilización de agentes saborizantes enmascarantes.

En las preparaciones líquidas para uso oral el vehículo empleado se elige teniendo en cuenta la naturaleza del principio activo. Partiendo de la información obtenida en la preformulación del activo, se realiza un estudio de los excipientes más adecuados, conservantes, antioxidantes, enmascaradores del sabor, reguladores del pH, etc. Se propone la fórmula recogida en la Tabla 1, en orden a

**Tabla 1.** Propuesta de formulación.

Componentes	1 Envase (g)	LOTE (g) 100ml	% (P/P)
Yoduro potásico	1,300	6,500	5,3626
Sorbitol	14,000	70,000	57,7505
Sacarina	0,008	0,040	0,0330
Citrato potásico	0,500	2,500	2,0625
Acido cítrico	0,020	0,100	0,0825
Colorante naranja	0,0002	0,001	0,0008
Esencia melocotón	0,004	0,020	0,0165
Metabisulfito potásico	0,010	0,050	0,0413
Agua	8,400	42,000	34,6503
<b>TOTAL</b>	<b>24,2422</b>	<b>121,211</b>	<b>100</b>

las características de sus componentes, descritas a continuación. El diseño busca conseguir una sencilla fabricación, ya que todos sus componentes son solubles en agua, unas características organolépticas agradables debido a la población a la que va destinada, y con un número mínimo de excipientes, ya que en situación de emergencia su adquisición podría complicar el éxito de una rápida fabricación. El acondicionamiento se lleva a cabo en envases multidosis de plástico color topacio, polipropileno rígido, con tapón provisto de una cánula dosificadora por gotero, cuyo dispositivo es apropiado para medir el volumen de dosificación prescrito.

#### Materias primas y materiales de acondicionamiento empleados en la fórmula patrón propuesta

– **Yoduro potásico** cristalizado con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española<sup>27</sup>. Es el principio activo cuyas características principales es su alta solubilidad en agua y su facilidad para la oxidación.

– **Sorbitol** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española<sup>27</sup>. Actúa como un vehículo adecuado para la sustancia activa inhibiendo la cristalización, proporcionando una acción edulcorante apta para diabéticos, enmascarando además el sabor metálico de la sacarina, y aumentando la palatabilidad.

– **Sacarina** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española<sup>27</sup>. Actúa como edulcorante, el sabor dulce es la primera sensación que ofrece a las papilas gustativas.

– **Ácido cítrico** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española<sup>27</sup>. Actúa como regulador del pH para conferir una mejor estabilidad química manteniendo la forma iónica y evitando la oxidación. También ayuda a enmascarar el sabor debido a la acción sinérgica con los aromatizantes frutales. Y por último coadyuvante en la conservación, incrementando la efectividad del conservante antimicrobiano.

– **Citrato potásico** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española<sup>27</sup>. Actúa como pareja Buffer reguladora del pH junto con el ácido cítrico para poder mantener el pH adecuado a lo largo del tiempo.

– **Colorante naranja** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por Real Decreto 1465/2009 de 18 de septiembre<sup>28</sup>. Se establece su uso para obtener un medicamento con color consistente uniforme y estable de apariencia

agradable, que de confianza al paciente al que va destinado, con el objetivo de ayudar a seguir el tratamiento. Y acorde con los correctores del sabor.

– **Esencia de melocotón** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por el Real Decreto 1477/1990 de 2 de noviembre<sup>29</sup>. Es un aromatizante utilizado para la corrección del sabor. La preferencia en niños suelen ser preparaciones dulces con sabor a fruta, por lo que se seleccionó dicha esencia.

– **Metabisulfito potásico** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española<sup>27</sup>. Es el conservante de elección en esta formulación, limita, retarda y previene la proliferación de microorganismos. Es utilizado como antioxidante y antiséptico, su uso está altamente avalado a lo largo de la historia y ha sido muy utilizado en jugos de fruta y vinos. Otros conservantes que se estudiaron para introducirlos en esta formulación fueron los Benzoatos y los Parabenos, cuyo uso está muy extendido, pero se descartaron por los siguientes motivos: El benzoato sódico está presente en la mayoría de las bebidas gaseosas y refrescos pero hay numerosos estudios que avalan la existencia de una posible toxicidad, sobre todo en niños<sup>30</sup>. Parabenos son de menor toxicidad, pero proporcionan, incluso a bajas dosis, cierto olor y sabor fenólico.

– **Agua purificada** con criterios de pureza y calidad de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española<sup>27</sup>. Es el vehículo disolvente de la sustancia activa y de los excipientes sólidos.

– **Acondicionamiento primario** Se escoge un envase de polipropileno rígido color topacio con tapón provisto de una cánula dosificadora por gotero, de 20 ml.

– **Acondicionamiento secundario** Se utiliza un estuche de cartoncillo, incluyendo un prospecto.

#### Materiales y equipos utilizados

##### Materiales

- Yoduro potásico patrón lote F-67029
- Agua desionizada
- Estándares de pH (4,7,14)
- Yodato potásico 0,05M
- Ácido clorhídrico al 37%
- Tiosulfato sódico 0,01N
- Biobolas tituladas de patógenos (*E.coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* y *S. aureus*)
- Medio Agar B y C en placa
- Cloruro sódico estéril

##### Equipos para el control analíticos

- Probeta de 50 ml.
- Densímetro ANTON PAAR
- Peachímetro digital Crison.
- Potenciómetro Crison Compact Titrator, con electrodo REDOX
- Vaso de plástico de 100ml
- Balanza Mettler Toledo A260
- Cabina de seguridad microbiológica y biotecnológica BIO-II-A
- Estufas de cultivo Selecta INCUDIGIT 80L

# Desarrollo de una nueva forma farmacéutica líquida necesaria en una situación de accidente nuclear

## Equipos para la fabricación de los lotes

- EQUIPO ELIX Millipore, para la producción de agua purificada
- Cabina de pesaje y Equipo de pesaje industrial, Mettler
- Depósitos con agitación y calentamiento de 100 L, E.Bachiller
- Sistema de filtración clarificante, Millipore
- Bomba de transvase, Sertec
- Llenadora de líquidos J. Esquerda
- Loteadora Image 9020

## Equipos para los ensayos de estabilidad

- Cámara climática Mod: Binder KBF 115 con humedad y temperatura controlada (20° a 70°C) / (0 a 100% HR)
- Cámara climática Modo: Binder KBF 240 con humedad y temperatura controlada (20° a 70°C) / (0 a 100% HR) y sistema de iluminación ICH con una fuente de iluminación en fluorescencia blanca-fría y U.V. próximo, (5 lámparas en cada puerta) con una potencia de 4000 lux (1,7 UVA W/qm)
- Equipos descritos en el punto 2.2

## Métodos para el control de la fórmula propuesta

De acuerdo al contenido de la International Conference on Harmonization ICH Q6A «Especificaciones para nuevos principios activos y nuevos medicamentos: sustancias químicas», se proponen las siguientes especificaciones, para evaluar la calidad del preparado.

### Características organolépticas

Procedimiento: Observar que la solución de yoduro tenga un color amarillo anaranjado, olor característico a yodo y un aspecto homogéneo sin turbidez, ni precipitados.

Criterios de aceptación: Cumplen con las especificaciones que se establecen.

### Uniformidad de volumen

Procedimiento: Se vierte el contenido de cada envase en una probeta de 50 ml, anotando el volumen. Se realiza con 10 unidades y se obtiene la media.

Criterios de aceptación: Sobre 10 unidades de cada lote, no se admitirá en ninguna de ellas, una desviación superior a un  $\pm 10\%$  sobre el volumen teórico de 20ml (18ml - 22ml).

### Densidad

Procedimiento: Se introduce la muestra problema observando que no contiene burbujas, anotamos la medición arrojada por el equipo, una vez que se haya estabilizado. Criterios de aceptación: A una temperatura entre 20°-22°, la densidad deberá estar comprendida entre 1,100 g/ml -1,300 g/ml.

### pH

Procedimiento: Se estabiliza el peachímetro aproximadamente 20 minutos. Se realiza una calibración inicial para posteriormente realizar la medida de pH de la muestra. Criterios de aceptación: El pH deberá estar comprendido entre 5,5 y 6,5.

## Valoración

Procedimiento: Se realiza la valoración del contenido de ión yoduro en solución por potenciometría. Se toman 5 ml de la solución a analizar de yoduro potásico a los que se añaden 40 ml de ácido clorhídrico al 37%, y se agita. El potenciómetro está provisto de un electrodo redox, y yodato potásico 0,05M como solución tituladora. Se detecta el salto del potencial obteniendo los mililitros consumidos, que están directamente relacionados con el equivalente molar de la sustancia activa a examinar. (1ml solución tituladora corresponde con 16,60 mg IK). Criterios de aceptación: El contenido de Yoduro potásico debe estar comprendido entre el 90 % y el 110 % de la cantidad etiquetada.

### Cantidad de yodo molecular

Procedimiento: Se realiza la valoración del contenido Yodo libre en la solución mediante potenciometría. Se toman 40 ml de la solución a analizar de yoduro potásico a los que se añaden 10 ml de agua, y se agita. El potenciómetro está provisto de un electrodo redox, y tiosulfato sódico 0,01N como solución tituladora. Se detecta el salto del potencial obteniendo los mililitros consumidos, que están directamente relacionados con el equivalente molar de la sustancia activa a examinar. (1ml solución tituladora corresponde con 1,269 mg I<sub>2</sub>). Criterios de aceptación: El contenido de Yodo molecular deberá ser inferior al 2%.

### Control microbiológico

Procedimiento: El control microbiológico se realizará según Real Farmacopea Española 3ª Edición<sup>27</sup>. Criterios de aceptación:

- Recuento de microorganismos a 30° -35° : < 100 u.f.c/g
- Recuento de microorganismos a 20° -25° : < 100 u.f.c/g
- Ausencia de Patógenos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans* y *Staphylococcus aureus*).

### Eficacia del conservante

Procedimiento: Se realiza según establece la Real Farmacopea Española 3ª Edición<sup>27</sup>. Criterios de aceptación: Se considera eficaz si a los 14 días se produce una reducción logarítmica del número de microorganismos viables, inicialmente sembrados, de valor 3 y a los 28 días no existe incremento de microorganismos. Para hongos la reducción logarítmica aceptada tiene valor 1 a los 14 días y no incremento a los 28 días, en relación a los valores correspondientes del inóculo sembrado.

### Escalado industrial y fabricación de tres lotes piloto

El proceso industrial propuesto, se ha diseñado con la información proporcionada por los estudios de desarrollo galénico realizados. Los lotes industriales fabricados proporcionan los datos necesarios para validar el proceso y son los que se someten a estudios de estabilidad. Se conforma el lote con un tamaño teórico de 3.300 unidades (envases de 20 ml).

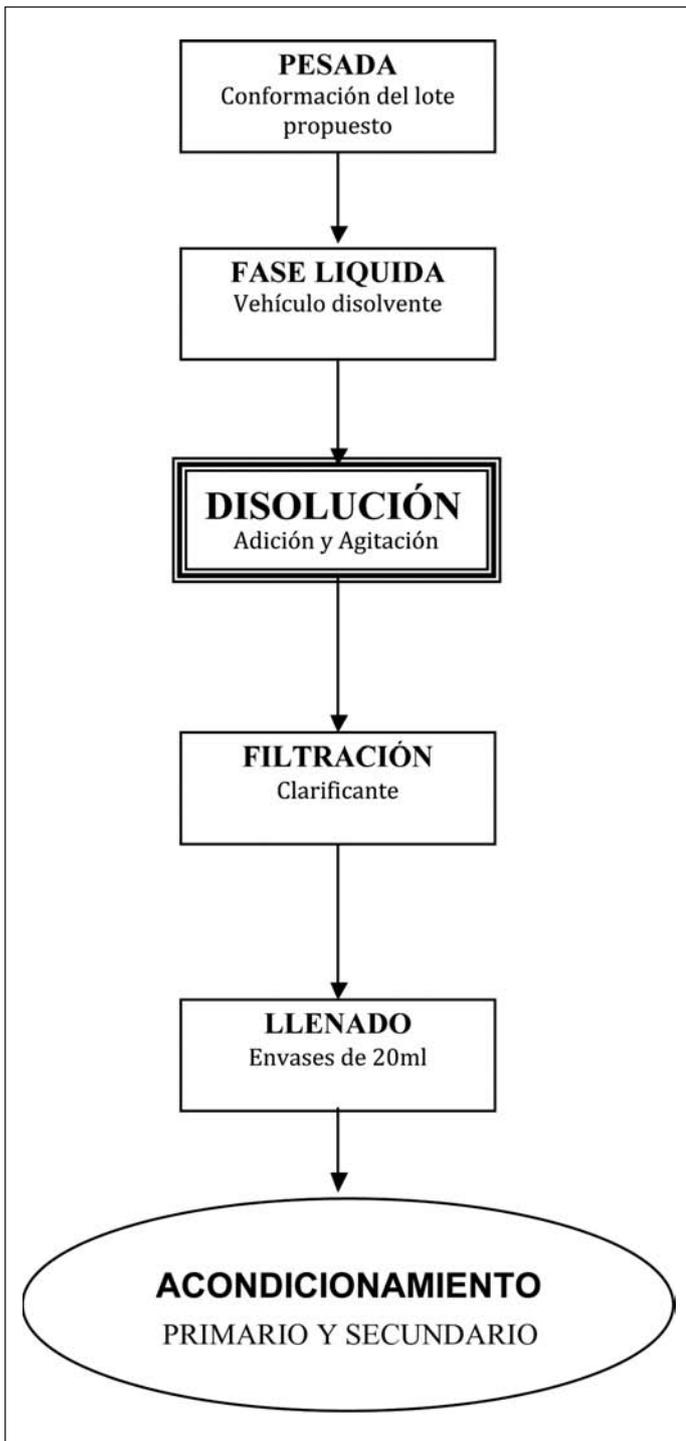


Figura 1. Fases del proceso de producción.

### Proceso de producción

Se establecen las siguientes fases del proceso de producción, con el siguiente diagrama de flujo (Figura 1):

- Elaboración del lote propuesto: Pesada y conformación
- Añadir al depósito fusor nº1 los vehículos disolventes, sorbitol y agua. Agitar 3 minutos y atemperar

- Añadir todo el yoduro potásico y agitar hasta disolución (aprox 5 minutos)
- Añadir todo el metabisulfito sódico, agitar hasta disolución (aprox 5 minutos)
- Añadir todo el citrato potásico, agitar hasta disolución (aprox 3 minutos)
- Añadir todo el ácido cítrico, agitar hasta disolución (aprox 5 minutos)
- Añadir toda la sacarina, la esencia y el colorante disuelto, agitar hasta disolución (aprox 5 minutos)
- Comprobar el pH de la solución obtenida
- Trasvase por filtración clarificante, al depósito fusor nº2
- Envasado primario de la solución clarificada, en envases de polipropileno rígido color topacio con tapón provisto de una cánula dosificadora por gotero, de 20 ml
- Envasado secundario en estuche de cartón más prospecto

Se consideran las siguientes variables críticas en el diseño del proceso de fabricación:

1. Orden de adición y parámetros de agitación: El orden de adición es crítico en el proceso ya que sólo se consigue un pH estable con este orden. La velocidad de agitación debe ser constante, estando prefijada en el reactor.
2. Control de la temperatura: El proceso no requiere una alta temperatura ya que todos sus componentes tienen una buena solubilidad en agua a temperatura ambiente, no obstante se recomienda controlar la temperatura entre 23-25°C.
3. Control del pH: debe estar comprendido entre 5,5 y 6,5 una vez añadidos todos los componentes y tras 5 minutos de agitación.
4. Filtración clarificante: La solución se hace pasar por un filtro clarificante recogiendo en la tolva de la llenadora para, posteriormente, pasar al acondicionamiento primario.
5. Parámetros de llenado y acondicionamiento: Se efectúa ajuste del equipo llenador para proporcionar la uniformidad de volumen establecido en especificaciones, y el marcado de lote y fecha de caducidad en el envase primario; en estuchado el estuche se marca con lote y fecha de caducidad y contiene prospecto en su interior.

### Estudios de estabilidad: acelerada, a tiempo real y fotoestabilidad

Se utiliza el protocolo experimental establecido en la Normativa de la International Conference on Harmonization (ICH) «Evaluation of stability data» ICH 1QE, Febrero de 2003. International Conference on Harmonization (ICH) «Stability data package for registration in climatic zones III y IV» ICH Q1F, Febrero 2003. Committee for proprietary medicinal products. «Stability testing of existing active substances and related finished products» CPMP/QWP/556/96 y su revisión CPMP/QWP/122/02, y la normativa internacional de Fotoestabilidad de nuevos medicamentos (CPMP/ICH/279/95). Se establecen las oportunas correlaciones entre los resultados obtenidos en los estudios de estabilidad a tiempo real y estabilidad acelerada.

El objetivo de los estudios de estabilidad consiste en obtener información que nos permita definir el periodo de validez del medicamento, así como las condiciones de conservación, determinando

# Desarrollo de una nueva forma farmacéutica líquida necesaria en una situación de accidente nuclear

cómo varía la calidad del medicamento, bajo la influencia de una serie de factores medioambientales, a lo largo del tiempo. Se entiende por calidad de un medicamento, las propiedades organolépticas, propiedades físico-químicas, la cantidad de sustancia activa, y pureza (limitación o ausencia de productos de descomposición de las sustancias activas, etc.). Estando establecida la fotolabilidad del ión yoduro, se efectúa una evaluación de la eficacia protectora del envase primario a la radiación luminosa<sup>31</sup>.

## Lotes estudiados

Los estudios de estabilidad se realizan sobre tres lotes de producto Yoduro Potásico solución, fabricados a escala industrial, en las instalaciones Centro Militar de Farmacia de la Defensa.

- Lote A-02 (3.329 frascos de 20 ml.): fabricado el 27 de Febrero de 2007
- Lote A-03 (3.327 frascos de 20 ml.): fabricado el 1 de Marzo de 2007
- Lote A-04 (3.298 frascos de 20 ml.): fabricado el 5 de Marzo de 2007

## Condiciones de conservación

### Estudio de estabilidad a tiempo real

Se han introducido unidades suficientes para la realización de los análisis, de los lotes A-02 A-03 y A-04, los cuales se almacenaron en la cámara climática Mod: Binder KBF 115 N° de Serie: 01-23637, con regulación de temperatura y humedad a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $60\% \pm 5\%$  HR, según el procedimiento usado para medicamentos como casuística general. Debido a que el ión yoduro es una especie química sensible a la luz se conecta la lámpara de emisión de radiación luminosa de la cámara durante el desarrollo del estudio, con el fin de evaluar la eficacia protectora del envase. La duración que se propone para el estudio es de 4 años. El estudio comienza en Marzo de 2007.

### Estudio de estabilidad acelerada

Igualmente se introdujeron unidades suficientes, de los lotes A-02, A-03 y A-04, que se almacenaron en la cámara climática Mod: Binder KBF 115 N° de Serie: 01-24117, con regulación de temperatura y humedad a  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70\% \pm 5\%$  HR, según el procedimiento usado para medicamentos en estudios acelerados. La duración que se propone para el estudio es de 6 meses. El estudio comienza en Marzo de 2007.

### Toma de muestra y duración del estudio

a) Estudio de estabilidad acelerada: El muestreo de los lotes y los análisis correspondientes se realizan, inicialmente (To), a los 3 meses y a los 6 meses

b) Estudio de estabilidad a tiempo real: El muestreo de los lotes y los análisis correspondientes se realizan, inicialmente a tiempo inicial (To), y a 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 y 48 meses.

### Parámetros a estudiar y especificaciones

Los métodos de control analítico, los parámetros a estudiar y las especificaciones de calidad que se requieren a estos ensayos son los correspondientes a características organolépticas (color, olor, aspecto), uniformidad de volumen, pH, densidad, contenido en yoduro potásico, contenido en yodo, y recuento de microorganismos.

### Tratamiento estadístico

Para el tratamiento de los datos o resultados obtenidos se utiliza el paquete estadístico «Statistical Package for the Social Sciences» (SPSS) versión 15. Se realiza el análisis la varianza con el procedimiento Oneway de dicho programa, comprobándose además de la asunción de normalidad, la homogeneidad de las varianzas con la

**Tabla 2.** Calidad lotes validación de proceso.

Lote	Ensayo		Uniformidad de volumen	Densidad	pH	Valoración
A-02	Media		20.17	1.230	5.992	99.50
	IC (95%) de la media	Límite inferior	19.80	1.229	5.981	99.21
		Límite superior	20.53	1.231	6.003	99.79
		Mediana	20.00	1.230	5.985	99.50
	Varianza	0.333	0.000	0.000	0.208	
	Desviación estándar	0.577	0.000	0.017	0.456	
A-03	Media		20.08	1.230	5.997	99.71
	IC (95%) de la media	Límite inferior	19.76	1.229	5.989	99.55
		Límite superior	20.41	1.230	6.005	99.88
		Mediana	20.00	1.230	6.000	99.70
	Varianza	0.265	0.000	0.000	0.067	
	Desviación estándar	0.515	0.000	0.012	0.258	
A-04	Media		19.83	1.230	6.005	99.78
	IC (95%) de la media	Límite inferior	19.59	1.229	5.993	99.58
		Límite superior	20.08	1.231	6.016	99.98
		Mediana	20.00	1.230	6.000	99.80
	Varianza	0.152	0.000	0.000	0.096	
	Desviación estándar	0.389	0.001	0.018	0.309	

**Tabla 3.** Eficacia del conservante.

	Reducción logarítmica			
	14 días		28 días	
	Especificación	Resultado	Especificación	Resultado
Bacterias	3	Cumple	No Incrementa	Cumple
Hongos	1	Cumple	No incrementa	Cumple

**Tabla 4.** Resultados de lotes industriales fabricados

Lote y Ensayo	Especificaciones	Resultado
<b>LOTE A-02</b> (3.329 Unidades)		
Características organolépticas	Color : Amarillo Olor: Yodo Aspecto: No turbio	Cumple
Uniformidad de Volumen	18-22 ml	20 ml
pH	5,5-6,5	5,97
Densidad	1,100-1,300 g/ml	1,230 g/ml
Contenido en Yoduro Potásico	90-110%	99,25 %
Recuentos de Microorganismos		
- Aerobios viables totales	Aerobios totales a 37°C < 100 ufc/g	< 100
	Aerobios totales a 25°C < 100 ufc/g	< 100
- Microorganismos Patógenos	Ausencia de patógenos	Ausencia
<b>LOTE A-03</b> (3.327 Unidades)		
Características organolépticas	Color : Amarillo Olor: Yodo Aspecto: No turbio	Cumple
Uniformidad de Volumen	18-22 ml	20 ml
pH	5,5-6,5	6,00
Densidad	1,100-1,300 g/ml	1,230 g/ml
Contenido en Yoduro Potásico	90-110%	99,66 %
Recuentos de microorganismos		
- Aerobios viables totales	Aerobios totales a 37°C < 100 ufc/g	< 100
	Aerobios totales a 25°C < 100 ufc/g	< 100
- Microorganismos Patógenos	Ausencia de patógenos	Ausencia
<b>LOTE A-04</b> (3.298 Unidades)		
Características organolépticas	Color : Amarillo Olor: Yodo Aspecto No turbio	Cumple
Uniformidad de Volumen	18-22 ml	20 ml
pH	5,5-6,5	6,00
Densidad	1,100-1,300 g/ml	1,230 g/ml
Contenido en Yoduro Potásico	90-110%	99,92 %
Recuentos de microorganismos		
- Aerobios viables totales	Aerobios totales a 37°C < 100 ufc/g	< 100
	Aerobios totales a 25°C < 100 ufc/g	< 100
- Microorganismos Patógenos	Ausencia de patógenos	Ausencia

prueba de Levene de los lotes a comparar. Se realiza la prueba Fisher con al corrección de Bonferroni, con riesgo global  $\alpha$  igual a 0,05.

**RESULTADOS**

La tabla 2 muestra los estadísticos descriptivos para los ensayos de uniformidad de volumen, densidad, pH y valoración del yodo libre, referidos a los tres lotes industriales elaborados, que son sometidos a estudio.

Los resultados del ensayo para la eficacia del conservante se recogen en la tabla 3.

La tabla 4 muestra un resumen de la calidad de los lotes fabricados a escala industrial y que serán sometidos al correspondiente estudio de estabilidad; los tres lotes satisfacen inicialmente las especificaciones establecidas, por lo que cualquier alteración aparecida será ocasionada por el desarrollo del estudio.

El nivel de significación del estadístico F de Snedecor obtenido en el análisis de varianza en la uniformidad de volumen, densidad, pH y valoración del contenido de Yodo libre es en todos ellos superior a 0,05. La comparación múltiple de las medias entre los tres lotes con la prueba de Bonferroni en las cuatro variables demuestra que no existe diferencia significativa ( $P > 0,05$ ).

La tabla 5 recoge los resultados, obtenidos en los estudios de estabilidad acelerada, de los lotes fabricados a escala industrial. Las tablas 6, 7 y 8 recogen los resultados obtenidos en los estudios de estabilidad a tiempo real en estos mismos lotes; en ellos se evalúan las variaciones de los diferentes parámetros definidores de la calidad del producto, de acuerdo a especificaciones.

En estas condiciones, una vez cumplido el periodo de tres años, se evidencia un deterioro del cierre del envase, que puede ser observado en la fotografía recogida en la Figura 2. En relación con este deterioro se observa una contracción del volumen, pero no se detecta la aparición de precipitados. Cabe destacar los bajos niveles existentes en la solución de yodo molecular, considerado producto de degradación, ya que este no sería efectivo para la protección del tiroides. El aspecto de la solución, cumple con las especificaciones, durante todo el periodo de estudio, a pesar de la reducción del volumen. Así mismo, se constata el mantenimiento del pH al término del periodo de cuatro años y la ausencia de crecimiento bacteriano a lo largo del periodo de ensayo.

**DISCUSIÓN**

Los resultados reflejados en la tabla 2 muestran valores similares y acordes a las especificaciones establecidas para el producto (uniformidad de volumen, densidad, pH y valoración), tanto para cada uno de los lotes, considerado individualmente (medidas de dispersión reducidas), como en los diferentes lotes entre sí (medidas de centralización y dispersión similares).



**Figura 2.** Envase deteriorado.

## Desarrollo de una nueva forma farmacéutica líquida necesaria en una situación de accidente nuclear

**Tabla 5.** Estudio estabilidad acelerada de los diferentes lotes (Condiciones:  $40 \pm 2^\circ C / 70\% \pm 5\% HR$ , y acondicionamiento primario).

Parámetros	0 Meses (Marzo/2007)			3 Meses (Junio/2007)			6 Meses (Septiembre/2007)		
	A-02	A-03	A-04	A-02	A-03	A-04	A-02	A-03	A-04
Lote	A-02	A-03	A-04	A-02	A-03	A-04	A-02	A-03	A-04
Características organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Uniformidad de Volumen (ml)	20,0	20,0 ml	20,0 ml	20,0 ml	19,5 ml	20,0 ml	19,0 ml	19,0 ml	19 ml
pH	5,97	6,00	6,00	5,88	5,92	5,93	5,85	5,93	5,91
Densidad (g/mL)	1,230	1,230	1,230	1,210	1,210	1,210	1,240	1,230	1,230
Contenido en Yoduro Potásico (%)	99,25	99,66	99,90	98,30	98,30	98,70%	101,10	102,00	102,30
Contenido en Yodo Molecular (%)	0,11	0,11	0,11	0,10%	0,13%	0,11	0,11	0,13	0,12
Recuentos de microorganismos									
- Aerobios totales a $37^\circ C$		< 100			< 100			< 100	
- Aerobios totales a $25^\circ C$		< 100			< 100			< 100	
- Patógenos		Ausencia			Ausencia			Ausencia	

**Tabla 6.** Estudio estabilidad a tiempo real lote A-02(Condiciones:  $25 \pm 2^\circ C / 60\% \pm 5\% HR$ , sistema de iluminación: 1,7 UVA W/qm, y acondicionamiento primario).

Parámetros	0 Meses (Marzo/2007)	3 Meses	6 Meses	9 Meses	12 Meses	18 Meses	24 Meses	36 Meses	48 Meses
Características organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Uniformidad de Volumen	20,0 ml	20,0 ml	19,0 ml	19,0 ml	18,5 ml	18,0 ml	18,0 ml	16,7 ml	15,4 ml
pH	5,97	5,86	5,85	5,86	5,93	5,96	5,90	5,84	5,85
Densidad	1,230 g/ml	1,220 g/ml	1,240 g/ml	1,253 g/ml	1,254 g/ml	1,250 g/ml	1,254 g/ml	1,269 g/ml	1,280 g/ml
Contenido en Yoduro Potásico	99,25 %	98,00 %	101,10 %	103,00 %	106,43 %	109,32 %	109,90 %	116,70 %	117,88 %
Contenido en Yodo Molecular	0,11 %	0,10 %	0,11 %	0,12 %	0,13 %	0,13 %	0,13 %	0,13 %	0,13 %
Recuento de microorganismos									
- Aerobios totales a $37^\circ C$	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
- Aerobios totales a $25^\circ C$	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
- Patógenos	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

**Tabla 7.** Estudio estabilidad a tiempo real lote A-03(Condiciones:  $25 \pm 2^\circ C / 60\% \pm 5\% HR$ , sistema de iluminación: 1,7 UVA W/qm, y acondicionamiento primario).

Parámetros	0 Meses (Marzo/2007)	3 Meses	6 Meses	9 Meses	12 Meses	18 Meses	24 Meses	36 Meses	48 Meses
Características organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Uniformidad de Volumen	20,0 ml	20,0 ml	19,0 ml	19,0 ml	18,5 ml	18,0 ml	18,0 ml	17,1 ml	16,3 ml
pH	6,00	5,88	5,93	5,86	5,93	5,95	5,90	5,85	5,87
Densidad	1,230 g/ml	1,210 g/ml	1,230 g/ml	1,253 g/ml	1,252 g/ml	1,252 g/ml	1,258 g/ml	1,264 g/ml	1,278 g/ml
Contenido en Yoduro Potásico	99,66 %	98,00 %	102,00 %	103,00 %	107,27 %	109,39 %	110,00 %	116,27 %	118,92 %
Contenido en Yodo Molecular	0,11 %	0,13 %	0,13 %	0,12 %	0,12 %	0,12 %	0,13 %	0,13 %	0,13 %
Recuento de microorganismos									
- Aerobios totales a $37^\circ C$	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
- Aerobios totales a $25^\circ C$	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
- Patógenos	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

**Tabla 8.** Estudio estabilidad a tiempo real lote A-04(Condiciones:  $25 \pm 2^\circ C / 60\% \pm 5\% HR$ , sistema de iluminación: 1,7 UVA W/qm, y acondicionamiento primario).

Parámetros	0 Meses (Marzo/2007)	3 Meses	6 Meses	9 Meses	12 Meses	18 Meses	24 Meses	36 Meses	48 Meses
Características organolépticas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Uniformidad de Volumen	20,0 ml	20,0 ml	19,0 ml	19,0 ml	18,6 ml	18,4 ml	18, ml	17,0 ml	16,7 ml
pH	6,00	5,89	5,91	5,89	5,92	5,97	5,90	5,85	5,85
Densidad	1,230 g/ml	1,210 g/ml	1,230 g/ml	1,225 g/ml	1,253 g/ml	1,225 g/ml	1,257 g/ml	1,264 g/ml	1,278 g/ml
Contenido en Yoduro Potásico	99,99 %	99,20 %	102,30 %	102,80 %	108,26 %	109,37 %	110,00 %	115,38 %	118,33 %
Contenido en Yodo Molecular	0,11 %	0,11 %	0,12 %	0,11 %	0,12 %	0,12 %	0,13 %	0,13 %	0,13 %
Recuentos de microorganismos									
- Aerobios totales a $37^\circ C$	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
- Aerobios totales a $25^\circ C$	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
- Patógenos	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

La homogeneidad de resultados mostrados en dicha tabla 2, para cada uno de los lotes utilizados para la validación del proceso, así como la ausencia de diferencias significativas entre ellos, demuestra que el proceso es robusto y repetitivo, pudiendo considerarse validado.

La ausencia de significación en el análisis de varianza permite aceptar la hipótesis nula de que no existen variaciones diferenciales entre los tres lotes en las variables estudiadas.

La efectividad del conservante microbiológico a la concentración propuesta, queda demostrada al cumplir la especificación establecida en la Farmacopea Española <sup>27</sup>, según se recoge en la tabla 3.

Los resultados correspondientes a las especificaciones de calidad de los diversos lotes fabricados [A02, A03 y A04], que serán sometidos a estudios de estabilidad, recogidos en la tabla 4, proporcionan valores similares, cuya justificación estadística ha sido ya comentada, por lo que los resultados que arrojen los estudios de estabilidad, para cada uno de los lotes y especificaciones, podrán ser comparados entre sí.

Los datos correspondientes a las especificaciones de los lotes sometidos a estabilidad acelerada (tabla 5) nos indican un buen comportamiento de la solución propuesta, en condiciones extremas, pero en un corto periodo de tiempo (6 meses) lo que nos permitirá asegurar la estabilidad del producto en determinadas situaciones de estrés para este medicamento, como periodos de transporte o almacenamiento en tránsito hasta almacenes farmacéuticos, con temperatura y humedad estables.

Los datos correspondientes a los lotes sometidos a condiciones a tiempo real, tablas 6, 7 y 8 nos muestran la estabilidad de la fórmula diseñada durante, al menos, dos años; periodo superior al establecido para preparaciones líquidas de administración oral elaboradas en el ámbito hospitalario<sup>32-34</sup>, tanto a temperatura ambiente como en refrigeración o preparaciones extemporáneas confeccionadas con formas orales sólidas para la administración de yoduro potásico<sup>16</sup>. El deterioro observado en el envase, provoca, debido a una evaporación del disolvente, una elevación de concentración de ión yoduro; esta concentración de la solución es puesta de manifiesto a los tres y a los cuatro años de almacenamiento. No obstante, no se observa alteración de ningún otro parámetro de la especificación.

El contenido de ión yoduro a los tres años se sitúa fuera de la especificación establecida, pero lo hace cerca del límite de tolerancia superior; por lo que, inicialmente, se configurará como periodo de almacenamiento seguro, con este envase, al menos dos años, pudiendo fabricarse a escala industrial con este periodo de validez.

El deterioro del gotero, debido a la actuación constante de la radiación luminosa, muestra la necesidad de utilizar otros materiales y un diseño diferente de envase, con el fin de asegurar su integridad y proseguir el estudio de estabilidad de la solución; para ello, se propone el que se muestra en la fotografía recogida en la Figura 3 (envase con tapón de rosca de seguridad y con jeringa de dosificación independiente), con el que se inician nuevos estudios de estabilidad a tiempo real.

Es necesario considerar que las condiciones habituales de almacenamiento del envase serán menos agresivas que las empleadas en el ensayo, ya que se introduce en un estuche que le protegerá de la luz recibida.

Si bien los valores correspondientes a las soluciones almacenadas durante cuatro años, presentan una pérdida en la especificación



**Figura 3.** Nuevo envase y dosificador.

de «uniformidad de volumen» y «contenido en yoduro», debido a su concentración, el resto de parámetros definidores de la calidad del producto permanecen dentro de los límites de aceptación establecidos.

El mantenimiento de las especificaciones en las soluciones afectadas por la contracción de volumen, derivada del deterioro del envase, nos confirma la buena solubilidad de todos sus componentes, la efectividad del buffer propuesto, y la eficacia del conservante, evidenciando, por tanto, una fórmula robusta que nos permite prever un comportamiento estable en los estudios iniciados con el nuevo modelo de envase.

La confirmación de este comportamiento será de suma importancia, toda vez que la solución presentará un periodo de validez similar a las cápsulas de gelatina dura de yoduro potásico –entre cuatro y cinco años–, lo que facilitaría la rotación conjunta de los stocks de solución y cápsulas de gelatina dura; cuestión a considerar en los aspectos logístico y operativo.

## CONCLUSIONES

- Se ha procedido al diseño, fabricación a escala industrial y evaluación de una solución estable de yoduro potásico en envase multidosis, destinado a diversos grupos de la población, como agente preventivo frente a la exposición a yodo radiactivo, en respuesta a la necesidad, manifestada por diversos organismos nacionales e internacionales, y a la ausencia en el mercado Español y Europeo de un medicamento de características semejantes.
- Se han adecuado y puesto a punto los métodos analíticos necesarios para el control de los materiales de partida y del producto terminado.
- Los datos obtenidos, una vez efectuado el proceso de fabricación de la solución, referentes a la calidad del producto, permiten asegurar la ausencia de variaciones significativas entre los diferentes lotes fabricados, objeto de validación del proceso, demostrando que el diseño del proceso es robusto y repetitivo, siendo factible la fabricación de dicho medicamento a escala industrial.

- Los datos obtenidos, relativos a las especificaciones de calidad de la preparación, durante el sometimiento de los lotes fabricados a estudios de estabilidad normalizados, de acuerdo a la directiva internacional ICH (International Conference of Harmonisation), permiten asegurar un comportamiento estable, tanto desde el punto de vista químico como microbiológico, al menos durante dos años.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Información de Medicamentos para el Profesional Sanitario. Ministerio de Sanidad y Consumo. 2ª Edición Española 1995: 1559 -1560.
2. NATO Standardization Agency. STANAG 2957: International System Units used by Armed Forces in the Radiological/Nuclear Field. Agosto 2009.
3. Reglamento sobre protección sanitaria contra radiaciones ionizantes. Real Decreto 783/2001 de 6 de julio (Boletín Oficial del Estado número 178 de 26 de julio de 2001).
4. United States Federal Register Vol. 43, No. 242, december 15, 1978.
5. United States Federal Register Vol. 47, No. 125, june 29, 1982.
6. United States Nuclear Regulatory Commission, No. 102, july 1, 1997.
7. World Health Organization. «Guidelines for iodine prophylaxis following nuclear accidents». Update 1999. Geneva.
8. United States Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration (FDA). Center for drug evaluation and research (CDER). Guidance: Potassium iodide as a thyroid blocking agent in radiation emergencies. December 2001.
9. NATO Standardization Agency. STANAG 2461 NBC/MED (EDITION 1): NATO Handbook on the Medical Aspects of NBC Defensive Operations (Nuclear). AMedP-6 (C). Volume I. Febrero 2005.
10. The Medical Letter. Edición Española. Yoduro potásico para la protección tiroidea en un accidente o ataque nuclear. Vol. XXIV – 2002: 107-108.
11. NATO Standardization Agency. STANAG 2150: NATO Standards of Proficiency for NBC Defence. 25 octubre 2002.
12. NATO Standardization Agency. STANAG 2426: Chemical, Biological, Radiological and Nuclear (CBRN) Hazard Management Doctrine for NATO Forces. 14 febrero 2008.
13. NATO Standardization Agency. STANAG 2984: Graduated Levels of Chemical, Biological, Radiological and Nuclear Threats and Associated Protective Measures. 8 agosto 2007.
14. NATO AMedP-7(D). Concept of operations of medical support in chemical, biological radiological and nuclear environments. December 2007.
15. NATO. Resoluciones de la Cumbre de Praga 2002. 20 y 21 de noviembre.
16. FDA – CDER. Home preparation procedure for emergency administration of potassium iodide tablets to infants and small children. <http://www.fda.gov/cder/drugprepare/kiprep.htm>
17. Columbia University. National Center for Disaster Preparedness. Pediatric Preparedness for Disasters and Terrorism A National Consensus Conference. Executive Summary 2003: 25.
18. United States Department of Health and Human Services. Project Bioshield Annual Report to Congress. July 2004 through July 2006.
19. United States Department of Health and Human Services. Project Bioshield Annual Report to Congress. August 2006 through July 2007.
20. Sierra JF, Gallardo V, Ruiz MA. Situación actual de formas de administración pediátricas de fármacos del grupo M01A (Antiinflamatorios y antirreumáticos no esteroideos). VI Congreso SEFIG y 3ª Jornadas de Tecnología Farmacéutica. Granada 2003. Libro de Comunicaciones. Ed Comares: 503-505.
21. Vila Jato JL. Tecnología Farmacéutica 2: Formas Farmacéuticas. Editorial Síntesis 1997.
22. Santos B, Guerrero MD. Administración de Medicamentos: Teoría y Práctica. Ediciones Díaz de Santos, S.A. 1994. Capítulo 3: 31.
23. Vila Jato JL. Tecnología Farmacéutica 2: Formas Farmacéuticas. Editorial Síntesis 1997.
24. The Merck Index. Thirteenth Edition 2001. Potassium iodide: 1370.
25. Ficha de datos de seguridad: yoduro de potasio (MSDS, FDS). [http://www.fichas-deseguridad.com/yoduro\\_potasio.htm](http://www.fichas-deseguridad.com/yoduro_potasio.htm)
26. USP 31-NF 26. Edición Española 2008. Página 3332.
27. Real Farmacopea Española 3ª Edición 2005. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (Ministerio de Sanidad y Consumo).
28. Real Decreto 1465/2009 de 18 de septiembre por el que se establecen las normas de identidad y pureza de los colorantes utilizados en los productos alimenticios. BOE número 243 de 8 de octubre: 84828-84873.
29. Real Decreto 1477/1990 de 2 de noviembre por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria de los aromas que se utilizan en los productos alimenticios y de los materiales de base para su producción. BOE número 280 de 22 de noviembre: 34604-34611.
30. European Food Safety Authority (EFSA). Assessment of the results of the study by McCann *et al.* (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behavior. The EFSA Journal (2008) 660: 1-53.
31. Torres Suarez AI, Gil Alegre ME. Monografías de AEFI (Asociación Española de Farmacéuticos de Industria). 2004. Estabilidad de medicamentos. Requisitos de los estudios según la normativa actual: 24-25.
32. Soy D, Roca M., Deulofreu R., Montes E., Codina C., Ribas J. Estabilidad de las soluciones orales de clorhidrato de metadona al 0,1% y 0,5% en suero fisiológico. Farm Hosp 1998; 22 (5): 249-251.
33. Ruiz Caldes MJ., San Martín Ciges E., Ezquer Borrás J., Rodilla Calvelo, F., Ferriols Lisart F. Jarabe de midazolam: estudio de estabilidad de una solución oral para uso hospitalario. Farm Hosp 1995; 19 (1):41- 44.
34. Morales ME., Gallardo V, López G., Atienza M., Marín R., Ruiz M. A.. Estabilidad de una formulación oral líquida de morfina para pediatría. Farm Hosp 2006; 30(1): 29-32.

## ACCESIT FIDEL PAGÉS MIRAVÉ 2011

## Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado

Lozano Benito D.<sup>1</sup>, Gil Huerta L.<sup>2</sup>, Álvarez San Martín C.<sup>3</sup>*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 284-290; ISSN: 1887-8571*

## RESUMEN

**Antecedentes y objetivos:** El semen criopreservado ofrece beneficios adicionales no presentes en el semen refrigerado. Sin embargo, varios factores afectan al éxito en la inseminación artificial con semen congelado de caballos. El objetivo del trabajo es evaluar si la adición de plasma seminal a diferentes concentraciones, sobre espermatozoides equinos descongelados, afecta a la motilidad espermática, viabilidad y a nivel de membrana. **Material y métodos:** Se utilizaron diferentes razas, cuatro sementales de silla, y dos sementales de tiro. En un primer experimento el semen descongelado se centrifugó, mientras en el segundo no se centrifugó. A continuación, se adicionó el plasma seminal al 10, 20, 30% suspendido en solución tampón fosfato y plasma seminal puro (100%). **Resultados:** En los caballos de silla el plasma seminal no afectó a los parámetros estudiados ( $p > 0,05$ ), pero se apreció un posible efecto tóxico del plasma seminal puro sobre las características espermáticas. En las muestras con plasma seminal de los caballos de tiro, se observaron unos índices mejores en espermatozoides vivos con acrosoma intacto que en las muestras control. Asimismo se obtuvo un porcentaje menor en espermatozoides reaccionados que en las muestras control, encontrando en esta categoría una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ). **Conclusiones:** La incubación de los espermatozoides descongelados con plasma seminal puede frenar la reacción acrosómica, reflejado este hecho, en los bajos porcentajes de espermatozoides que han sufrido la verdadera reacción acrosómica.

**PALABRAS CLAVE:** Plasma seminal, Espermatozoides descongelados, Equino, Reacción acrosómica, Inseminación artificial.

## Effect of seminal plasma addition on frozen-thawed equine semen

## SUMMARY

**Background and objectives:** Stallion sperm cryopreservation offers benefits not available in cooled semen. However various factors affect the success of artificial insemination with frozen-thawed equine semen. This study aims to evaluate if adding different concentrations of seminal plasma on frozen-thawed equine spermatozoa affects sperm motility, viability and membrane status. **Material and Methods:** Different breeds were used; four saddle stallions and two draft stallions. In the first experiment thawed semen was centrifuged and in the second one it was not. Subsequent to that, the spermatozoa resuspended with 10, 20, 30% seminal plasma in phosphate buffered saline and pure seminal plasma (100%). **Results:** semen parameters of saddle stallions were not affected ( $p > 0,05$ ), but a possible toxic effect of pure seminal plasma was observed on sperm characteristics. Seminal plasma samples in draft breed got better rates in viable sperm with intact acrosome. A lower percentage was also found on spermatozoa with acrosome reaction than in control samples. This category showed significant differences ( $p < 0,05$ ). **Conclusions:** Post-thawing spermatozoa incubation with seminal plasma can stop acrosome reaction, due to the low percentage of spermatozoa suffering true acrosome reaction.

**KEY WORDS:** Seminal plasma, Frozen-thawed spermatozoa, Equine, Acrosome reaction, Artificial insemination.

## INTRODUCCIÓN

En la especie equina, normalmente el plasma seminal (PS) es apartado del semen durante el proceso de criopreservación, dejando aproximadamente un 0-5% del volumen original de PS<sup>1</sup>. Sin embargo, se han obtenido porcentajes altos de motilidad en esperma-

tozoides equinos después de la criopreservación, cuando el esperma centrifugado fue reconstituido con un 20% de PS y posteriormente incubados a 5°C durante 2 horas antes de congelar, en comparación con las muestras controles en las cuales todo el PS fue retirado<sup>2</sup>. Asimismo, espermatozoides equinos que exhibían bajas motilidades post-descongelación (<20%), fueron complementados con PS (30%) de sementales que producían semen con índices altos de criosuperivencia (motilidad  $\geq 30\%$ ), consiguiendo así, que un gran número de espermatozoides superara la criopreservación. Por el contrario, en sementales con buena calidad seminal post-descongelación, la adición de PS de caballos con baja calidad seminal tras la descongelación, disminuyó la motilidad progresiva post-descongelación<sup>3</sup>. Se demostró así, que la composición del PS es uno de los factores que determina la capacidad de los espermatozoides de un semental, para sobrevivir tras la criopreservación. En un estudio posterior no

<sup>1</sup> Tte. Veterinario. Unidad de Servicios de Base Jaime I. Bétera. Valencia. España.

<sup>2</sup> Doctora Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Dpto de Patología Animal. Zaragoza. España.

<sup>3</sup> Cte. Veterinario. Centro Militar de Cría Caballar de Zaragoza. España.

**Dirección para correspondencia:** Diego lozano Benito. Base Militar USBA Jaime I (Servicio Veterinario). Ctra. Porta-Coeli s/n. 46117 Bétera (Valencia). Tfn: 961606136. Email: dlozben@et.mde.es

Recibido: 28 de junio de 2011

Aceptado: 7 de julio de 2011

## Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado

se observó ningún efecto al resuspender tras centrifugar, distintas concentraciones de PS (0,5,10,20,40,80%), y medidas a los 10 y 90 minutos post-descongelación. En cambio, si que se vio un efecto perjudicial del PS en la criosupervivencia espermática, al incubar los espermatozoides con niveles superiores al 20% de PS durante largos periodos antes de la congelación<sup>4</sup>.

Similarmente, se ha visto que una variabilidad individual en el PS tiene un papel importante en la motilidad de los espermatozoides refrigerados<sup>5,6</sup>. El PS equino es diluido y apartado mediante centrifugación ya que ha demostrado ser un medio dañino durante el enfriamiento y almacenamiento<sup>7,8</sup>. Se sabe que aplicando una alta dilución, se reduce el efecto negativo del PS en el semen enfriado<sup>8,9</sup>. Sin embargo, la centrifugación y separación de todo el PS provoca una motilidad espermática más pobre después del almacenamiento a 5°C durante 24h, comparado con las muestras que contienen 5-20% de PS<sup>10</sup>. Brinsko y cols.<sup>5</sup> observaron que la centrifugación y eliminación parcial del PS son beneficiosas para aquellos caballos cuyos eyaculados tienen poca tolerancia a la refrigeración y almacenamiento. Esto provoca un aumento en el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva.

Diferentes autores han encontrado componentes en el PS que son importantes para el desarrollo y maduración de los espermatozoides en el tracto genital femenino. El incremento del transporte espermático, la precipitación de la ovulación, y el aumento del flujo sanguíneo al útero y oviducto se han asociado a la presencia de PS en caballos y cerdos<sup>11-14</sup>.

Troedsson y cols.<sup>15</sup> encontraron que el PS protege a los espermatozoides viables de la fagocitosis por los polimorfonucleares, aumentando la supervivencia en un medio uterino hostil y asegurando que un suficiente número de espermatozoides alcance el oviducto para fertilizar. El PS equino participa en la regulación del sistema inmune, y parece ser un factor importante en la regulación de la endometritis inducida por la cubrición<sup>16,17</sup>. El PS equino reduce o inhibe la quimiotaxis, la fagocitosis y la activación del complemento *in vitro*<sup>18</sup>.

Diferentes estudios, utilizando la tinción de clortetraciclina, han confirmado que la criopreservación puede causar cambios en el estado de la membrana funcionalmente equivalentes a la capacitación en espermatozoides de ratón<sup>19</sup>, verraco<sup>20</sup>, y morueco<sup>21</sup>. Los resultados de Schembri y cols.<sup>22</sup> están en concordancia con los descubrimientos de estos autores, indicando que la criopreservación induce un cambio similar a la capacitación en espermatozoides equinos. Se ha demostrado en espermatozoides ovinos que el PS limita el desarrollo de la capacitación post-descongelación<sup>23</sup>. Estos autores publicaron que la resuspensión de los espermatozoides tras su descongelación en solución tampón fosfato (PBS) con un 20% de PS mejora la motilidad espermática, retrasa los cambios similares a la capacitación y por consiguiente la reacción acrosómica, y además, aumenta la integridad de membrana permitiendo incrementar la fertilidad después de la IA cervical. Estos resultados demuestran que los daños funcionales de los espermatozoides durante la criopreservación pueden ser evitados mediante la adición de PS, probablemente a través del efecto de descapacitación combinado con la mejora en el transporte espermático.

Por lo tanto, se ha observado que el proceso de capacitación inducido por la criopreservación es reversible resuspendiendo PS a distintas concentraciones, lo que parece que alargaría la vida útil de los espermatozoides descongelados post-inseminación.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales y preparación del semen

Para la realización del trabajo se utilizaron seis sementales, cuatro caballos de silla (tres Pura Raza Española, uno Pura Raza Árabe) y dos caballos de tiro (Raza Bretona), elegidos entre los 57 que poseía el Ejército Español en el Depósito de Sementales de Zaragoza, en base a los óptimos índices de fertilidad obtenidos en las temporadas reproductivas anteriores. Todos ellos se encontraban en un correcto estado de salud y sus edades se comprendían entre los 7 y 15 años.

Las extracciones seminales se realizaron durante los meses de Febrero y Marzo de 2006, obteniendo un único eyaculado de cada animal, haciendo así, un total de seis eyaculados para el trabajo experimental. Para la colección del semen se utilizó una vagina artificial, modelo Hannover, con ayuda de una yegua en celo. Las características de los sementales seleccionados y sus eyaculados se reflejan en la Tabla 1:

El semen nativo mantenido a 37°C, se mezcló en una proporción 1:4 con el diluyente comercial Equi-Pro de la casa Minitüb y se centrifugó a 600g durante 15 minutos. Después de la centrifugación se eliminó el sobrenadante del tubo de centrifuga, dejando un 5% del medio de centrifugación junto con el pellet y fue resuspendido en el medio de congelación Gent (Minitüb). La dilución se realizó en función de la concentración deseada (cada pajuela llevaría 200 x 10<sup>6</sup> espermatozoides / 0,5 ml). El llenado de pajuelas de 0,5 ml se llevó a cabo manualmente en una habitación a 4°C, permaneciendo en esta cámara el tiempo necesario para completar las 2,5-3 horas de la curva de enfriamiento. A continuación preparamos una congelación mediante exposición a vapores de nitrógeno. Las pajuelas se colocaron horizontalmente sobre la rejilla de congelación a 5 cm con respecto al nitrógeno líquido. Se dejó actuar a los vapores durante 10 minutos, que hicieron descender la temperatura hasta los -120°C. Por último se volcaron las pajuelas con cuidado y fueron introducidas en un tanque de nitrógeno líquido que hizo descender la temperatura rápidamente hasta los -196°C definitivos de conservación.

### Preparación del plasma seminal

Se contó con 3 caballos de fertilidad conocida y el protocolo fue el utilizado por Maxwell y cols.<sup>23</sup>, en el cual para la obtención del PS estos autores centrifugaron el semen a 3500g durante 15 minutos y retiraron rápidamente el supernadante de PS. Añadieron en PBS el PS con una concentración final de 10, 20 ó 30%. El medio obtenido fue filtrado con un filtro de 0,22 µm y conservado a -20 °C hasta el día de su utilización. También preparamos un pool de PS puro.

### Diseño experimental

En la primera experiencia se descongeló el semen (37°C/30s). Se hizo diferenciación entre razas, por lo que dos pajuelas de diferentes caballos de tiro (CT), o dos pajuelas de diferentes caballos de silla (CS), eran descongeladas y mezcladas para trabajar con dosis heteroespéricas. Se vertían sobre un eppendorf y se realizaba la primera contrastación a tiempo 0 del semen puro tras su descongelación. A continuación se fraccionó la muestra, suspendiendo 150 µl del se-

men recién descongelado en cuatro eppendorfs que contenían 150 µl de PBS con PS al 10, 20 y 30% y PS puro respectivamente, todo ello atemperado a 37°C. El semen restante se dejó como muestra patrón. Las resuspensiones resultantes se incubaron durante 15 minutos en un baño de agua a 37°C, y se procedió a contrastarlas.

La segunda fase experimental seguía el mismo protocolo con la salvedad de que antes de la resuspensión en PS el semen era centrifugado. Los espermatozoides fueron sometidos a una fuerza gravitatoria de 600g durante 5 minutos. El sedimento obtenido de espermatozoides, fue reconstituido con PBS con PS a las distintas concentraciones (10, 20 y 30%), así como con el PS puro, previamente atemperados a 37°C. Todo ello se incubó durante 15 minutos en un baño de agua a 37°C, y se procedió a las evaluaciones.

### Contrastación seminal

#### Motilidad

Los porcentajes de motilidad total y motilidad progresiva espermática fueron determinados en cada experiencia con un analizador espermático asistido por ordenador (CASA).

#### Viabilidad celular

La tinción de eosina-nigrosina<sup>24</sup> fue empleada para las muestras a tiempo 0, mezclando en el porta objetos una gota de semen y otra del colorante, siendo extendida con un cubre. La lectura fue hecha con microscopio de campo claro con objetivo de 40x. Se evaluaron 100 espermatozoides y se hizo el porcentaje de células vivas (sin colorante), y el de las células muertas (con colorante). Para ver las células viables tras la adición de PS se utilizó una doble tinción (DS)<sup>25</sup>, que evaluaba a la vez la integridad acrosómica. Una alícuota de 100 µl procedente del semen resuspendido se depositó en un tubo; añadimos un volumen de 100 µl de azul tripano al 2% en PBS. El tubo fue incubado en el baño durante 10 minutos a 37°C. Después de la incubación, se diluyeron los espermatozoides con 1 ml de PBS y después se centrifugaron a 600g durante 6 minutos. Se quitó el sobrenadante y el esperma se resuspendió en 1 ml de PBS y se centrifugó igual que antes. Se colocó una gota de 10 µl de la suspensión de esperma sobre un porta objetos y se realizó la extensión con un cubre objetos. El frotis se secó sobre una placa calefactora (37°C). Los espermatozoides en los portas fueron teñidos a continuación durante 40 minutos con solución de Giemsa al 10% en PBS, preparada inmediatamente antes de su uso. A continuación los portas fueron secados sobre la platina térmica y se leyeron los campos en el microscopio con el objetivo de 40x.

Las cuatro categorías de espermatozoides originadas por la DS:

1. Espermatozoides muertos con acrosoma intacto.
2. Espermatozoides muertos con acrosoma separado (FAR).
3. Espermatozoides vivos con acrosoma intacto.
4. Espermatozoides vivos con acrosoma separado (TAR).

#### Acrosomas

Para determinar la integridad acrosómica de los espermatozoides a tiempo 0 había que fijar 10 µl de semen en 90 µl de glutaraldehído<sup>26</sup>, para luego analizar 100 células bajo el objetivo de inmersión

100x. A partir de los 15 min tras la adición del PS, los acrosomas se midieron conjuntamente con la viabilidad gracias a la DS.

#### Endósmosis

Se utilizó el HOS-test<sup>27</sup>. Para medir la funcionalidad de la membrana plasmática, se diluyeron 10 µl de semen en 90 µl de lactosa (100 mosm), en un tubo de ensayo de 5 cm<sup>3</sup> en un baño maría a 37°C durante 30 minutos. A continuación se fijó con 100 µl de glutaraldehído a temperatura ambiente. El recuento se realizaba con el objetivo de 40x. Se contaron 100 espermatozoides y se realizó el porcentaje de las células con reacción endosmótica positiva.

#### Análisis estadístico

Para analizar estadísticamente los datos se utilizó el programa SPSS 12.0., aplicándose el análisis de varianza (ANOVA), prueba de Duncan y modelos lineales generalizados (GLM).

### RESULTADOS

El factor tiempo influye en las variables analizadas, obteniendo resultados significativos o altamente significativos en todos los parámetros, excepto en los acrosomas de los sementales de tiro. Esto nos demuestra el hecho de que todos los valores disminuyen según aumenta el tiempo de descongelación, menos la integridad acrosómica.

Enfrentando las categorías espermáticas de la DS al factor tiempo, se aprecia de nuevo la mejor congelabilidad de los espermatozoides de los sementales de tiro. Nos lo demuestra las medias de M-ACR y V-ACR de cada raza. Los espermatozoides TAR muestran valores similares entre las dos clases de caballos. Llama la atención el pobre número de espermatozoides FAR encontrados en la lectura de la técnica DS.

Observamos una significación en todos las variables, excepto en los espermatozoides FAR, fácilmente entendible debido al bajo número de espermatozoides encontrados dentro de este patrón, como para encontrar una significación. Las otras tres variables si dependen del tiempo, siendo altamente significativas M-ACR Y V-ACR, aumentando la primera y disminuyendo la segunda a lo largo del tiempo. La variable TAR es significativa disminuyendo a lo largo del tiempo de forma menos acusada que en V-ACR.

Cuando enfrentamos los cuatro patrones de la DS al factor tratamiento (PS), en los CS no se puede ver un efecto beneficioso ni perjudicial en los espermatozoides con PS en comparación con la muestra control. Si que se aprecian unos valores medios superiores de M-ACR e inferiores de V-ACR en los espermatozoides con el PS puro, pudiendo significar una toxicidad del PS puro.

En los CT, si que se intuye un ligero beneficio del PS, siendo los resultados medios de la muestra control los más altos en M-ACR y más bajos en V-ACR. La muestra patrón también muestra los valores medios más altos en espermatozoides reaccionados.

En los CS, no se observa diferenciación significativa en ninguna categoría según la concentración de PS utilizada, en comparación con la muestra control. En los CT, ocurre lo mismo excepto en el grupo de espermatozoides reaccionados donde encontramos una diferencia significativa.

## Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado

**Tabla 1.** Características de los sementales.

Nombre	LEGISLADOR	PEATÓN	RENO	UTÁN	ORION	BENHUR
Raza	Española (PRE)	Española	Española	Árabe (PRA)	Bretona (RB)	Bretona
Edad (años)	15	11	10	7	12	9
Volumen (ml)	20	50	40	24	20	50
Concentración (10 <sup>6</sup> spz/ml)	279	371	133	231	318	304
Nº total spz (10 <sup>6</sup> )	5580	18550	5320	5544	6360	15200
Motilidad (%)	80	80	80	70	80	60
Nº total spz Corregido (10 <sup>6</sup> )	4464	14840	4256	3880	5088	9120
Nº total pajuelas	22	74	22	20	26	46

Respecto a la centrifugación tras la descongelación para retirar el diluyente de congelación, se observa que es perjudicial para los espermatozoides. El efecto negativo es más acusado en los CS. Se aprecia una diferencia altamente significativa en la variable V-M de los espermatozoides de los CS, disminuyendo la viabilidad espermática tras la centrifugación. También se apunta una diferencia altamente significativa en ACR, pero sorprendentemente este parámetro mejora después de la centrifugación. En la otra raza se observa una diferencia altamente significativa solo en END, manteniéndose el resto de los parámetros seminales prácticamente similares.

### DISCUSIÓN

Los valores obtenidos en los parámetros estudiados tras el proceso de congelación-descongelación, nos confirman el éxito de la congelación. Aunque se han realizado numerosas investigaciones para el desarrollo de métodos que sirvan como pronóstico de fertilidad del semen, la evaluación de la calidad seminal se sigue basando en la evaluación de la motilidad.

Una motilidad post-descongelación  $\geq 30\%$ <sup>28</sup> ó  $\geq 35\%$ <sup>29</sup> se requiere para el uso de semen congelado-descongelado en programas de IA. Se puede observar (tabla 2 y 3) que tras la descongelación estos porcentajes se superan con creces tanto en los CS como en los CT ( $68,38 \pm 5,797 / 89,50 \pm 6,054\%$ ). Samper<sup>30</sup>, también recomienda utilizar el semen que presente como mínimo el 20% de la motilidad progresiva 15 minutos después de la descongelación. Como se puede apreciar en la tabla 3, la media de motilidad progresiva de los CT sobrepasa este valor ( $32,80 \pm 2,816\%$ ).

Los valores medios de espermatozoides vivos tras el proceso de criopreservación en ambas razas son satisfactorios. Samper<sup>30</sup> sugiere que la morfología normal después de la descongelación debería ser del 70%, o un porcentaje muy similar al recomendado en el semen fresco.

Las medias mostradas son de  $61,00 \pm 2,632$  y  $66,83 \pm 1,400\%$  en los CS y CT respectivamente, evaluadas con la tinción eosin-nigrosina a tiempo 0.

Podemos concluir por tanto que el proceso de congelación-descongelación ha sido satisfactorio, aunque hay que tener en cuenta que antes de dar por buena esta valoración, habría que realizar un ensayo de fertilidad *in Vivo* con lotes de yeguas homogéneos.

**Tabla 2.** Influencia del tiempo en los parámetros seminales de los sementales de silla. Comparación anova y duncan. Medias  $\pm$  SEM.

	MT	MP	V-M	END	ACR
0 min	$68,38 \pm 5,797^a$	$31,00 \pm 5,529^a$	$61,00 \pm 2,632^a$	$20,50 \pm 3,561^a$	$92,00 \pm 2,087^b$
15 min	$40,05 \pm 3,749^b$	$12,66 \pm 2,138^b$	$60,45 \pm 1,778^a$	$13,90 \pm 1,019^b$	$92,90 \pm 0,717^b$
60 min	$10,61 \pm 1,732^c$	$1,79 \pm 0,467^c$	$42,54 \pm 2,765^b$	$12,49 \pm 1,037^b$	$93,63 \pm 0,785^{a,b}$
120 min	$7,00 \pm 1,132^c$	$0,80 \pm 0,416^c$	$33,24 \pm 2,601^b$	$11,20 \pm 1,937^b$	$96,90 \pm 0,433^a$
180 min	$2,13 \pm 1,274^c$	$0,33 \pm 0,333^c$	$23,00 \pm 3,223^c$	$12,67 \pm 2,704^b$	$97,33 \pm 0,615^a$
<i>P</i>	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,05	< 0,05

<sup>a, b, c, d</sup>: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas

MT (motilidad total), MP (motilidad progresiva) V-M (viabilidad); END (endósomosis), ACR (acrosomas).

**Tabla 3.** Influencia del tiempo en los parámetros seminales de los sementales de tiro. Comparación anova y duncan. Medias  $\pm$  SEM.

	MT	MP	V-M	END	ACR
0 min	$89,50 \pm 6,054^a$	$59,60 \pm 2,462^a$	$66,83 \pm 1,400^a$	$15,83 \pm 2,386^a$	$93,50 \pm 1,310^a$
15 min	$67,87 \pm 3,517^b$	$32,80 \pm 2,816^b$	$68,17 \pm 1,489^a$	$12,83 \pm 1,120^{a,b}$	$93,90 \pm 0,530^a$
60 min	$31,00 \pm 3,206^c$	$9,56 \pm 1,551^c$	$59,93 \pm 1,723^a$	$10,62 \pm 0,974^b$	$93,45 \pm 0,755^a$
120 min	$18,89 \pm 2,471^d$	$4,75 \pm 0,821^{c,d}$	$42,67 \pm 2,708^b$	$6,67 \pm 0,860^{b,c}$	$95,66 \pm 0,690^a$
180 min	$14,00 \pm 2,139^d$	$2,14 \pm 0,443^d$	$32,64 \pm 2,455^c$	$6,38 \pm 1,149^{b,c}$	$94,63 \pm 1,051^a$
240 min	$9,93 \pm 1,325^d$	$1,60 \pm 0,235^d$	$31,10 \pm 4,262^c$	$4,75 \pm 0,959^c$	$97,13 \pm 0,549^a$
<i>P</i>	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05

<sup>a, b, c, d</sup>: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas

MT (motilidad total), MP (motilidad progresiva) V-M (viabilidad); END (endósomosis), ACR (acrosomas).

**Tabla 4.** Influencia del tiempo en las categorías espermáticas de la DS en los sementales de silla. Comparación anova y duncan. Medias ± SEM.

	M-ACR	FAR	V-ACR	TAR
15 min	39,53 ± 1,782 <sup>c</sup>	0,03 ± 0,025 <sup>a</sup>	53,38 ± 1,629 <sup>a</sup>	7,08 ± 0,715 <sup>a</sup>
60 min	57,46 ± 2,765 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	36,17 ± 2,282 <sup>b</sup>	6,37 ± 0,785 <sup>a,b</sup>
120 min	72,90 ± 3,375 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	24,00 ± 3,320 <sup>c</sup>	3,10 ± 0,433 <sup>b,c</sup>
180 min	78,00 ± 4,590 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	19,33 ± 4,702 <sup>c</sup>	2,67 ± 0,615 <sup>c</sup>
<i>P</i>	< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,05

a, b, c, d: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. M-ACR (espermatozoides muertos y con acrosoma intacto), FAR (espermatozoides muertos y con acrosoma separado), V-ACR (espermatozoides vivos y con acrosoma intacto), TAR (espermatozoides vivos y con acrosoma separado).

**Tabla 6.** Influencia del tratamiento en las categorías espermáticas de la DS en los sementales de silla. Comparación anova y duncan. Medias ± SEM.

	M-ACR	FAR	V-ACR	TAR
PS 10%	52,68 ± 4,382 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	41,84 ± 3,976 <sup>a</sup>	5,47 ± 1,033 <sup>a</sup>
PS 20%	50,83 ± 4,038 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	42,83 ± 3,615 <sup>a</sup>	6,33 ± 0,836 <sup>a</sup>
PS 30%	49,06 ± 4,028 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	44,22 ± 3,296 <sup>a</sup>	6,72 ± 1,291 <sup>a</sup>
PS Puro	57,78 ± 3,964 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	36,22 ± 4,942 <sup>a</sup>	6,00 ± 1,126 <sup>a</sup>
Control	52,78 ± 1,957 <sup>a</sup>	0,06 ± 0,056 <sup>a</sup>	41,28 ± 3,508 <sup>a</sup>	5,89 ± 0,935 <sup>a</sup>
<i>P</i>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

a, b, c, d: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. M-ACR (espermatozoides muertos y con acrosoma intacto), FAR (espermatozoides muertos y con acrosoma separado), V-ACR (espermatozoides vivos y con acrosoma intacto), TAR (espermatozoides vivos y con acrosoma separado).

Como ya hemos indicado los CT han presentado unos parámetros post-criopreservación excelentes. Se conoce muy poco de la influencia de la raza en la criopreservación de los espermatozoides en la especie equina. En un estudio de campo con semen de CT en Francia, se informa de los resultados de la criopreservación, pero solo respecto a ciertos parámetros<sup>31</sup>. Nuestros resultados no coinciden con los de otro estudio<sup>32</sup>, que utilizó para sus experimentos 2 sementales bretones y 2 sementales percherones. Los cuatro CT empleados presentaron motilidades inferiores al 30%, es decir no alcanzaron el mínimo porcentaje requerido para entrar en programas de IA. Estos autores sugieren que la gran cantidad de PS emitida durante la eyaculación en los sementales de tiro, puede contribuir a la pobre congelabilidad observada en el estudio. Otro grupo de investigación<sup>33</sup>, también trabajó con dos percherones y dos bretones, obteniendo un rango de motilidad comprendido entre 13,8%-26,3%, y un intervalo de espermatozoides vivos entre 19,5%-38,0%.

El éxito de nuestro proceso de criopreservación, se puede atribuir también al uso de diluyentes comerciales (Equi-Pro y Gent). A tenor de los resultados obtenidos, se puede afirmar que el uso de diluyentes de semen químicamente definidos reduce la variabilidad potencial entre lotes, asociada a los diluyentes basados en leche desnatada o yema de huevo. El diluyente Equi-Pro contiene caseínas y proteínas seleccionadas del suero de la leche en lugar de leche desnatada, y una cantidad de diferentes azúcares y glicina. Por lo tanto, un diluyente de proteínas definidas de la leche, provoca una calidad seminal similar o mejor a los diluyentes basados en leche descremada. Los efectos pro-

**Tabla 5.** Influencia del tiempo en las categorías espermáticas de la DS en los sementales de tiro. Comparación anova y duncan. Medias ± SEM.

	M-ACR	FAR	V-ACR	TAR
15 min	31,73 ± 1,496 <sup>d</sup>	0,10 ± 0,056 <sup>a</sup>	62,17 ± 1,550 <sup>d</sup>	6,00 ± 0,516 <sup>a</sup>
60 min	40,00 ± 1,721 <sup>c</sup>	0,07 ± 0,069 <sup>a</sup>	53,45 ± 1,675 <sup>c</sup>	6,48 ± 0,740 <sup>a</sup>
120 min	55,53 ± 3,763 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	40,40 ± 3,482 <sup>b</sup>	4,07 ± 0,672 <sup>a,b</sup>
180 min	63,25 ± 3,416 <sup>a,b</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	31,38 ± 4,071 <sup>a</sup>	5,38 ± 1,051 <sup>a,b</sup>
240 min	63,88 ± 3,204 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	33,25 ± 2,743 <sup>a,b</sup>	2,88 ± 0,549 <sup>b</sup>
<i>P</i>	< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,05

a, b, c, d: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. M-ACR (espermatozoides muertos y con acrosoma intacto), FAR (espermatozoides muertos y con acrosoma separado), V-ACR (espermatozoides vivos y con acrosoma intacto), TAR (espermatozoides vivos y con acrosoma separado).

**Tabla 7.** Influencia del tratamiento en las categorías espermáticas de la DS en los sementales de tiro. Comparación anova y duncan. Medias ± SEM.

	M-ACR	FAR	V-ACR	TAR
PS 10%	42,45 ± 3,162 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,050 <sup>a</sup>	51,95 ± 2,834 <sup>a</sup>	5,55 ± 0,622 <sup>a,b</sup>
PS 20%	46,25 ± 3,299 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,050 <sup>a</sup>	50,00 ± 3,196 <sup>a</sup>	3,70 ± 0,476 <sup>b</sup>
PS 30%	41,56 ± 3,735 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	51,89 ± 3,599 <sup>a</sup>	6,56 ± 1,017 <sup>a</sup>
PS Puro	41,93 ± 5,151 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,000 <sup>a</sup>	52,93 ± 4,720 <sup>a</sup>	5,14 ± 0,082 <sup>a,b</sup>
Control	47,39 ± 3,659	0,17 ± 0,121 <sup>a</sup>	45,78 ± 3,579 <sup>a</sup>	6,67 ± 0,745 <sup>a</sup>
<i>P</i>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05

a, b, c, d: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas. M-ACR (espermatozoides muertos y con acrosoma intacto), FAR (espermatozoides muertos y con acrosoma separado), V-ACR (espermatozoides vivos y con acrosoma intacto), TAR (espermatozoides vivos y con acrosoma separado).

ectores de estos diluyentes están presentes también durante la centrifugación. También afirmamos que se obtienen mejores resultados con medios de congelación comerciales, que con diluyentes realizados en el propio laboratorio a partir de los diferentes ingredientes (yema de huevo, glicerol, etc).

La centrifugación resultó ser perjudicial para los parámetros seminales de ambas razas (tabla 8 y 9). Provocó una mayor mortalidad en los espermatozoides centrifugados de los CS, mostrando una diferencia altamente significativa ( $p < 0,001$ ). En los CT, la acción mecánica de la centrífuga no causó un daño tan manifiesto, pero también se encontró una diferencia altamente significativa en la endósmosis, por lo que la centrifugación afectó a la funcionalidad de membrana y de la bomba iónica.

Como ya se ha indicado, existe una gran controversia sobre el efecto del PS en los espermatozoides criopreservados. La separación del PS fue divulgada como necesaria para la criosupervivencia celular<sup>1</sup>. Sin embargo, otros autores indican el beneficio del PS en los espermatozoides equinos criopreservados<sup>2,3</sup>. En otro estudio<sup>4</sup> no se observó ningún efecto sobre los espermatozoides, al resuspenderlos con distintas concentraciones de PS (0, 5, 10, 20, 40, 80%) tras la centrifugación. Recientemente, se ha visto que la separación del PS disminuye los valores de motilidad, pero no la integridad de la membrana plasmática, tanto en semen refrigerado como en semen congelado<sup>34</sup>.

La DS ha resultado ser una prueba útil y objetiva de evaluación de la viabilidad espermática y de la verdadera reacción acrosómica, en el estudio del semen equino post-criopreservado. Tras el estudio

## Efecto de la adición de plasma seminal en el semen equino descongelado

**Tabla 8.** Influencia de la centrifugación en los parámetros seminales de los sementales de silla. Comparación anova. Medias  $\pm$  SEM.

	MT	MP	V-M	END	ACR
NO	27,33 $\pm$ 3,921	11,64 $\pm$ 2,972	54,55 $\pm$ 2,148	14,97 $\pm$ 1,100	90,15 $\pm$ 0,750
SI	23,42 $\pm$ 3,226	6,71 $\pm$ 1,348	40,15 $\pm$ 2,263	12,68 $\pm$ 0,880	96,10 $\pm$ 0,323
P	> 0,05	> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,001

MT (motilidad total), MP (motilidad progresiva) V-M (viabilidad); END (endósmosis), ACR (acrosomas).

**Tabla 9.** Influencia de la centrifugación en los parámetros seminales de los sementales de tiro. Comparación anova. Medias  $\pm$  SEM.

	MT	MP	V-M	END	ACR
NO	36,37 $\pm$ 3,707	16,08 $\pm$ 2,985	54,10 $\pm$ 2,880	12,49 $\pm$ 1,078	93,79 $\pm$ 0,577
SI	34,00 $\pm$ 3,513	13,01 $\pm$ 2,031	51,92 $\pm$ 1,847	8,41 $\pm$ 0,591	94,57 $\pm$ 0,414
P	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,001	> 0,05

MT (motilidad total), MP (motilidad progresiva) V-M (viabilidad); END (endósmosis), ACR (acrosomas).

estadístico de los resultados de la DS (tabla 6), no se encuentra ninguna diferencia significativa en los CS. Por tanto, el PS ni beneficia ni perjudica a los espermatozoides de esta raza, tras su reconstitución post-descongelación. Analizando los valores del PS puro en los espermatozoides V-ACR y M-ACR, parece ser que el PS sin dilución alguna muestra efectos tóxicos.

En los CT (tabla 7), si que se aprecia un ligero beneficio del PS, siendo los resultados medios de la muestra control los más altos en M-ACR y más bajos en V-ACR. Se ha encontrado una diferencia significativa en los espermatozoides reaccionados, registrando la muestra patrón los valores medios más altos.

La criopreservación induce cambios en la membrana espermática que hacen a los espermatozoides comportarse como si estuvieran parcialmente capacitados<sup>35</sup>. La resuspensión de los espermatozoides equinos centrifugados en el PS homólogo no produce cambios parecidos a la capacitación<sup>22</sup>. Estos datos indican que el proceso de congelación-descongelación del semen equino induce cambios similares a la capacitación en los espermatozoides y que la mayoría de los cambios son debidos a la separación del PS.

Cuando los espermatozoides (o capacitados o no capacitados) son expuestos al PS, ellos son incapaces de llevar a cabo la reacción acrosómica y completar la fertilización<sup>36,37</sup>. La adición de PS previene de la prematura capacitación espermática y puede hacer que los espermatozoides capacitados vuelvan a un estado de no capacitados, el cual puede permitir que espermatozoides criopreservados lleguen a ser fértiles durante un intervalo más grande.

Los hallazgos de estos autores, podrían explicar los resultados encontrados en el presente trabajo. La causa del bajo número de espermatozoides TAR, puede deberse a que tras la adición del PS, este retrase la reacción acrosómica de los espermatozoides capacitados durante la criopreservación. Esta categoría es significativa en los TAR de los CT, presentando la muestra control los valores medios más altos en espermatozoides reaccionados, con lo que el PS puede frenar en cierta manera la reacción acrosómica. Además en esta misma raza, los valores de M-ACR y V-ACR se ven beneficiados en presencia de PS. Para certificar el efecto positivo del PS tras la reconstitución de los espermatozoides descongelados de CT, sería importante señalar la mayor longevidad del semen que contenía PS respecto a la muestra control, en especial el PS al 10%.

En casos de capacitación inapropiada o repentina, como la inducida por la criopreservación, no se dispone de un suministro continuo de espermatozoides recién capacitados. Esto provoca, la necesidad de monitorear ecográficamente cada 6-12 horas a las yeguas, e in-

seminarlas lo más cercano posible al momento de la ovulación para obtener buenos resultados con el semen congelado-descongelado<sup>38,39</sup>.

La separación del PS en la preparación del semen para la criopreservación, aumenta la duración de la respuesta inflamatoria del útero después de la inseminación con semen descongelado. Este hecho ha sido observado en yeguas inseminadas con semen descongelado, al cual se le había quitado todo el PS, y sufrieron una inflamación post-inseminación más marcada y prolongada<sup>18</sup>. Este autor encontró que la presencia de PS en la dosis de inseminación acortaba la duración de la inflamación inducida por la IA. Además si la ovulación no ha ocurrido entre las 12-24h después de la primera inseminación, las yeguas reciben una segunda dosis de inseminación con el fin de asegurar la presencia de espermatozoides viables en el oviducto a la hora de la ovulación. Esta práctica podría exponer a los espermatozoides de la segunda inseminación a un ambiente uterino inflamado<sup>40</sup>.

Estas investigaciones apoyan a nuestro estudio en la idea de incluir PS en el medio de descongelación. Con el fin de dar a nuestro estudio una utilidad en la práctica diaria, sería necesario realizar una evaluación *in vivo* inseminando a yeguas con el PS al 10%. De esta manera, analizaríamos si dentro de la hembra en contacto con los fluidos uterinos, se cumple también la mayor longevidad mostrada en el laboratorio por el PS al 10%, y si se da el retraso en la reacción acrosómica tras la resuspensión de los espermatozoides equinos descongelados en PS, proveyendo por lo tanto, de una población espermática más heterogénea en la dosis de inseminación.

De ser así, permitiría reducir la frecuencia con la que es ecografiada una yegua en celo, y por consiguiente un menor coste económico. Además, también disminuiría la inflamación uterina en una segunda inseminación, aumentando los índices de fertilidad con semen congelado.

## CONCLUSIONES

1. La evaluación de los parámetros seminales post-descongelación ha demostrado el éxito de la criopreservación con los diluyentes comerciales Equi-Pro y Gent, tanto en el semen de caballos de silla como en los de tiro, especialmente en este último.
2. El efecto de la reconstitución de los espermatozoides descongelados con diferentes concentraciones de plasma seminal, ha resultado ser nulo en los caballos de silla. El plasma seminal puro presenta efectos tóxicos sobre los espermatozoides.
3. La resuspensión de los espermatozoides descongelados de los caballos de tiro con diferentes concentraciones de plasma seminal, muestra unos valores de motilidad y endósmosis inferiores

que sin plasma seminal. Sin embargo, presentan unos porcentajes mejores en espermatozoides vivos con acrosoma intacto y un tanto por ciento menor en espermatozoides reaccionados que la muestra control. La concentración de plasma seminal al 10% en PBS es la mejor, además muestra una longevidad mayor que el resto de las muestras.

4. La incubación de los espermatozoides descongelados con plasma seminal puede frenar la reacción acrosómica, reflejado este hecho, en los bajos porcentajes de espermatozoides que han sufrido la verdadera reacción acrosómica (TAR).
5. La centrifugación de los espermatozoides descongelados para la retirada del diluyente, ha sido perjudicial en los parámetros seminales de ambas razas, en especial en la viabilidad de los espermatozoides de los caballos de silla.
6. La doble tinción es una prueba útil y objetiva de evaluación de la viabilidad espermática y de la verdadera reacción acrosómica, en el estudio del semen equino post-criopreservado.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal militar del Centro de Reproducción Equina «Torre Abejar» de Garrapinillos (Zaragoza) y al área de Reproducción de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Amann RP & Pickett BW. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa 1987.
2. Katila T, Andersson M, Reilas T & Koskinen E. Post-thaw motility and viability of fractionated and frozen stallion ejaculates. *Theriogenology* 2002; 58: 241-244.
3. Aurich JE, Kühne A, Hoppe H & Aurich C. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology* 1996; 46: 791-797.
4. Moore AI, Squires EL & Graham JK. Effect of seminal plasma on the cryopreservation of equine spermatozoa. *Theriogenology* 2005; 63: 2372-2381.
5. Brinsko SP, Crockett EC & Squires EL. Effect of centrifugation and partial removal of seminal plasma on equine spermatozoal motility after cooling and storage. *Theriogenology* 2000; 54: 129-136.
6. Dawson GR, Webb GW, Pruitt JA, Loughlin TM & Arns MJ. Effect of different processing techniques on motility and acrosomal integrity of cold-stored stallion spermatozoa. *J Equine Vet Sci* 2000; 20: 191-194.
7. Pickett BW, Sullivan JJ, Byers WW, Pace MM & Remmenga EE. Effect of centrifugation and seminal plasma on motility and fertility of stallion and bull spermatozoa. *Fertil Steril* 1975; 26: 167-174.
8. Jasko DJ, Moran DM, Farlin ME & Squires EL. Effect of seminal plasma dilution or removal on spermatozoal motion characteristics of cooled stallion semen. *Theriogenology* 1991; 35: 1059-1068.
9. Varner DD, Blanchard TL, Love CC, Garcia MC & Kenney RM. Effects of semen fractionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology* 1987; 28: 709-718.
10. Jasko DJ, Hathaway JA, Schaltenbrand VL, Simper WD & Squires EL. Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology* 1992; 37: 1241-1252.
11. Claus R, Moshhammer T, Aumuller R & Weiler U. Replenishment of AI-doses with oestrogens in physiological amounts: effect on sow prolificacy in field trial. *J Vet Med* 1989; 36: 797-800.
12. Weitze KFH, Roth D, Willmen T & Waberski D. Advancement of ovulation in the sow related to seminal plasma. *Reprod Dom Anim* 1990; 25: 61-67.
13. Willmen T, Rabele T, Everwand A, Waberski D & Weitze K. Influence of seminal plasma and oestrogens in the inseminate on fertilization rate, sperm transport and ovulation time. *Reprod Dom Anim* 1991; 1( Suppl.): 379-383.
14. Bollwein H, Sowade C & Stolla R. The effect of semen extender, seminal plasma and raw semen on uterine and ovarian blood flow IPSI- and contralateral to the preovulatory follicle in mares. *Anim Reprod Sci* 2001; 68: 346 (abstract).
15. Troedsson MHT, Desvousges A, Alghamdi AS, Dahms B, Dow CA, Hayna J, Valesco R, Collahan PT, Macpherson ML, Pozor M & Buhi WC. Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Anim Reprod Sci* 2005; 89: 171-186.
16. Troedsson MHT, Crabo BG, Ibrahim NM, Scott M & Ing M. Mating-induced endometritis: mechanisms, clinical importance, and consequences. *Proc Am Assoc Equine Pract* 1995; 41: 11-12.
17. Alghamdi AS, Foster DN & Troedsson MHT. Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction* 2004; 127: 593-600.
18. Troedsson MHT, Lee CS, Franklin R & Crabo BG. The role of seminal plasma in post-breeding uterine inflammation. *J Reprod Fertil* 2000; 56 (Suppl.): 341-349.
19. Fuller SJ & Whittingham DG. Capacitation-like changes occur in mouse spermatozoa cooled to low temperatures. *Mol Reprod Dev* 1997; 46: 318-324.
20. Maxwell WMC & Johnson LA. Clortetracycline analysis of boar spermatozoa after incubation, flow cytometric sorting, cooling, or cryopreservation. *Mol Reprod Dev* 1997; 46: 408-418.
21. Gillan L, Evans G, Maxwell WM. Capacitation status and fertility of fresh and frozen-thawed ram spermatozoa. *Reprod Fertil Dev* 1997; 9(5): 481-487.
22. Schembri MA, Major DA, Suttie JJ, Maxwell WMC & Evans G. Capacitation-like changes in equine spermatozoa throughout the cryopreservation process. *Reprod Fertil Dev* 2002; 14: 225-233.
23. Maxwell WMC, Evans G, Mortimer ST, Gillan L, Gellatly ES & McPhie CA. Normal fertility in ewes after cervical insemination with frozen-thawed spermatozoa supplemented with seminal plasma. *Reprod Fertil Dev* 1999; 11: 123-126.
24. Hancock JL. A staining technique for the study of temperature shock in semen. *Nature* 1951; 167 323.
25. Didion BA, Dobrinsky JR, Giles JR & Graves CN. Staining procedure to detect viability and the true acrosome reaction in spermatozoa of various species. *Gamete Res* 1989; 22: 51-57.
26. Pursel VG & Johnson LA. Glutaraldehyde fixation of boar spermatozoa for acrosome evaluation. *Theriogenology* 1974; 1: 63-68.
27. Jeyendran R, Van der Ven H, Pérez-Peláez M, Grabo B & Zaneveld L. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil* 1984; 70: 219-228.
28. Loomis PR, Amann RP, Squires EL & Pickett BW. Fertility of unfrozen and frozen stallion spermatozoa extended in EDTA-lactosa-egg yolk and packaged in straws. *J Anim Sci* 1983; 56: 687-693.
29. Cochran J, Amann RP, Froman DP & Pickett BW. Fertility of frozen-thawed stallion semen extended in lactose-EDTA egg yolk extender and packaged in 1.0 ml straws. *Theriogenology* 1983; 20: 735-741.
30. Samper JC. Stallion semen cryopreservation: male factors affecting pregnancy rates. *Proc Soc Theriogenology* 1995; pp 160-165.
31. Palmer E. Factors affecting stallion semen survival and fertility. *Proc 10th Int Congr Anim Reprod and Artif Insem, Illinois* 1994; 3 337.
32. Braun J, Hochi S, Oguri N & Torres-Boggino F. Effect of different protein supplements on motility and plasma membrane integrity of frozen-thawed stallion spermatozoa. *Cryobiology* 1995; 32(5): 487-492.
33. Torres-Boggino F, Sato K, Oka A, Kanno Y, Hochi S, Oguri N, Braun J. Suitability relationship among seminal characteristics, fertility and for semen preservation in draft stallions. *J Vet Med Sci* 1995; 57(2): 225-229.
34. Kareskoski AM, Reilas T, Andersson M, Katila T. Motility and plasma membrane integrity of spermatozoa in fractionated stallion ejaculates after storage. *Reprod Dom Anim* 2006; 41(1): 33-38.
35. Watson PF. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 871-891.
36. Begley AJ & Quinn P. Decapacitation factors in semen. *Clin Reprod Fertil* 1982; 1: 167-175.
37. Mortimer ST, Swan MA & Mortimer D. Effect of seminal plasma on capacitation and hyperactivation in human spermatozoa. *Human Reprod* 1998; 13: 2139-2146.
38. Brinsko SP & Varner DD. Artificial insemination and preservation of semen. Stallion management. *Vet Clin North Am* 1992; 8:205-218.
39. Kloppe LH, Varner DD, Elmore RG, Bretzlaff KN & Shull JW. Effect of insemination timing on fertilizing capacity of frozen/thawed equine spermatozoa. *Theriogenology* 1988; 29: 429-439.
40. Alghamdi A, Troedsson MHT, Laschkewitsch T & Xue JL. Uterine secretion from mares with post-breeding endometritis alters sperm motion characteristics in vitro. *Theriogenology* 2001; 55: 1019-1028.

# Adaptación psicométrica del inventario de Texas revisado de duelo (ITRD) en población militar española joven adulta

Samper Lucena .E.<sup>1</sup>

*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 291-298; ISSN: 1887-8571*

## RESUMEN

**Introducción:** Las pérdidas que acompañan la condición humana suponen un proceso muy difícil de incorporar en la vida, según la literatura científica uno de los acontecimientos vitales más estresantes. En la actualidad se ha incrementado el interés por estos temas y su demanda social. En las Fuerzas Armadas la actuación diaria de los hombres y mujeres que la integran, especialmente durante su participación en las misiones en el exterior, es la razón de su prestigio entre nuestros conciudadanos, pero también se sufren pérdidas de personas y heridos allí donde prestan servicio, lo que afecta a compañeros, familiares y amigos. **Objetivos:** En este trabajo se trata de estudiar psicométricamente el inventario de Texas revisado de duelo (ITRD) de Faschingbauer y cols., en personal militar joven adulto, revisando algunas de las variables que se han asociado en la literatura científica con el proceso psicológico estudiado. Aportar información relevante de apoyo en la consulta especializada o en situaciones de emergencia o catástrofe para la ayuda a personas que han perdido a seres queridos. **Metodología:** Se ha confeccionado un cuestionario para recoger los datos. Se aplicó a una muestra de adultos jóvenes, miembros de las Fuerzas Armadas Españolas, realizando el estudio psicométrico (análisis descriptivo, baremación mediante percentiles, y estudio factorial). **Discusión:** Se compararon los resultados obtenidos con los de otros estudios de autores tanto de la prueba original como de la versión utilizada en otras poblaciones de diferente origen. **Conclusiones:** La prueba utilizada es psicométricamente adecuada en población joven adulta de forma similar a lo encontrado en otros estudios con distinta población. Existen diferencias entre hombres y mujeres en el proceso de duelo. Que la clasificación de los baremos de la prueba se debe de adaptar a la población donde se aplica, clínica o no, diferentes grupos de edad, o diferentes orígenes culturales, ya que el proceso de duelo es distinto. El perfil de la persona con necesidades de apoyo especializado, en este estudio, es de una mujer sin tratamientos en salud mental y que ha perdido a un ser querido por una enfermedad. Se aporta un trabajo de interés para enriquecer los instrumentos diagnósticos psicológicos, en una población específica de las Fuerzas Armadas Españolas.

**PALABRAS CLAVE:** Duelo, Pérdida, ITRD, psicometría, atención psicológica, Fuerzas Armadas Españolas.

## Psychometric Adaptation of Texas Revised Inventory of Grief (TRIG) in a Spanish young adult military population

### SUMMARY

**Introduction:** The losses that accompany the human condition are a difficult process to come to terms with, and according to scientific literature one of the most stressful life events. Today there is an increased interest in these issues and their social demand. The daily performance of male and female service members, especially during their participation in operations abroad, is the reason for the Armed Forces prestige among our fellow citizens. But operations also originate casualties and this affects colleagues, families and friends. **Objectives:** This paper seeks to explore psychometrically the Texas Revised Inventory of Grief (TRIG) by Faschingbauer et al., in young adult military personnel, reviewing some of the variables that have been associated in the literature with the psychological process studied. This paper provides relevant information to support the specialist consultation or in disaster situations to help people who have lost loved ones. **Methodology:** We prepared a questionnaire to collect data. It was applied to a sample of young adults, members of the Spanish Armed Forces, performing the psychometric study (descriptive analysis, scales by percentiles, and factorial study). **Discussion:** We compared the results with those of other studies by the authors of both the original test and the version used in other populations of different origin. **Conclusions:** The test used is psychometrically adequate for a young adult population as it has been proven in other studies with different populations. There are differences between men and women in the grieving process. The classification of the scales of the test must be adapted to the population where it is applied, clinical symptoms or not, different age groups, or different cultural backgrounds, since the grieving process is different in each group. The profile of the person in need of specialized support in this study is a woman with no mental health problems and who has lost a loved one to disease. This paper contributes to enrich the psychological diagnostic tools in a specific Spanish military population.

**KEY WORDS:** Grief, Loss, TRIG, Psychometrics, Psychological care, Spanish Armed Forces.

<sup>1</sup> Cap Psicólogo. Unidad Militar de Emergencias. Cuartel General (Base Aérea Torrejón de Ardoz). Madrid. España.

**Dirección para correspondencia:** Eduardo Samper Lucena. Unidad Militar de Emergencias. Cuartel General. Gabinete de Psicología. Base Aérea de Torrejón de Ardoz. 28850 - Torrejón de Ardoz (Madrid). Tfno. 917487119. esamluc@ea.mde.es

Recibido: 17 de mayo de 2010  
Aceptado: 17 de febrero de 2011

## INTRODUCCIÓN

En la vida se sufren pérdidas continuamente, desde la niñez se está perdiendo objetos, capacidades y funciones importantes para las personas, hasta llegar a la pérdida de seres queridos. La muerte de un ser querido es uno de los acontecimientos más traumáticos y estresantes para las personas<sup>1</sup>.

En la actualidad, el proceso de envejecimiento de la población y su trascendencia en la planificación de los sistemas sanitarios y de seguridad social, así como el creciente interés en la medición de las condiciones de vida de la misma, han incrementado sobremanera el interés por los datos referentes a la mortalidad en España, según el Instituto Nacional de Estadística<sup>2</sup>

Para conocer la magnitud del problema en población general y el estado actual de la cuestión puede servirnos de referencia unos datos de nuestro entorno: en el año 2009 se produjeron en España 383.486 fallecimientos, un 0,7% menos que en 2008. La tasa bruta de mortalidad disminuyó hasta situarse en 8,35 fallecidos por cada mil habitantes, frente a los 8,43 del año 2008. Por zonas y comunidades autónomas en lo referente a la mortalidad, la mitad noroeste peninsular presentó, en términos relativos, un mayor número de defunciones en 2009. Cabe mencionar en este sentido que esta zona presenta poblaciones más envejecidas que el resto de España. Así, las tasas de mortalidad más elevadas se dieron en Principado de Asturias (con 12,1 defunciones por cada mil habitantes), Galicia (11,0) y Castilla y León (10,7)<sup>2</sup>

En la literatura científica se muestra la asociación que tiene estas pérdidas con determinados trastornos, la depresión en los viudos/as<sup>3</sup> casi la mitad presentan ansiedad o crisis de angustia<sup>4</sup>; existe abuso de alcohol<sup>5</sup> y la utilización de psicofármacos en los 18 primeros meses<sup>6</sup> en definitiva se puede llegar a desarrollar un duelo patológico<sup>7</sup> incrementándose el riesgo de muerte (principalmente por eventos cardíacos y suicidio), teniendo los viudos un alto porcentaje de probabilidades de morir prematuramente durante el primer año<sup>8</sup>. por otro lado, la tasa promedio anual de consultas es un 80% mayor en los dolientes<sup>9</sup> y el nivel asistencial ideal para sus cuidados es, según algunos autores, la atención en primera instancia o la prevención y consejo primario<sup>10-12</sup>.

De este modo en algunos casos la relación entre procesos de duelo y psicopatología es estrecha. Los duelos acumulados y/o insuficientemente elaborados, los acontecimientos vitales estresantes, favorecen el desequilibrio mental, la psicopatología, aunque el cúmulo de variables que intervienen hace difícil el hallazgo de relaciones causales.

Distintos autores proponen el duelo patológico como una entidad clínica diferente, intentando clasificar la sintomatología como un síndrome e incluso haciendo propuestas de criterios para su clasificación tal como Zisook<sup>13</sup> y Horowitz<sup>14</sup>, desde el modelo del trastorno de estrés postraumático, o Prigerson<sup>15</sup> y Raphael<sup>16</sup>, basándose en criterios más estadísticos. Los riesgos y ventajas de tal intento han sido revisados por diferentes autores y desde diferentes ámbitos<sup>17</sup>.

En los manuales de diagnóstico de enfermedades mentales la clasificación de los duelos problemáticos se establece en el apartado de otros problemas que pueden ser objeto de atención clínica, y dentro de este en los problemas adicionales que pueden ser objeto de atención clínica «Z63.4 Duelo [V62.82]», DSM IV-TR.

De todas formas hay que tener en cuenta que es obvio que el duelo como en gran parte de las manifestaciones psicológicas, lo que se define por normalidad o anormalidad depende de evaluaciones culturales.

Hay muchas variables que se han relacionado con los procesos de duelo para diferenciar a los dolientes, en relación al género se ha encontrado grandes diferencias entre ambos géneros en el sentido de una mayoría de consultas por estos motivos fueron realizadas

por mujeres<sup>18</sup>. La mayor demanda de mujeres en los procesos de duelo es coincidente con todos los hallazgos de la literatura y oscila entre el 60 y el 80% en literatura anglosajona cuando incluyen todo tipo de parentesco<sup>19,20</sup> llegando hasta el 95% de mujeres<sup>20</sup>. También en las mujeres se manifestaría mayor malestar inicial que en el varón, el ajuste psicológico y social sería similar en ambos, mientras ellos presentaban mayores dificultades de recuperación a los dos o cuatro años, e incluso, aumento de mortalidad cardiovascular en algunos grupos de edad, el riesgo de síntomas psiquiátricos en mujeres que perdían a sus maridos era 7 veces superior a lo esperado, mientras en varones la pérdida de la esposa aumentaba 4 veces más el riesgo para ese grupo de edad<sup>21,22</sup>.

W. y M. Estrobe<sup>23</sup>, señalan que son las mujeres las que tienen un mayor número de consultas por la pérdida de seres queridos, realizan más conductas de lloros y estas duran más tiempo, toman más cantidad de psicofármacos que los hombres, entre otras variables. El Harvard Study citado en Tizón<sup>24</sup> donde se analizó la conducta de 49 viudas, se concluyó que estas tenían un mayor desajuste al principio del proceso de duelo y este disminuía con respecto a los viudos trascurrido unos años

Se ha especulado sobre la posibilidad de que las mujeres pueden experimentar un duelo distinto y con diferentes resultados porque reciben más apoyo social que los hombres. Un sólido estudio de Stroebe<sup>23</sup> y sus colegas indica que no es así. Bowlby<sup>21</sup>, señala la estructura de la personalidad del deudo cuando se intenta entender su respuesta ante la pérdida.

Otro de los factores de importancia en los procesos de duelo es la forma fallecimiento de la persona querida. Tizón<sup>24</sup> considera que hay una serie de circunstancias que hacen el proceso de duelo más complicado, tales como las muertes inesperadas.

En la literatura anglosajona se utiliza el acrónimo NASH<sup>25</sup>, cuyas sílabas señalan cómo se ha producido la muerte de la persona querida: Muerte Natural, por Accidente, por Suicidio u Homicidio. Esto se ha utilizado para proporcionar una idea de la gravedad y las complicaciones del duelo, asociado a cómo se ha producido la muerte, en intensidad creciente que va desde la muerte por causas naturales, o por accidente, hasta la muerte como resultado de un suicidio u homicidio.

Las consecuencias psicológicas para las personas que han perdido a su ser querido son múltiples, las familias de los fallecidos por suicidio a menudo se avergüenzan de sí mismas, y en muchas culturas, son estigmatizadas socialmente.

Cuando una muerte se considera evitable, aparecen cuestiones relacionadas con la culpa. Las muertes evitables suelen estar asociadas a litigios prolongados y ello puede alargar el proceso de duelo de las personas implicadas<sup>26</sup>.

En estas y otras circunstancias, parece adecuado que evaluar el proceso de duelo es una cuestión fundamental, sobre todo en los primeros momentos donde es necesario saber si una persona está procesando un duelo normal o patológico o tiene riesgo de sufrirlo, si con sus potencialidades y apoyos sociales es suficiente o por el contrario es necesario prestarle ayuda especializada derivándolo a un servicio psicológico o de salud mental en general.

Se han revisado algunos de los cuestionarios de duelo publicados<sup>27-29</sup> y se ha seleccionado el Inventario Texas Revisado de Duelo. ITRD es el acrónimo del Inventario Texas Revisado de Duelo, versión adaptada al castellano del Texas Revised Inventory of Grief de Faschingbauer y cols.<sup>30,31</sup> Es de muy fácil aplicación y puede

puntuase directamente sin la utilización de plantillas ni material adicional, solamente con «lápiz y papel», tiene unas adecuadas propiedades psicométricas y es una prueba muy utilizada.

En los estudios publicados en España se han utilizado muestras de dolientes viudos y viudas con una edad bastante avanzada<sup>32-35</sup>, con lo cual los resultados de los mismos se pueden generalizar para este grupo de edad, quedando un vacío en cuanto a la investigación y valoración de posibles duelos complicados en población española adultos jóvenes y en población general.

En el ámbito de las Fuerzas Armadas en general hay una especial preocupación por la atención a las víctimas y a las personas que han perdido a sus seres queridos en actos de servicio, es de justicia reconocer el sacrificio de aquellos que fallecen o resultan heridos en acto de servicio, así como el de sus familias y compañeros lo que conlleva la obligación de velar por la mejor y más rápida recuperación integral de los heridos y de apoyar y amparar en todo lo posible a los que han perdido a uno de sus seres queridos, teniendo en cuenta que se trata de hechos que originan graves consecuencias de todo orden para los afectados y sus familias, acreedores de un especial apoyo y calor humano, no sólo con carácter inmediato, sino también en momentos posteriores. Esto queda reflejado en normas específicas y normalizaciones como los STANAG<sup>36</sup> de referencia. En las Fuerzas Armadas Españolas, la atención psicológica y de la sanidad militar en general se extiende a los profesionales de las mismas como a sus familiares, en el año 2004 se publicó el Real Decreto 2394/2004<sup>37</sup>, por el que se aprobaba el Protocolo para la recuperación, identificación, traslado e inhumación de los restos mortales de los fallecidos en operaciones fuera del territorio nacional, que a su vez señala los apoyos que deben tener los familiares, desde la sanidad militar (psicología y medicina). Recientemente se ha publicado la Orden Ministerial 71/2010<sup>38</sup> por la que se crea la Unidad de apoyo a heridos y familiares de fallecidos y heridos en acto de servicio de las Fuerzas Armadas, quedando de esta forma patente la especial preocupación por estos temas. Como suplemento técnico de esta normativa y consecuencia de la experiencia acumulada en el trabajo diario, parece importante poder realizar una medida objetiva del proceso de duelo en los familiares, compañeros y demás personas que han perdido a un ser querido, con esta intención se realizó el presente estudio.

## OBJETIVO

El objetivo del estudio es conseguir valorar psicométricamente el Inventario Texas Revisado de Duelo (ITRD), versión adaptada al castellano del Texas Revised Inventory of Grief de Faschingbauer y cols.<sup>30,31</sup>, adaptado en España por García y cols.<sup>35</sup>. Con una muestra de adultos jóvenes pertenecientes a las Fuerzas Armadas Españolas, estudiando si los datos se adaptan a lo descrito en la literatura.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Muestra

Se ha utilizado una muestra de adultos jóvenes militares, que se encontraban en periodo de formación en el Ejército del Aire, la participación fue voluntaria y anónima respondiendo al cuestionario pro-

**Tabla 1. Cómo fue el suceso**

Suceso	Frecuencia	Porcentaje
Suicidio	6	4,3
Accidente	26	18,4
Natural	97	68,8
Otras	12	8,5
Total	141	100,0

**Tabla 2. Matriz de componentes rotados**

	Componentes Rotados	
	Duelo actual	Duelo agudo
Item 1	0,072	0,805
Item 2	0,160	0,790
Item 3	0,123	0,718
Item 4	0,366	0,408
Item 5	0,297	0,636
Item 6	0,310	0,767
Item 7	0,296	0,503
Item 8	0,253	0,749
Item 9	0,730	0,326
Item 10	0,675	0,218
Item 11	0,542	0,183
Item 12	0,666	0,110
Item 13	0,690	0,313
Item 14	0,688	0,231
Item 15	0,554	0,280
Item 16	0,455	0,119
Item 17	0,621	0,222
Item 18	0,584	-0,026
Item 19	0,437	0,330
Item 20	0,545	0,191
Item 21	0,679	0,279

Método de extracción: Análisis de componentes principales. Método de rotación: Normalización Varimax con Kaiser.

**Tabla 3. Baremos: Percentiles y Cuartiles.**

	D. Agudo	D. Actual	D. Total
N Válidos	141	141	141
Percentiles	10	9,00	19,00
	20	10,40	23,00
	25	11,00	25,00
	30	12,00	27,00
	40	14,00	30,00
	50	16,00	32,00
	60	18,00	36,20
	70	21,00	40,00
	75	22,00	40,50
	80	23,00	42,00
	90	27,00	48,00
	99	35,16	62,48
			92,96

**Tabla 4.** *Descriptivos*

		N	Media	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
D. Agudo	varón	105	16,53	6,907	15,20	17,87
	mujer	36	18,44	7,093	16,04	20,84
	Total	141	17,02	6,980	15,86	18,18
D. Actual	varón	105	31,98	10,308	29,99	33,98
	mujer	36	37,08	11,108	33,32	40,84
	Total	141	33,28	10,713	31,50	35,07
D. Total	varón	105	48,51	15,251	45,56	51,47
	mujer	36	55,53	16,882	49,82	61,24
	Total	141	50,30	15,920	47,65	52,96

**Tabla 5.** *Fiabilidad.*

Alfa Cronbach	Faschingbauer 1981	García 1996	Samper
Agudo, pasado	0,77	0,75	0,86
Actal, Presente	0,86	0,86	0,879
Total	no	no	0,911

puesto en caso de haber sufrido la pérdida de una persona querida. La muestra fue de 141 sujetos, con mayor número de varones (74,5%) que de mujeres (25,5%), porcentaje superior a la representación de la mujer en el conjunto de las Fuerzas Armadas Españolas<sup>39</sup>

Se les comunicó a los participantes la intención de esta investigación y se les ha sugerido su participación en la misma de forma consentida.

Se marcaron unos criterios de inclusión con el fin de conseguir una muestra válida para el estudio, como la participación voluntaria, haber perdido a un ser querido, y que desde esta muerte hubiera transcurrido más de 1 mes (al principio el doliente está bloqueado) y menos de 3 años (hacia los 3 años el duelo se va estabilizando)<sup>32</sup> desde la muerte de la persona querida.

Como criterios de exclusión se tuvo en cuenta que la muestra había sido previamente seleccionada, pasando unas pruebas de selección para ingreso en las Fuerzas Armadas, en las que se eliminan por selección negativa los candidatos con posible deterioro mental o físico, y se eligen con un nivel intelectual adecuado, dentro de los criterios de normalidad, CI>80.

### Procedimiento

El procedimiento seguido para recoger los datos fue a través del cuestionario confeccionado al efecto, donde recogieron los ítems de la prueba ITRD., y el cuestionario de datos personales.

Para recoger las contestaciones de los sujetos se ha diseñado una hoja de lectora óptica, mediante la cual se realizará la lectura y explotación estadística de los datos, con un paquete informático de análisis estadístico SPSS 12.0 y con la hoja de cálculo Excel, de Microsoft.

### Descripción de la prueba utilizada

El inventario Texas Revisado de Duelo (ITRD) de Faschingbauer y cols<sup>30,31</sup> se elaboró en una población amplia y representativa de dolientes de EEUU (N=260 en un trabajo inicial y 328 en otro estudio replicación del primero), a partir de una versión ampliada de 59 ítems que incluía los 7 del Texas inicial. En esta ocasión, para la selección de los ítems se utilizó el análisis factorial; del análisis resultaron relevantes dos factores y se eliminaron todos los ítems que no saturaban 0,40 o más a cualquiera de ellos; quedando los 21 definitivos, agrupados, 8 en la parte I y 13 en la parte II.

La prueba en la actualidad consta 21 ítems con 5 categorías de respuesta (tipo Likert) -desde «completamente verdadera» (5 puntos) hasta «completamente falso» (1 punto)-, es autoadministrado y se rellena aproximadamente en 10 minutos. Para su evaluación se suman las puntuaciones de cada ítem y se calculan los totales de cada una de las dos partes del cuestionario. La primera parte de 8 ítems referida a la conducta y los sentimientos del doliente en los momentos posteriores cercanos a la muerte de la persona querida, denominada parte I (duelo agudo), cuya puntuación oscila entre 8 y 40; y la otra de 13 ítems, que hace referencia a los sentimientos actuales, denominada parte II (duelo actual), cuya puntuación oscila entre 13 y 65. Según sus autores permite agrupar a los dolientes en cuatro categorías: Ausencia de duelo, duelo retardado, prolongado y agudo. Es igualmente sensible a los cambios en el tiempo, tiene estudios de fiabilidad y validez, y al menos existen una versión en hispano<sup>39</sup> y otra en francés<sup>40</sup> además de la original. La prueba se completa con una puntuación total de la escala que se ha denominado duelo total, siendo el sumatorio de las partes descritas anteriormente.

A esta prueba se ha añadido un breve cuestionario de datos biográficos para recoger la información, necesaria para la demostración de las hipótesis propuestas en la literatura en los estudios realizados con la prueba, donde se pregunta sobre la edad, el sexo, la forma de fallecimiento, el tiempo transcurrido desde la pérdida de la persona querida

La edad de los sujetos en un 97.9% estuvo en el rango entre los 18 y los 30 años con 3 sujetos que superaron esta edad, que se dejaron en el estudio por estimar que no distorsionarían los resultados y sí añadirían datos con valor estadístico al estudio en general.

**Tabla 6.** Comparación.

	García 1996		Faschingbauer 1981		Grabowki y Frantz L. latinos y A. anglos				Samper	
	Media	Desv.	Media	Desv.	L. med	L. desv	A med	A desv	Media	Desv.
D. agudo	26,25	7,34	17,8	8,63	22,4	10	20,1	8,7	17,2	6,98
D. actual	51,91	10,21	37,1	16,73	49,2	12	39,6	14,3	33,28	10,71
D. total									50,3	15,92

**Tabla 7.** Distribución con referencia a percentil 50.

Duelo agudo P50 (16)	Duelo actual P50 (32)	Resultado
Alto	Alto	D. Prolongado
Alto	Bajo	D. Resuelto
Bajo	Bajo	D. Ausente
Bajo	Alto	D. Retrasado

**Tabla 8.** Tipo de duelo adaptado a la versión original Faschingbauer percentil 50.

	Frecuencia	Porcentaje
1 Ausente	1	0,7
2 Retrasado	5	3,5
3 Resuelto	7	5,0
4 Prolongado	128	90,8
Total	141	100,0

## RESULTADOS

### Diferencias en el proceso de duelo y en la forma del proceso

En este apartado se utilizó lo descrito en la literatura<sup>25</sup> haciendo referencia a cómo fue el fallecimiento de la persona querida: De forma natural, por accidente, por suicidio o por homicidio, este último apartado no tuvo ninguna repercusión no existiendo ningún fallecimiento por homicidio en la muestra estudiada, la mayoría de los fallecimientos y siguiendo con la argumentación realizada anteriormente, se produjo de forma natural en un 68,8%, seguido por los accidentes con un 18,4% y a mayor distancia por los suicidios con 4,3%, No se observó diferencias significativas en el análisis de esta variable.

Se puede observar las medidas de tendencia central y dispersión de varones y mujeres, en duelo agudo, actual y total, observándose que la medida de los varones en todos los casos quedó por debajo de la medida de las mujeres, las diferencias fueron significativas en las medidas de duelo en el momento de realizar la prueba, «duelo actual» y en la medida total de la prueba, «duelo total» ( $P < 0.05$ ).

Se observan las medidas de la prueba utilizada con diferentes muestras: La adaptación al castellano de García<sup>35</sup>, (viudos/as,  $n=118$ , tiempo desde la pérdida entre 3 meses y 3 años). La muestra original utilizada por Faschingbauer<sup>30</sup> (todo tipo de duelo,  $n=295$ , tiempo desde la pérdida entre 1 y 5 años). Y la versión en muestra de hispanos y anglos de Grabowski & Frantz<sup>40</sup> ( $n=100$ ). Y el estudio actual (adultos jóvenes,  $n=141$ ).

Las medidas de la prueba observadas en este estudio están más próximas a las medidas tomadas en el estudio original de la prueba de Faschingbauer<sup>31</sup> e incluso a la muestra de angloparlantes de Grabowski y Frantz<sup>40</sup>.

En este estudio se ha observado la recomendación de los autores originales de la prueba respecto a la diferenciación de duelos complicados: El autor en el manual de la prueba<sup>31</sup> hace una distribución de los afectados con respecto a su puntuación, diferenciándolos según se puede ver en la tabla 7. La denominación con relación a la puntuación en duelo agudo y duelo actual por encima

(Alto) o por debajo (Bajo) del percentil 50 (P50) de la prueba. Con esta distribución de puntuaciones se obtienen cuatro tipos de duelo: Duelo prolongado, es aquel sujeto que puntúa por encima de P50 en ambos momentos (Alto-Alto). Duelo resuelto, el sujeto que puntúa por encima de P50 en duelo agudo (Alto-Bajo). Duelo ausente, aquel sujeto que puntúa por debajo del P50 en ambos casos (Bajo-Bajo). Y por último el duelo retrasado corresponde al sujeto que puntúa por encima del P50 en el factor duelo actual (Bajo-Alto).

En la tabla 8 se puede observar la distribución de las puntuaciones obtenidas en este estudio, de esta forma se obtendría un 90,8% de sujetos clasificados como duelo prolongado, en oposición a una sola persona que puntuaría como duelo ausente 0,7%.

En una variación para clasificar a las personas evaluadas en este estudio, se ha tomado como referencia el percentil 99 (P99), elegido por consenso de expertos para este estudio por ser utilizado en la práctica del trabajo psicológico en las evaluaciones con muestras de población no clínica. Así se observa que únicamente una persona sobrepasa el P99 en los tres factores tenidos en cuenta en este estudio: Mujer con edad entre 18 y 31 años, con un proceso de duelo por la pérdida de un amigo de forma natural, por enfermedad grave, sin ningún tratamiento en salud mental.

### Adaptación psicométrica del instrumento. Distribución de las puntuaciones y Baremos

La escala mostró unos índices estadísticos adecuados (Kaiser Meyer Olkin, 0,878), para su factorización y (komogorov Smirnov) para su distribución normalizada, con lo que se podrá realizar los análisis con garantía estadística.

Se ha realizado un estudio de la carga factorial en la prueba, según se aprecia en la tabla 2, para ello se utilizó el método de factorización de análisis de componentes principales, varimáx con káiser, ajustado al estudio de los factores de duelo actual y duelo agudo, según indica la misma prueba, obteniéndose una distribución de las cargas similar a lo encontrado en otros estudios ya citados<sup>35</sup>, y en la versión original de Faschingbauer<sup>31</sup>

Se ha observado en los datos de factorización, que los ítems: 4, [factor 1 (0.366) y factor 2 (0.408)], y el ítem 19, [factor 1 (0.437) y factor 2 (0.330)]. Tenían cargas factoriales más aproximadas que otros ítems, en los dos factores, aunque la carga mayor era según lo esperado.

Para el análisis de la distribución de las puntuaciones en la escala se ha obtenido los percentiles, en ellas se ha observado las puntuaciones correspondientes a los percentiles para 11 grupos, incluyendo los cuartiles y el percentil 99, que se tomará como referencia de los duelos posiblemente complicados para población no clínica.

En el análisis de la fiabilidad de la prueba se observó unos índices de consistencia interna similares a los encontrados por otros autores tanto con muestras Españolas (García y cols<sup>35</sup>, viudos/as, n=118) como con muestras Internacionales (Faschingbauer y cols<sup>30,31</sup>, todo tipo de duelo, n=260), se encontró unos índices de consistencia interna (alfa de Cronbach) adecuados por encima de lo esperado (Alfa > .07) en todas las escalas, y superior en todos los casos a lo obtenido en los otros estudios.

En cuanto al índice de consistencia interna obtenido en la escala total no había datos de los otros estudios, pero se estima que podría estar en la misma dirección que lo observado en las subescalas. En el caso que nos ocupa se obtuvo un índice en la escala total alto (Alfa = 0.911).

### **Análisis de las diferencias en el proceso de duelo**

Tras la realización del estudio trasversal de los 141 sujetos adultos jóvenes, se ha observado algunas diferencias entre este estudio y algunos otros realizados con el mismo cuestionario y con diferente muestra en España y otros países.

La muestra es diferente a la encontrada en otros estudios con población Española, en los que la edad era ya avanzada, viudos y viudas que habían perdido a su pareja en los últimos estadios de la vida<sup>32</sup>.

También se han utilizado en otros trabajos como los de Olmeda MS<sup>18</sup>, un número similar de casos (n=150), pero seleccionados en una muestra que ya había consultado por tener problemas en la elaboración del duelo, que se denominan: «Población psiquiátrica ambulatoria». Siendo el rango de edad en este caso desde los 18 a los 82 años en el momento de la consulta, un rango muy amplio. En este caso considerando la muestra como población psiquiátrica, se espera una prevalencia del 25% de formas complicadas de duelo contrastado con la población general en que la prevalencia oscila entre el 4 al 6% según Clayton<sup>19</sup>.

Se considera que una de las primeras aportaciones de este estudio es la muestra analizada joven adulta, y correspondiente a personal de las Fuerzas Armadas Españolas.

### **Variable género**

En relación con la variable género, se han encontrado diferencias de medias en las dos subescalas y en la medida de duelo total, siendo mayores las puntuaciones observadas en mujeres que en hombres.

Se puede apreciar en los datos que son las mujeres las que muestran mayor puntuación, infiriendo por tanto que pueden tener más dificultades para superar el proceso de duelo. Esto entra en contradicción con otros estudios que mantienen una postura opuesta (Harvard study)<sup>24</sup>.

En los momentos cercanos a la pérdida las personas sufren una intensa emocionalidad y malestar, que tanto hombres como mujeres experimentan de forma similar. El perder a alguien querido, supone un sufrimiento igual para hombres que para mujeres, sin embargo pasado ese período inicial y posiblemente por las influencias culturales y de socialización, las mujeres muestran mayor dificultad para procesar esta dificultad. Este hecho puede estar relacionado con la dificultad mayor del varón para mostrar sus sentimientos, y puede que por este mismo motivo las mujeres consulten más que los hombres como señala Olmedo MS<sup>18</sup>. Lo que sí parece claro es que los hombres y las mujeres, tienen diferente forma de procesar el sufrimiento que provoca la pérdida de seres queridos, y que son las mujeres las que muestran mayores dificultades en comparación a los hombres, que parecen mostrar mejor ajuste psicológico.

Sería muy interesante para posteriores estudios analizar el sufrimiento de la persona y su expresión con relación a los valores culturales y sociales, relacionándolo con la variable género.

### **Forma del suceso**

La forma de producirse el fallecimiento e intentar explicar la relación entre este hecho y la medida de duelo observadas, ha sido un tema de interés en los estudios revisados, señalándose este hecho como uno de los factores de riesgo para la elaboración personal de los procesos de duelo<sup>20</sup>.

Las diferencias encontradas en este estudio no fueron significativas. No parece que la forma del suceso tenga valores discriminativos en este estudio. Una observación de los datos muestra que los fallecimientos producidos por accidentes tienen mayores consecuencias a lo largo del tiempo que otros sucesos, pudiendo provocar secuelas más traumáticas, aunque no son significativas las diferencias observadas, si sería de interés para posteriores estudios.

### **Estudio de la prueba: Inventario de Texas revisado de duelo (ITRD)**

Los ítems de la escala total se distribuyeron según especificaba la versión original, la medida de total de la prueba «duelo total» quedaba con una influencia mayor de la subescala duelo actual, en un 62% frente a un 38% de carga de la subescala de duelo agudo, este es uno de los motivos que ha hecho que se estudien las dos subescalas y la escala total de forma independiente, a la vez que se pueden obtener más conclusiones realizándolo de esta forma.

Los ítems de la prueba se distribuían en los dos factores rotados, de forma similar a lo encontrado en otros estudios de García ya citados, y en la versión original de Faschingbauer<sup>31</sup>, se puede decir que la distribución de los ítems fue adecuada en la muestra de jóvenes adultos, igual que lo observado en la literatura.

Algunos ítems requieren un estudio más profundidad. El ítem 4 (A veces le/la echo mucho de menos), correspondiente a la primera parte de la prueba, tiene una redacción diferente al resto, no incluye el preámbulo «Tras su muerte...», ni marca el momento temporal a qué se refiere, esto puede ser causa de que el ítem no tenga la definición factorial tan clara como el resto de ítems de la primera parte. Las personas que pierden a un ser querido, a lo largo del tiempo asimilan tales pérdidas integrándolas como parte de su vida, sin embargo si son preguntados sobre si echan de menos a su ser querido seguramente a veces le echan de menos, con lo cual este ítem que en principio, eva-

lúa el sentimiento de echar de menos a la persona querida, es un buen predictor del proceso de duelo, pero requiere de una evaluación más en profundidad y quizás de una nueva redacción. Algo similar ocurre con el ítem 19 (Las cosas y las personas que le rodean todavía me hacen recordarle/la) de la segunda parte de la prueba, evalúa el posible condicionamiento de cosas y personas que estaban asociadas antes y siguen asociadas ahora a la persona querida.

Por ello se cree que una revisión y un estudio en profundidad de los ítems en diferentes muestras de población o en población general serían muy adecuados para ir ajustando la prueba.

Una aplicación de esta escala podría ser detectar posibles duelos complicados, para esto es necesario realizar la distribución de las puntuaciones de los sujetos y baremar los resultados de la misma. En este estudio se hace un estudio de autbaremo de los 141 sujetos, observándose la distribución de las puntuaciones obtenidas y su distribución en percentiles, se ha estimado en este estudio que es importante el percentil 99 (P99), que se estima como índice de corte importante para detectar posibles duelos complicados, dado que la población de estudio es normal no clínica.

Tomando como referencia este percentil (P99) se establecen los límites en los que los deudos podrían estar procesando un duelo problemático, que en principio sería necesario revisar por un servicio especializado de psicología o psiquiatría. Estas medidas quedan fijadas en la primera parte «duelo agudo» en 35,16 puntos, en la segunda parte «duelo actual» en 62,48 puntos, y en la medida de la escala total en 92,96 puntos.

Este aporte estimado difiere de lo que aconsejan los autores originales de la prueba, Faschingbauer y cols<sup>31</sup>, que fijan el punto de corte en el percentil 50 (P50), y diferencian 4 grupos de duelo diferentes: Ausencia de duelo, duelo retrasado, prolongado, y resuelto. Tal como se observa en este estudio (tablas 7 y 8), un 90.8% de sujetos estarían clasificados como duelo prolongado y un 3.5% de sujetos estarían clasificados como un duelo retrasado, que pueden ser los procesos de duelo con problemas. Se puede inferir por tanto que son 133 sujetos los que pueden necesitar una revisión de caso, frente a únicamente 8 que han resuelto su proceso de duelo de forma adecuada (duelo ausente y duelo resuelto).

En contraposición, en la propuesta que se realiza en este estudio clasificando a los sujetos con un percentil de 99 (P99), se observaría un solo caso que podría necesitar atención especializada para superar su proceso de duelo. Siendo el perfil de este sujeto el que se describe: «Mujer con edad entre 18 y 30 años, con un proceso de duelo por la pérdida de un amigo por enfermedad grave, sin ningún tratamiento en salud mental, en el momento de realizar la evaluación». Queda para posteriores estudio con poblaciones diferentes y diferentes muestras clínicas perfilar el punto de corte ideal para identificar personas con posibles duelos complicados.

## DISCUSIÓN

En los estudios realizados, se tomó de referencia el estudio de García y cols<sup>32</sup>, y el realizado con la versión original de Faschingbauer y cols<sup>31</sup> y otra realizada con una muestra de Anglosajones de Grabwski y Frantz<sup>40</sup> para los análisis comparativos de la prueba.

Tras los estudios realizados del inventario de Texas, al compararlos con los estudios de García y cols<sup>33</sup> se encontraron algunas diferencias observándose:

Que la carga factorial en los dos factores obtenidos a través de la Matriz rotada de los ítems, era similar, obteniéndose unos índices de factorización en su mayor parte superiores a los del estudio de García y cols<sup>33-35</sup>.

En el análisis comparativo de la fiabilidad del tests con muestras Españolas de García y cols<sup>35</sup> y muestras Internacionales de la prueba original de Faschingbauer y cols<sup>31</sup>, se encontró unos índices (Alfa de Cronbach) adecuados de la escala, por encima de lo esperado (Alfa > .07) en todas las escalas, y superior en todos los casos a lo obtenido en los otros estudios.

En cuanto al índice obtenido en la escala total no había datos de los otros estudios, pero se estima que estará en la misma dirección que las subescalas, de duelo agudo y actual. En el caso que nos ocupa se obtuvo un índice muy importante (Alfa = 0.911).

En las medias de la prueba obtenidas en este estudio se observa que son similares a las obtenidas en la prueba original se Faschingbauer y cols<sup>31</sup>, incluso con unos índices de dispersión menores. Esto podría entra en contradicción a lo mencionado por García y cols<sup>33</sup>, en el sentido de que en las muestras de población hispana, por una posible aproximación cultural a la población Española, se espera obtener unos resultados similares. No encontrándose confirmación en este estudio, en el que se observa más aproximación a muestras originales de Faschingbauer y cols<sup>31</sup> y a muestras de Anglosajones de Grabwski y Frantz<sup>40</sup>.

Este hecho se puede interpretar por las diferencias en las muestras utilizadas, dado que en todos los caso son muestras clínicas, menos en el trabajo que nos ocupa y por ello se observa medidas de duelo, menos elevadas, que en estudios con población clínica.

También hay que tener en cuenta que al ser una muestra de población joven, existe una influencia tecnológica y cultural anglosajona importante, que la diferencia de otras muestras de más edad en las que esta influencia es menor.

Por todo lo explicado hasta este momento sería interesante contar con un número mayor de estudios e investigación en esta área tan importante y de tanta transcendencia en todas las culturas y en todos los tiempos.

## CONCLUSIÓN

Con este trabajo de interés para el enriquecimiento de los instrumentos de diagnóstico psicológico, de interés para ofrecer una atención más especializada en momentos difíciles para familiares, compañeros y amigos que han perdido a un ser querido, añadiendo un pequeño grano de arena a los estudios sobre el duelo y cómo medir este constructo. Quizás estos estudios ayuden para realizar una prevención eficaz y efectiva en las víctimas o para detectar posibles procesos de duelo complicados antes de que lleguen a producir más problemas a los deudos.

Se ha realizado una propuesta de clasificación de los procesos de duelo según la versión original de Faschingbauer y cols<sup>31</sup> y según los resultados obtenidos por este estudio que por supuesto requiere de más investigación y estudio, pero que se pueden tomar como referencia para posteriores trabajos.

Por este motivo parece necesaria la evaluación y estudio de pruebas tan específicas, dando a la vez un aporte más científico a sufrimientos que a pesar de acompañar a la condición humana desde siempre, cada vez demandan más atención en nuestras sociedades.

Este estudio se concluye con las siguientes afirmaciones:

- La prueba muestra análisis estadísticos adecuados, similares a los obtenidos en los estudios originales y los realizados en España, por lo que se considera una prueba psicométricamente adecuada para la medida del proceso psicológico por la pérdida de seres queridos, en una muestra de personal de las Fuerzas Armadas Españolas jóvenes adultos.
- Algunos ítems de la prueba pueden requerir un análisis y revisión para mejorar la prueba y su aplicación en todo tipo de población.
- La intensidad del duelo es mayor en mujeres que en hombres, y esta diferencia se incrementa con el paso del tiempo.
- La forma en que se produce la pérdida parece una variable importante en la literatura y requiere más investigación, en este estudio las diferencias no han sido significativas. Las pérdidas por accidentes pueden dejar más secuelas que otras pérdidas en este estudio.
- Se requiere una mayor investigación y estudio para obtener medidas y baremos adecuados del proceso de duelo, en población joven y general española no clínica.
- Parece que el perfil más sobresaliente (a pesar de la poca representación de las mujeres en este estudio) en cuanto a intensidad del proceso por la pérdida de seres queridos es de una mujer, sin ningún tratamiento en salud mental, y habiendo perdido a un ser querido por enfermedad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Holmes TH, Rahe RH. The Social Readjustment Rating Scale. *J Psychosom Res* 1967; 11: 213-8.
2. Instituto Nacional de Estadística (www.ine.es).
3. Zisook S, Shuchter SR. Depression through the first year after the death of a spouse. *Am J Psychiatry* 1991; 148:1346-52.
4. Jacobs S, Hansen F, Kasl S, Ostfeld A, Berkman I, Kim K. Anxiety disorders during acute bereavement: risk and risk factors. *J Clin Psychiatry* 1990; 51: 269-74.
5. Maddison D, Viola A. The health of the widows in the year following bereavement. *J Psychosom Res* 1968; 12: 297-306.
6. Parkes CM. Effects of bereavement on physical and mental health—a study of the medical records of widows. *Brit Med J* 1964; 274-9.
7. Jacobs S. *Traumatic Grief: Diagnosis, Treatment, and Prevention*. Philadelphia: Taylor&Francis; 1999. p 89-101.
8. Kaprio J, Koskenvuo M, Rita H. Mortality after bereavement: a prospective study of 95,647 widowed persons. *Am J Public Health* 1987; 77: 283-7.
9. López M, Ela M, Bartolomé N, Gómez J, García-García JA. Is the use of the health care system increased by grief?. *Proceedings of the 7<sup>th</sup> Congress of the European Association for Palliative Care*; 2001 April 1-5; Palermo, Italy. Milano: EAPC; 2001. p.157.
10. García-García JA, Landa V, Trigueros MC. El proceso de duelo en atención primaria. En: De la Revilla L, ed. *Libro del Año de Medicina Familiar y Comunitaria* 1995. Madrid: Saned, 1995.
11. Harris T, Kendrick T. Bereavement in general practice: a survey in South Thames Health Region. *Br J Gen Pract* 1998; 1560-4.
12. Saunderson EM, Ridsdale L. General Practitioner' beliefs and attitudes about how to respond to death and bereavement: qualitative study. *BMJ* 1999; 319: 293-6.
13. Zisook S, & Shuchter, S. R. (1985). The first four years of widowhood. *Psychiatric Annals*
14. Horowitz MJ, Weiss DS, Kaltreider N, Krupnick J, Marmar CH, Wilner N et al. Reactions to the death of a parent. Results from patients and field subjects. *J Nerv Ment Dis* 1997.
15. Prigerson HG, Maciejewski PK, Reynolds III ChF et al. Inventory of complicated Grief: A scale to measure maladaptive symptoms of loss. *Psychiatr Research* 1995;59:65-79.
16. Raphael, B. & Martinek, N. (1993) Assessing traumatic bereavement and post-traumatic stress disorder. In J. Wilson and T. Keane, (Eds.)
17. Barreto P, Soler MC. (2007) *Muerte y Duelo*. Madrid. Síntesis
18. Olmeda MS. El duelo en un Centro de Salud Mental. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. 2000.
19. Clayton PJ, Desmarais L, Winokur G. A study of normal bereavement. *Am J Psychiatry* 1968;125:168-178.
20. Parkes CM. Coping with loss. Bereavement in adult life. *BMJ*;856-9 1998.
21. Bowlby J. La pérdida afectiva. Barcelona: Ed. Paidós; 1993.
22. Parkes CM. Bereavement. *Studies of grief in adult life*. 3<sup>a</sup> ed. London. & New York: Routledge ;1996.
23. Stroebe, W. y Stroebe, M. (1987), *Bereavement and health. psychological and physical consequences of partner loss*. Cambridge, Cambridge University press.
24. Tizón J. Pérdida, Pena y Duelo, Editorial Pirámide. 2001, 2002, 2004.
25. Worden JW. Grief counselling and grief therapy. A handbook for mental health practitioner. London: Routledge; 1991. Traducido al castellano: Tratamiento del duelo: asesoramiento psicológico y terapia. Barcelona: Paidós 2002.
26. Camino, L., Sewell, K y Easterling, L. (2000), «Scott and White grief study—phase 2: Toward an adaptive model of grief». *Deatt 5/ud/es*, nº 24.
27. Jacobs SC. Measures of the psychological distress of bereavement. En: Zisook S, editor. *Biopsychosocial aspects of bereavement*. Washington: American Psychiatric Press; 1987. p.127-38.
28. Gabriel RM, Kirschling JM. Assessing grief among bereaved elderly: a review of existing measures. *Hosp J* 1989; 29-54.
29. Hansson RO, Carpenter BN, Fairchild SK. Measurement issues in bereavement. En: Stroebe MS, Stroebe W, Hansson R, editores. *Handbook of bereavement: Theory, research and intervention*. Cambridge: Cambridge University Press; 1993. p. 62-74.
30. Faschingbauer TR, De Vaul RA, Zisook S. Development of the Texas Inventory of Grief. *Am J Psychiatry* 1977; 134: 696-8.
31. Faschingbauer TR. *Texas Revised Inventory of Grief manual*. Houston: Honeycomb Publishing; 1981.
32. García-García JA, Landa V, Trigueros MC, Calvo P, Gaminde I. El duelo por la pérdida del cónyuge: un estudio mediante grupos de discusión en atención primaria. *Aten Primaria* 1996.
33. García-García JA. How applicable are Anglo/American concepts of bereavement care in palliative care settings in Spain?. En: *Proceedings of the 5<sup>th</sup> Congress of the European Association for Palliative Care*; 10-13 September 1997; London, U.K. London: European Association for Palliative Care; 1997.
34. García-García JA, Landa V, Trigueros MC, Gaminde I. Inventario de Experiencias en Duelo (IED): adaptación al castellano, fiabilidad y validez. *Aten Primaria* 2001.
35. García-García JA, Landa V. ¿Es posible medir el duelo?: adaptación al castellano y validación del Inventario de Experiencias en Duelo (IED) y del Inventario Texas Revisado del Duelo (ITRD). II Congreso Virtual de Psiquiatría, 2001.
36. STANAG 2132 (MED), sobre documentación relativa a evacuación, tratamiento y causa de muerte de pacientes (solo en Operaciones lideradas por OTAN).
37. Real Decreto 2394/2004, de 30 de diciembre, por el que se aprobaba el Protocolo para la recuperación, identificación, traslado e inhumación de los restos mortales de los fallecidos en operaciones fuera del territorio nacional.
38. Orden Ministerial 71/2010, de 15 de diciembre, por la que se crea la Unidad de apoyo a heridos y familiares de fallecidos y heridos en acto de servicio de las Fuerzas Armadas.
39. Fernández Vargas, V. (2009). El proceso de incorporación de la mujer a las Fuerzas Armadas en España. Pasado, presente y futuro. En M. Gómez e I. Sepúlveda (eds.): *Las mujeres militares en España (1988-2008)*, 95-115. Madrid: IUGM-UNED.
40. Grabowski J, Frantz TT. Latinos and anglos: cultural experiences of grief intensity. *Omega* 1992-93; 26: 273-285.

## Otra información de interés

- Broggi, M.A., Llubia, C. y Trelis, J. (2006). *Intervención médica y buena muerte*. Madrid: Fundación Alternativas (www.fundacionalternativas.org)
- Gracia, D. y Rodríguez Sandín, J.J., eds. (2006). *Ética en cuidados paliativos*. Madrid: Fundación de Ciencias de la Salud (www.fcs.es)
- Hastings Center (2005). Los fines de la medicina (www.fundaciongrifols.org).
- Llibrería virtual especializada en libros sobre la muerte y el duelo (www.alfinlibros.com )
- National Consensus Project (2004). *Clinical practice guidelines for quality palliative care* (www.nationalconsensusproject.org).

## Metilmercurio en el cabello de población infantil

Llorente Ballesteros M<sup>a</sup>T.<sup>1</sup>, Vírveda Chamorro I.<sup>1</sup>, Peral Jiménez R.<sup>2</sup>, Sanz Grimaldi M<sup>a</sup>J.<sup>3</sup>, Ruiz Tejada M<sup>a</sup>A.<sup>4</sup>, López Colón JL.<sup>5</sup>

*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 299-303; ISSN: 1887-8571*

### RESUMEN

**Introducción:** El metilmercurio (MeHg) es el compuesto orgánico del mercurio más abundante en el medio ambiente. Éste, es un potente neurotóxico, capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y placentaria. Incluso a niveles bajos, puede originar alteraciones en el SNC que afectan a los procesos del desarrollo feto- infantil. La principal fuente de exposición a MeHg es la ingestión de pescado contaminado. **Objetivos:** La US EPA (Agencia de protección del medio ambiente USA) recomendaba unos niveles de MeHg en pelo de 1 µg/g, mientras que la JEFSA (FAO/OMS) establecía unos niveles de seguridad de MeHg en pelo de 2,2 µg/g. Dado que España es un gran consumidor de pescado y la vulnerabilidad fetal e infantil al MeHg, se proyectó este estudio de MeHg en cabello de población infantil de la Comunidad de Madrid. **Material y Métodos:** Participaron 472 niños, categorizados por edades de: 0-5, 6-10, 11-15 y mayor de 15 y por frecuencia de consumo de pescado semanal (clasificación basada en un cuestionario individualizado de cuatro opciones: no consumidores, consumen 1-2 veces/ semana, consumen 3-4 v/s, consumen más de 4 v/s). Los análisis se hicieron por Espectroscopía de Absorción Atómica y vapor frío. **Resultados:** Del estudio estadístico con SPSS, se obtuvieron diferencias significativas, en los niveles de MeHg en pelo, entre los que consumen más de 4v/s y los que no consumen (0,68 vs 2,34 µg/g). Las medianas obtenidas para las distintas categorías de edad fueron: 0,53 µg/g, 1,01 µg/g, 1,56 µg/g y 0,93 µg/g. **Discusión:** En estudios similares se establece que con bajo o ningún consumo de pescado los valores de mercurio en pelo son inferiores a 0,5 µg/g. Por el contrario, en España, por tener una dieta rica en consumo de pescado, los niveles de mercurio son superiores con una concentración mínima superior a esa cifra. **Conclusión:** El estudio concluye que, al menos un 2,5% de la población infantil de la CAM, excede los límites de seguridad recomendados por la JEFSA (FAO/OMS) y aproximadamente un 30% supera los límites de seguridad para el MeHg en pelo establecidos por la US EPA.

**PALABRAS CLAVE:** Mercurio, Metilmercurio, Cabello, Niños, Pescado.

### Methylmercury in the hair of a children population

#### SUMMARY:

**Introduction:** The methylmercury (MeHg) is the most abundant organic compound of mercury in the environment. This is a strong neurotoxic which is able to cross the blood-brain and the placental barriers. Even at low levels, it can originate alterations in the brain that affect the processes of the fetus - children development. The main source of MeHg is the intake of contaminated fish. **Objectives:** The EPA (US Environmental Protection Agency) recommended MeHg levels in hair of 1 µg/g, while the JECFA (FAO / OMS) established safety levels of MeHg in hair of 2,2 µg/g. This study of MeHg in hair was carried out in the Region of Madrid's young population because Spain is a great fish consumer, and due to the fetal and children vulnerability to MeHg. **Material and methods:** 472 children participated, They were categorized by age and by frequency of weekly fish consumption. The age categories were the following: 0-5, 6-10, 11-15 and older than 15, and the frequency of weekly fish consumption was based on an individualized questionnaire with four options (non consumers, consume 1-2 times / week, consume 3-4 t/w, consume more than 4 t/w). The analyses were made by Cold Vapor Atomic Absorption Spectroscopy. **Results:** The study carried out with SPSS shows significant differences in the levels of MeHg in hair, among those that consume more than 4 t/w, and those that do not consume (0,68 vs 2,34 µg/g). The median obtained for the different age categories were: 0,53 µg/g, 1,01 µg/g, 1,56 µg/g and 0,93 µg/g. **Discussion:** Similar studies in countries with low or no consume or fish show that hair mercury levels are below 0.5 µg/g. In contrast, in Spain, because its diet rich in fish, the lowest hair mercury levels are higher than that figure. **Conclusion:** The study concludes that, at least 2,5% of the children population of the Region of Madrid exceed the limits of safety recommended by JECFA (FAO / OMS) and approximately 30% exceed the limits of safety for MeHg in hair establish by US EPA.

**KEY WORDS:** Mercury, Methylmercury, Hair, Children, Fish.

### INTRODUCCIÓN

La ATSDR 1997 (Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades) considera al mercurio como el tercer elemento en el ranking de sustancias peligrosas inmediatamente detrás del plomo y el arsénico<sup>1,2</sup>.

El mercurio (Hg), metal pesado, está presente en el medio ambiente en diferentes formas: mercurio elemental o metálico (Hg<sup>0</sup>), mercurio inorgánico Hg (I) y Hg (II) y mercurio orgánico, formando los compuestos (metil, etil y fenilmercurio). Las diferentes formas

<sup>1</sup> Cte. Farmacéutico.

<sup>2</sup> Cte Cuerpo General Ejército de Tierra.

<sup>3</sup> Diplomado Universitario en Enfermería.

<sup>4</sup> Técnico Especialista en Laboratorio.

<sup>5</sup> TCol Farmacéutico.

Instituto de Toxicología de la Defensa. Madrid. España.

**Dirección para correspondencia:** María Teresa Llorente Ballesteros. Instituto de Toxicología. Edificio Cuidados Mínimos del Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Glorieta del Ejército s/n. 28047 Madrid. [mlllobal@oc.mde.es](mailto:mlllobal@oc.mde.es)

Recibido: 28 de junio de 2010

Aceptado: 17 de enero de 2011

del mercurio están sujetas a interconversiones principalmente a través de procesos de oxidación-reducción y metilación-desmetilación, procesos que determinan el llamado «ciclo del mercurio»<sup>3</sup>.

El compuesto orgánico del mercurio más abundante en el medio ambiente, es el metilmercurio (MeHg), el cual es generado por los microorganismos (bacterias metanogénicas) mediante el proceso de metilación<sup>4</sup>.

El metilmercurio (MeHg) es tristemente conocido por su neurotoxicidad, debido a los envenenamientos a los que dio lugar en Minamata (Japón) en los años 50, cuando se vertieron en su bahía subproductos orgánicos de MeHg, y en Iraq en 1970, cuando fueron utilizados pesticidas a base de mercurio que causaron graves alteraciones neurológicas, particularmente en niños expuestos en el útero materno, dado que es capaz de atravesar las barreras placentarias y hematoencefálicas; originando parálisis cerebral, ceguera, sordera, retraso mental...<sup>5</sup>

Más recientemente, diferentes estudios epidemiológicos en las islas Feroe y Nueva Zelanda han confirmado que la exposición, incluso a niveles bajos de metilmercurio, origina también alteraciones en el sistema nervioso que afectan a los procesos del desarrollo feto/infantil (memoria, atención, aprendizaje...)<sup>6-8</sup>.

Numerosos estudios adicionales de exposición dietética en humanos realizados en diferentes comunidades: Canadá, Madeira (Portugal), Amazonia (Brasil), Nuevo Méjico, Perú, Japón, Camboya, Suecia..., han evidenciado efectos adversos en el desarrollo neurológico de los niños a bajas dosis de MeHg<sup>9-14</sup>.

La principal fuente de exposición a metilmercurio es la ingestión de pescado contaminado, tanto de agua dulce como de salada y algunos mamíferos marinos. El MeHg tiene una rápida difusión y se une a las proteínas de las algas, plancton y otros microorganismos inferiores, éste, se biomagnifica y bioacumula en la cadena alimentaria acuática. Lo anterior motiva que sean los peces que se encuentran en el nivel trófico superior, los llamados predadores, los que posean niveles mayores de mercurio (tiburón, pez espada, caballa, atún grande, lucio, etc.)<sup>15</sup>.

### Comités internacionales. Problema de Salud Pública

Basándose en los informes preliminares de los estudios epidemiológicos, llevados a cabo en las islas Feroe, la organización FAO (Organización para la Agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) conjuntamente en el Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) redujeron el valor del PTWI (Ingesta Tolerable Semanal Provisional) de MeHg, de 3,3 µg/kg peso/semana (JECFA 1978) a 1,6 µg/kg peso/semana (JECFA 2003). Estos valores se corresponden con unos niveles de mercurio en pelo de 2,2 µg/g<sup>16-17</sup>.

Así mismo, la US-EPA (Agencia de Protección del Medio Ambiente de los EEUU), estableció la Dosis de Referencia de Ingestión de MeHg (RfD) en 0,1 µg/kg peso/día (US-EPA 1997). Estos valores se corresponden con unos niveles de mercurio en pelo de 1 µg/g<sup>18-20</sup>.

La Comisión Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA) recomendaba en 2004, tener en cuenta el consumo de mercurio a través del pescado en los grupos vulnerables (mujeres embarazadas, madres lactantes y niños) pues su ingesta, gracias al MeHg que contienen, podría aumentar el riesgo de lesión en el SNC (Sistema Nervioso Central) fetal e infantil. En 2008 este mismo organismo reco-

mendó a las mujeres en edad fértil, embarazadas, madres lactantes y niños, «comer menos de 100g por semana de pescados predadores». Esta institución, insta a cada país a regular en su legislación el consumo de pescado en los grupos vulnerables<sup>21-22</sup>.

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN)<sup>23</sup> hizo suya la guía de recomendaciones establecidas por la OMS, junto con la UNEP (Programa de Medio Ambiente de las Naciones Unidas) en 2008, que informa sobre el potencial impacto de la exposición a mercurio en las poblaciones más vulnerables.

### OBJETIVOS

Basándose en estimaciones nutricionales obtenidas a partir de encuestas de población (NHANES- Nacional Health and Nutrition Examination Survey -NCSH 03), se cree que, en la actualidad, aproximadamente el 7 % de las mujeres fértiles de EEUU consume cantidades de MeHg superiores a las consideradas seguras por la US EPA 1997 y NRC 2000<sup>24-27</sup>.

España cuenta con un elevado consumo de pescado, aproximadamente 70g/persona (Martin 2002)<sup>28</sup>, situada, esta cifra, muy por encima del promedio de la Unión Europea (10 g/persona en los Países Bajos a 80 g/persona en Noruega.) (EFSA 2004). Por ello y teniendo en cuenta que:

- I.- Estos parámetros hacen referencia a una población adulta.
- II.- El mayor consumo por Kg de peso se da en los niños<sup>29</sup>.
- III.- Es el pescado un elemento destacado en la dieta Mediterránea<sup>30-32</sup> y
- IV.- La mayor vulnerabilidad fetal e infantil a la exposición al MeHg.

Se puede predecir que muchos de nuestros niños ingieren una cantidad de MeHg que supera los límites de Seguridad recomendados por la US EPA y por la JECFA (FAO/OMS)<sup>33-35</sup>.

Sobre lo anteriormente expuesto, y dado que el Hg en pelo, es el biomarcador preferido para evaluar la exposición a Hg en periodos largos de tiempo. Se proyectó este estudio para investigar el contenido de MeHg en el pelo de población infantil de la Comunidad de Madrid.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Población estudio

Se realizó un estudio descriptivo transversal.

La población de la Comunidad de Madrid según el padrón municipal de 2009 es de 6.386.000. En ésta, la población infantil/juvenil menor de 18 años es aproximadamente de 1.255.000.

La selección de la muestra se llevó a cabo de forma consecutiva no probabilística a partir de tres colegios elegidos al azar en la Comunidad de Madrid.

Para el estudio, se elaboró un cuestionario de frecuencia de consumo de pescado semanal, en el que se solicitaban además otras variables: edad, sexo, peso, talla y posibles patologías en el periodo comprendido entre abril de 2008 a diciembre de 2009.

Se contactó directamente con cada uno de los niños y para su inclusión en el estudio los padres y/o responsables dieron su auto-

# Metilmercurio en el cabello de población infantil

**Tabla 1.** Mercurio total en pelo ( $\mu\text{g/g}$ ) en población infantil.

	Núm. casos	Media	Percentil 25	Percentil 50	Percentil 75
No consumen pescado	39	0,88	0,26	0,68	1
1-2 veces semana	225	1,17	0,43	0,85	1,38
3-4 veces semana	172	1,42	0,63	1,09	1,75
Mayor de 4 veces semana	22	3,67	1,32	2,34	3,5

**Tabla 2.** Diferencia de Hg ( $\mu\text{g/g}$ ) en pelo en distintos grupos de edad en relación al consumo de pescado.

Consumo	1 a 5 años		6 a 10 años		11 a 15 años		Mayores de 15	
	Hg	MeHg	Hg	MeHg	Hg	MeHg	Hg	MeHg
Superior a 4 veces por semana	1,87	1,5	3,3	2,64	1,98	1,58	2,75	2,2
No Consumen	0,5	0,4	0,7	0,56	0,68	0,54	0,59	0,47

\* El MeHg es estimado como el 80% del Hg

rización mediante consentimiento informado. El número de participantes fue de 472, agrupados en cuatro categorías: de 0 a 5, de 6 a 10, de 11 a 15 y mayores de 15 años.

## Recolección de muestras (cabello)

Para el ensayo fue requerido un mínimo de 5-10 mg de pelo. La recolección se realizó cortando de la región occipital, lo más cercano a la raíz, un mechón de cabello del diámetro aproximado de un lápiz<sup>36,37</sup>. Cada muestra se introdujo en un envase aséptico de plástico. Posteriormente se envió al laboratorio para su análisis.

## Análisis de muestras

Las muestras fueron pretratadas con una solución de acetona y lavado posterior con agua MiliQ para evitar posibles contaminaciones. Seguidamente fueron sometidas a un proceso de digestión ácida con un mezcla de sulfúrico y nítrico (30:70) y digeridas en estufa a ( $60^\circ \pm 5^\circ$ ) por un periodo de 16 horas.

La metodología empleada fue espectroscopía de absorción atómico y vapor frío con un equipo de la casa comercial Perkin Elmer mod. FIMS 400.

Las muestras fueron medidas por triplicado y aceptadas cuando la repetibilidad de las medidas era menor al 10%.

## Estadística

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS (V-15). Para el tratamiento de los datos, la variable frecuencia de consumo de pescado se dividió en las siguientes categorías: no consumidores, consumidores de una o dos veces por semana, consumidores de tres o cuatro veces por semana y consumidores de más de cuatro veces.

El análisis descriptivo de la muestra nos hizo ver que se trataba de una distribución no normal. Como estadísticos descriptivos se seleccionaron, por tanto, la mediana y los percentiles.

Se utilizaron pruebas no paramétricas: U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para el análisis de los datos.

## RESULTADOS

De los 472 participantes, un 97% fueron válidos.

En la tabla 1, se muestran los percentiles 25, 50 y 75, así como las medias aritméticas que fueron incluidas para poderse comparar con otros resultados de la bibliografía consultada<sup>9, 25, 38</sup>.

Se observa la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), entre el mercurio que existe en los no consumidores de pescado y aquellos que consumen más de cuatro veces por semana ( $0,68 \mu\text{g/g}$  vs  $2,34 \mu\text{g/g}$ ). Así mismo, esto se verifica en los distintos grupos de edad.

## DISCUSIÓN

Se ha elegido la muestra de cabello para determinar el Hg, dado la facilidad de su obtención, y porque es considerado el biomarcador más adecuado para evaluar la exposición al Hg en prolongados periodos de tiempo (NRC-2000).

Considerando los estudios similares llevados a cabo en otros países, se ha establecido que el Hg en poblaciones que no consumen pescado o bien lo consumen con muy escasa frecuencia presentan valores de Hg en pelo inferiores a  $0,5 \mu\text{g/g}$ .

Por el contrario, países como España con una dieta rica en pescado manifiestan unos valores de Hg en pelo superiores, como se significa en este estudio<sup>39,40</sup>:

- Niños de 1 a 5 años, mediana:  $0,53 \mu\text{g/g}$
- Niños de 6 a 10 años, mediana:  $1,01 \mu\text{g/g}$
- Niños de 11 a 15 años, mediana:  $1,56 \mu\text{g/g}$
- Niños mayores de 15 años, mediana:  $0,93 \mu\text{g/g}$

Una limitación al estudio puede encontrarse en el menor número de niños presentes en los grupos que no consumen pescado y en aquellos que consumen pescado más de 4 veces semana, no alcanzándose en estos casos el tamaño muestral idóneo.

## CONCLUSIÓN

Se ha podido verificar que al menos un 2,5% (31.000) de la población infantil de la Comunidad de Madrid, excede los límites de

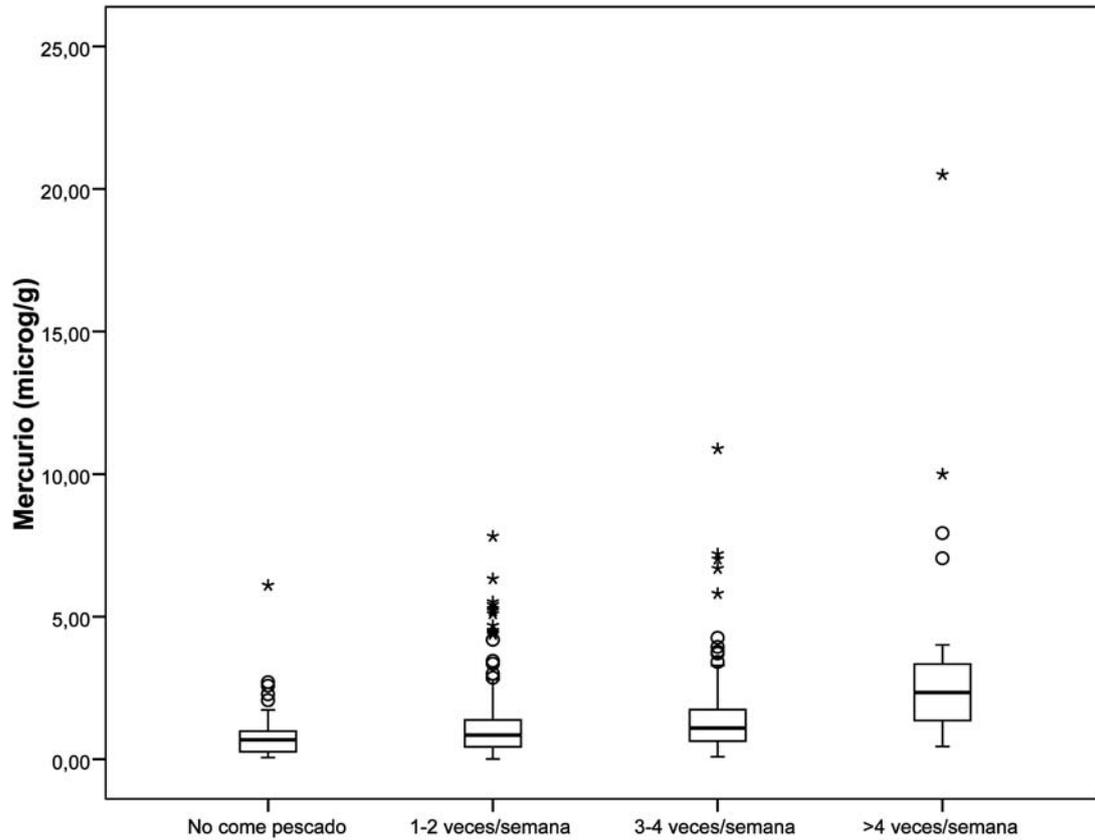


Figura 1. Box plot representando la concentración de Hg en pelo en relación al consumo de pescado.

seguridad recomendados por la JECFA (FAO/OMS) en 2,2 µg/g y un porcentaje muy superior a éste, llegando a alcanzar el 30% (376.500 menores de 18 años) supera los límites de seguridad para el MeHg, establecidos por la US EPA en 1 µg/g.

## BIBLIOGRAFÍA

1. ATSDR (U.S.Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for mercury: A National review of exposure events: 2009.
2. ATSDR (U.S.Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for mercury: 1999.
3. Clarkson TW. The toxicology of mercury. Crit. Rev. Clin Lab Sci 1997;34:369-403.
4. González F, Schalscha E, Becerra J, Silva M. Mercury in a marine trophic chain. Bull Environ Contam Toxicol. 2002;68:448-454
5. Trasande L, Landrigan P, Schechter C. Public Health and economics consequences of methylmercury toxicity to the developing brain. Environ. Health Persp 2005; 113: 5.
6. Grandjean P. late insights into early origins of disease. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2008;102:94-9.
7. Grandjean P, Weihe P, White RF, debes F, Araki S, Yokoyama K, et al. Cognitive deficit in 7- year – old children with prenatal exposure to methylmercury. Neurotoxicol Teratol 1997; 19: 417-28.
8. Holmes P, James K.A.F, Levy L. S. Is low- level environmental mercury exposure of concern to human health. Scienc. of the Total Environment.
9. Becker k, Kaus S, Krause C, Leopon P, Schulz C, Seiwert M, et al 2002. German Environmental survey 1998(Ger ES III): environmental pollutants in blood of German population . Int J Hyg Environ health 205:297-3008.
10. Bjornberg K A, Vahter M, Grawe k.P, Berglund M. 2005. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. Sci Total environ 341:45-52.
11. Innis SM, Palaty J, Vaghri Z, Lockith G. 2006. Increased levels of mercury associated with high intakes among children from Vancouver. Canada J. Pediatr. 148:759-763.
12. Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Weihe P, Dakeishi, Iwata T, Liu X, Ohmo T, Kurosawa T, Kamiya K, Satoh H. Effects of methylmercury on neurodevelopment in Japanese children in relation to the Madeira Study. Int. Arch. Occup.Environ Health 2004; 77: 571-579.
13. Tetsuro a, Kunito T, Iwata H, Monirith I, Seang Tana T, Subramanian A, Tanabe S. Mercury contamination in human Hair and fish from Cambodia: levels, specific accumulation and risk assesment. Environmental Pollution 2005; 134: 79-86.
14. Tetsuya E, Koichi H. Hair Mercury Levels in hair samples from residents of Taiji, a Japanese whaling town. Marine pollution Bulletin 2009; in press.
15. Hightower J, Moore D, Mercury levels in high-End consumers of fish. Environ. Health Persp 2003; 111: 2.
16. JECFA (Joint Food and Agriculture Organization of the United nations/world Health Organization (FAO/OMS). Expert Committee on Food Additives).Sixty seven meeting in Rome 20-29 June 2006.
17. WHO (World Health Organisation International Programme on Chemical Safety). Methylmercury (addendum); 2004.
18. US EPA (US Environment Protection agency)Mercury Study Report to Congress; 1997.
19. WHO (World Health Organisation). Exposure a Mercury: a major public health concern;2007.
20. Yasutake A, Matsumoto m, Yamaguchi N, Hachiya N. Current hair mercury levels in Japanese for estimation of methylmercury exposure. J. health Sci 2004; 50: 120-125.
21. European Commission Directorate General Environment. Mercury. European Commission DG Env; 2009.
22. European Commission Directorate General Environment. Methyl mercury in fish and fishery products; 2008.

## Metilmercurio en el cabello de población infantil

23. Agencia española de Seguridad Alimentaria (AESAs). Nota informativa de la AESA (17-06-04) sobre mercurio y metil mercurio en productos pesqueros. Ministerio de Sanidad y Consumo España .AESAs, Madrid 17 junio 2004.
24. Mahaffey K, Clickner R, Bodurow C. Blood organic mercury and dietary mercury intake: National health and nutrition examination survey, 1999 and 2000. *Environmental Health Perspectives* 2004; 112: 5.
25. McDowell M, Dillon C, Osterloh J, Bolger P, Pellizari E, Fernando R, Monytes de Oca R, Schober S, Sinks T, Jones R, Mahaffey K. Hair Mercury Levels in US Children and women of childbearing age: Reference range data from NHANES 1999-2000. *Environ. Health Persp* 2004; 112: 11.
26. National Research Council. Toxicological effects of methylmercury . A report of the Committee on the toxicological Effects of Methylmercury, Board on Environmental studies and Toxicology. Washington , DC: National Academy Press 2000.
27. NCHS.2003. national health and Nutrition examination survey. Hyattsville, Md: National Center for Health Statistic.
28. Martin VJ. 2002. Consumo de productos de la pesca. Distribución territorial. Distribución y consumo. 65:73-79.
29. Sahuquillo I, Lagarda MJ, Silvestre MD .Methyl mercury determination in fish and seafood products and estimated daily intake for the Spanish population. *Food Addit Contam* 2007;24:869-876.
30. Ortega JA, Ferris J, Cánovas A, García J. Neurotóxicos medioambientales (y II). Metales: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y posnatal. *Acta Pediatric Esp*. 2005; 63: 182-192.
31. Rubio C, Gutierrez A, Burgos A, Hardisson. Total dietary intake of mercury in the canary Islands, Spain *Food Additives and Contaminants*2008; 25: 946-952.
32. UrietaI, Jalón M, Eguilero I. Food surveillance in Basque country (Spain). *Food Addit Contam*. 1996;13:289-352.
33. Martí-Cid R, Llobet JM, Castell, Domingo JL. Dietary intake of arsenic, cadmium, Mercury and lead by the population of Catalonia, Spain. *Biol Trace Elem Res* (2008) 125:120-132.
34. Ortega-García JA, Rodríguez K, Calatayud M, Martín M, Velez D, Devesa V, Sánchez-Alarcón C, Torres A, Galindo C, Gil-Vázquez JM, Sánchez M, Sánchez Solís M, Alfonso B, Romero F. Estimated intake levels of methyl mercury in children, childbearing age and pregnant women in a Mediterranean region, Murcia, Spain . *Eur J. Pediatr* 2009; 168:1075-1080.
35. Sanzo JM, Dorronsoro M, Amiano P, Aguinagalde F, Azpiri P. Estimation y validation of mercury intake associated with fish consumption in an EPIC cohort of Spain. *Public Health Nutr*. 2001; 4: 981-988.
36. Srogi K. Mercury content of Hair in different populations relative to fish consumption. *Rev Environ Contam Toxicol* 2007: 189: 107-130.
37. Cernichiari E, Brewer R, Myers GJ, Marsh DO, Laphan LW, Cox C. Monitoring methylmercury during pregnancy: maternal hair predicts fetal brain exposure. *Neurotoxicology* 1995;16: 705-710.
38. Grandjean P. Methylmercury toxicity and functional programming. *Reprod Toxicol* 2007;23:414-20.
39. Moreiras O, Cuadrado C, Kumpulainen JT, Carbajal A, Ruiz-Roso B. Intake of contaminants, heavy metals and nutrients with potential toxicity via total diet in four geographical areas of Spain. *FAO regional Office for Europe, REU Technical series 49. Trace elements, natural antioxidants and contaminants in European foods and diets . Rome: FAO,1996; 59-92.*
40. Schumacher M, Batiste J, Bosque MA, Domingo JL, Corbella J. Mercury concentrations in marine species from the coastal area of Tarragona province, Spain . Dietary intake of mercury through fish and seafood consumption. *Sci Total Environ*. 1994;156: 269-273.

# Trombosis venosa profunda asociada a bacteriemia por *Campylobacter fetus*

Membrillo de Novales FJ.<sup>1</sup>, Priego de Montiano P.<sup>2</sup>, Lucena Calvet P.<sup>3</sup>, Perea Perea C.<sup>4</sup>

*Sanid. mil.* 2011; 67 (3): 304-305; ISSN: 1887-8571

## RESUMEN

Presentamos el caso de una paciente que ingresa por un cuadro de desorientación, fiebre y deposiciones diarreicas. La exploración y pruebas complementarias mostraron una trombosis venosa profunda en la pierna izquierda, junto con hemocultivos positivos a *C. fetus*. Está descrita la asociación de *C. fetus* a fenómenos tromboembólicos, pero no hemos encontrado en nuestra revisión bibliográfica casos en la literatura donde se confirme dicha asociación con el aislamiento del microorganismo en hemocultivos, salvo una trombosis séptica de vena ovárica.

**PALABRAS CLAVE:** trombosis venosa profunda, *Campylobacter fetus*, bacteriemia, tromboembolismo pulmonar

## Deep vein thrombosis related to *Campylobacter fetus* bacteriemia

### SUMMARY

We present a patient who was admitted with symptoms of disorientation, fever, and diarrheal stools. Examination and laboratory tests showed a deep vein thrombosis in the left leg, and isolation of *C. fetus* in blood cultures taken during a fever peak. The association of *C. fetus* with thromboembolic events has been reported, but we haven't found any cases in our bibliographic search describing this association confirmed by the isolation of the organism in blood cultures, except for a ovarian vein thrombosis.

**KEYWORDS:** Deep vein thrombosis, *Campylobacter fetus*, bacteriemia, pulmonary thromboembolism.

## INTRODUCCIÓN

*Campylobacter fetus* es un bacilo gramnegativo móvil, con forma de coma, no esporulado, microaerófilo. La campilobacteriosis es una zoonosis de distribución mundial, encontrándose como comensal en el tracto gastrointestinal de muchos animales de ganado y domésticos. *C. fetus* es la especie de su género que con mayor frecuencia presenta manifestaciones extraintestinales<sup>1</sup>.

## OBSERVACIÓN CLÍNICA

Presentamos el caso de una paciente de 76 años, diabética, con gonartrosis bilateral y diagnosticada hace tres meses de poli-mialgia reumática en tratamiento con 5mg de prednisona oral al día. Ingresó en nuestro Centro para estudio de un cuadro de fiebre y desorientación que aparece tras una semana en tratamiento con levofloxacino por sintomatología catarral. No refirió sintomatología respiratoria ni digestiva, aunque en Urgencias presentó una deposición diarreica.

A la exploración se objetivó calor en pierna izquierda, siendo ambas piernas dolorosas a la palpación. No se objetivaron

edemas. La exploración abdominal y cardiorrespiratoria fueron normales. En la analítica destacaban una neutrofilia del 82%, con 9.800 leucocitos/mm<sup>3</sup>, VSG de 86 y PCR de 4,28. El estudio de coagulación objetivó unos dímeros D de 5043 (con valores normales de referencia del laboratorio de hasta 230).

Las radiografías de tórax no mostraban signos de interés. En el ECG se observa un bloqueo de rama izquierda. El ecodoppler de miembros inferiores reveló una trombosis venosa profunda de miembro inferior izquierdo. La gammagrafía de ventilación-perfusión mostró un defecto parcial en lóbulo superior derecho y uno más pequeño en lóbulo superior izquierdo, donde la cisura interlobar era muy patente. No obstante el angio-TC torácico no objetivó signos de TEP. En el ecocardiograma se observa hipertensión pulmonar con PSP de 55mmHg.

La paciente fue tratada empíricamente con amoxicilina-clavulánico intravenoso, cediendo la fiebre en 72 horas. Ante los hallazgos de las pruebas de imagen se inicia tratamiento con HBPM y posteriormente anticoagulación oral con warfarina. Se informó del aislamiento de *C. fetus* en las dos muestras de hemocultivo tomadas al inicio del cuadro, manteniéndose la antibioterapia empírica que se mostró efectiva. La evolución de la paciente fue favorable, siendo dada de alta en el día 13 asintomática, prescribiendo amoxicilina-clavulánico oral hasta completar cuatro semanas de tratamiento.

## DISCUSIÓN

La mayor parte de las bacteriemias informadas por especies del género *Campylobacter* se deben a *C. fetus*<sup>2</sup>. Una explicación es que por lo general *C. jejuni*, principal implicado en campilobacteriosis diarreica, es sensible a la actividad bactericida del

<sup>1</sup> Cap. Médico.

<sup>2</sup> Tcol Médico.

<sup>3</sup> Lda. Medicina.

<sup>4</sup> Col. Médico.

Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla, Servicio de Medicina Interna. Madrid. España.

**Dirección para correspondencia:** Francisco Javier Membrillo de Novales. Servicio de Medicina Interna. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Glorieta del Ejército, s/n. Madrid. España. javimembrillo@gmail.com

Recibido: 29 de diciembre de 2010

Aceptado: 14 de marzo de 2011

suero humano normal<sup>3</sup>, aunque a veces se producen bacteriemias con clínica similar a *C. fetus* en inmunocomprometidos<sup>4</sup>.

Las bacteriemias por *C. fetus* informadas suelen aparecer en pacientes inmunocomprometidos<sup>5,6</sup>. Pacanowsky J *et al*, del grupo de estudio CAMPYL, recogen la mayor serie de campilobacteriosis sistémicas recientes, recopilando 183 bacteriemias en 23 hospitales de París, Francia durante 5 años<sup>7</sup>. La mayor parte de los pacientes afectados estaban inmunocomprometidos. Noventa y cuatro casos (53%) correspondieron a *C. fetus*. Se describieron como factores independientes predictores de mortalidad por bacteriemia por *C. fetus* el cáncer (OR 5'1, IC 95% 1'2-20'8) y la infección asintomática (OR 6'7, IC 95% 1'5-29'4).

Aunque no alcanzaron suficiente significación estadística, probablemente por el escaso número de casos, se observó una tendencia superior de mortalidad a 30 días en los pacientes con tratamiento previo por otros procesos con quinolonas (OR 3'7 con una p de 0'05) y cefalosporinas de tercera generación (OR 3'5 con una p de 0'09). Esto apoya la sospecha de un aumento de campilobacteriosis por *C. fetus* en la actualidad debido a la presión selectiva del elevado consumo de antibióticos en nuestro medio. Recientemente se comienzan a detectar casos de bacteriemia por *C. fetus* con resistencia a carbapenemes<sup>8</sup>.

Las infecciones por *C. fetus* parecen tener predilección por asentar en sitio vascular. La tromboflebitis se puede asociar con bacteriemia por *C. fetus*, pero no está aclarado si el trombo es el acontecimiento primario o una manifestación secundaria de la infección<sup>3</sup>.

Realizamos una búsqueda bibliográfica en la base de datos Medline, para localizar todas las comunicaciones con las palabras clave «*Campylobacter fetus*» y «trombosis», limitándola temporalmente a los últimos 20 años. Se encontraron 5 artículos comunicando tromboflebitis asociada a *C. fetus*<sup>9-13</sup>, siendo solamente accesibles por completo en español o inglés 3 de los mismos<sup>9,12,13</sup>. Se describen en total 8 casos de tromboflebitis asociada a hemocultivos positivos a *C. fetus*, y un caso de trombosis de vena ovárica con hemocultivos positivos a *C. fetus*<sup>14</sup>. Cabe destacar la serie de 4 casos de Carbone KM *et al* y la serie de 1000 hemocultivos positivos a *Campylobacter spp.* de Pönkä *et al.*<sup>13</sup>, de los cuales solamente 4 correspondían a *C. fetus*, uno de los cuales se manifestó con tromboflebitis.

En nuestra paciente, consideramos que el estadio de déficit inmunitario causado por la diabetes y la corticoterapia, favoreció

la infección por *C. fetus*. El tratamiento con levofloxacino pudo ser otro factor favorecedor del proceso, eliminando comensales que compiten por el nicho ecológico de *C. fetus*, con una alta tasa de resistencia a quinolonas en nuestro medio<sup>15</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

- Blaser MJ. *Campylobacter jejuni* y especies relacionadas. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. Enfermedades infecciosas: Principios y Práctica. 5ª ed. Madrid: 2000 Edit. Médica Panamericana; p.2761-2769.
- Remacha MA, Esteban A, González-Castañeda C, Fernández-Natal I, Echeita A. Bacteriemia por *Campylobacter fetus* en paciente inmunocompetente. An Med Interna (Madrid) 2003;20(8): 439-440.
- López-Brea M, Alarcón T, Boixeda D. Infecciones por *Campylobacter* y *Helicobacter*. En: Ausina V, Moreno S, editores. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 1ª ed. Madrid: 2006 Edit. Médica Panamericana; p. 393-394.
- Maestre JR, Buezas V, Sanchez P, Montero A, Mellado F. Bacteriemia por *Campylobacter jejuni* en varón de 22 años con anemia hemolítica autoinmune. Enferm Infecc Microbiol Clin.2001;19(9):457-458.
- Bolaños M, Alfonso O, Alonso JM, Martín AM. Diarrea en un paciente alcohólico. Enferm Infecc Microbiol Clin 2002;20(5):219-20.
- Onuigbo M, Qu X. Right atrial mobile thrombus and pulmonary thromboembolism complicating hemorrhagic *Campylobacter jejuni* colitis. South Med J 2002;95(9):1107-1110.
- Pacanowsky J, Lalonde V, Lacombe K, Boudraa C, Lesprit P, Legrand P, Trystam D, Kassis N *et al.* *Campylobacter* bacteraemia: clinical features and factors associated with fatal outcome. Clin Infect Dis 2008 Sep 15;47(6): 790-6.
- Mosca A, Del Gaudio T, Miragliotta G. Imipenem-resistant *Campylobacter fetus* bloodstream infection. J Chemother. 2010 Apr;22(2):142.
- Ozaki M, Murase T, Park JW, Aoki M, Kawato M. *Campylobacter fetus* bacteraemia and thrombophlebitis in a patient with Waldenström's macroglobulinemia. Kansenshogaku Zasshi. 1999 Jan;73(1):86-9.
- el Kouri D, De Faucal P, Raffi F, Planchon B. Septic *Campylobacter fetus* thrombophlebitis: a new case. Rev Med Interne. 1993 Jan;14(1):41-2.
- Carbone KM, Heinrich MC, Quinn TC. Thrombophlebitis and cellulitis due to *Campylobacter fetus* ssp. fetus. Report of four cases and a review of the literature. Medicine (Baltimore). 1985 Jul;64(4):244-50.
- Gateau P, Baldellon C, Megraud F, Saby JC. *Campylobacter fetus* ssp fetus thrombophlebitis. Presse Med. 1984 Jan 21;13(2):102-3.
- Pönkä A, Tilvis R, Helle J, Kosunen TU. Infection with *Campylobacter fetus*. Scand J Infect Dis. 1984;16(1):127-8.
- Teh HS, Chiang SH, Tan AG, Sng LH, Oh HM. A case of right loin pain: septic ovarian vein thrombosis due to *Campylobacter fetus* bacteraemia. Ann Acad Med Singapore. 2004 May;33(3):385-8.
- Font C, Cruceta A, Moreno A, Miro O, Coll-Vinent B, Almela M, Mensa J. Estudio de 30 pacientes con bacteriemia por *Campylobacter spp.* Med Clin (Barc). 1997 Mar 8;108(9):336-340.

# Evaluación positiva de medicamentos: 2º Trimestre 2011

García Luque A.<sup>1</sup>, Puerro Vicente M.<sup>2</sup>, Sánchez López P.<sup>3</sup>, Cabanes Mariscal MA.<sup>3</sup>

*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 306-309; ISSN: 1887-8571*

## RESUMEN

Se reseñan los medicamentos ya evaluados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios hechos públicos en el segundo trimestre de 2011, y considerados de mayor interés para el profesional sanitario. Se trata de opiniones técnicas positivas que son previas a la autorización y puesta en el mercado del medicamento.

## Positive assessment of drugs: 2<sup>nd</sup> quarter 2011

### SUMMARY

The drugs assessed by the Spanish Agency for Medicines and Health Products made public in the second quarter of 2011, and considered of interest to the healthcare professional, are reviewed. These are positive technical reports prior to the authorization and placing on the market of the product.

## 1. BELATACEPT (*Nulojix*)<sup>1-3</sup>

Belatacept es un inmunosupresor selectivo que se une a los antígenos CD80 y CD86 presentes en las células presentadoras de antígenos. Como resultado bloquea la estimulación de células T mediada por CD28 inhibiendo su activación y así produciendo inmunosupresión.

Está indicado en la profilaxis del rechazo del injerto en adultos que reciben un trasplante renal en combinación con corticoides y ácido micofenólico. Se recomienda añadir a este régimen basado en belatacept un antagonista del receptor de interleukina 2 (IL-2) para el tratamiento de inducción.

En los ensayos clínicos ha mostrado ser no inferior a ciclosporina en cuanto a la supervivencia a los 12 meses, tanto en población de alto como de bajo riesgo, con efectos positivos sobre la función renal. Los efectos se mantuvieron durante 36 meses. Sólo ha mostrado un efecto superior sobre la función renal en la población de bajo riesgo, sin embargo en esta población se produjeron más episodios de rechazo agudo en los pacientes tratados con belatacept que en los tratados con ciclosporina.

Las reacciones adversas graves más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico en cualquier régimen fueron infecciones del tracto urinario, infección por citomegalovirus, fiebre, aumento de creatinina, pielonefritis, diarrea, gastroenteritis, disfunción del injerto, leucopenia, neumonía, carcinoma de células basales, anemia y deshidratación. Las reacciones adversas más comunes entre los pacientes tratados con un régimen basado en belatacept fueron diarrea, anemia, infecciones del tracto urinario, edema periférico, estreñimiento, hipertensión, fiebre,

náuseas, disfunción del injerto, tos, vómitos, leucopenia, hipofosfatemia y cefalea.

La «Food and Drug Administration» con fecha 07/07/2011 ha notificado una alerta sobre el riesgo de enfermedad linfoproliferativa postrasplante, predominantemente en sistema nervioso central y leucoencefalopatía multifocal progresiva.

## 2. BELIMUMAB (*Benlysta*)<sup>4,5</sup>

Belimumab es un anticuerpo monoclonal específico para proteína humana soluble estimuladora del linfocito B (BLyS, también denominada BAFF y TNFSF13B). Benlysta bloquea la unión del BLyS soluble (un factor de supervivencia de la célula B) a su receptor en la célula B. No se une directamente a la célula B, pero uniéndose a BLyS, inhibe la supervivencia de las células B, incluyendo las células B autorreactivas, y reduce la diferenciación de las células B en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas.

Se ha aprobado su indicación en combinación con el tratamiento estándar para pacientes adultos con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) activo, con autoanticuerpos positivos, que presenten un alto grado de actividad de la enfermedad (por ejemplo, anti-dsDNA positivo y bajo complemento) a pesar del tratamiento estándar. Benlysta deberá ser prescrito por un médico con experiencia en el diagnóstico y tratamiento de LES.

Ha demostrado su efecto beneficioso mediante su capacidad para reducir la actividad de la enfermedad valorada mediante tres herramientas validadas: la escala SELINA SLEDAI, Evaluación Global del Médico y el índice BILAG. Mientras que los efectos del tratamiento con belimumab son modestos en la población global estudiada, se observó un efecto clínico relevante en pacientes con una alta actividad de la enfermedad (anticuerpos anti-dsDNA y bajos niveles de C3 y/o C4). La adición de 10 mg/kg de belimumab a la terapia estándar de LES fue generalmente bien tolerada.

Durante el desarrollo clínico las reacciones adversas más frecuentes observadas fueron náuseas, diarrea, y pirexia. Al-

<sup>1</sup> Cte. Médico. Servicio de Farmacología Clínica.

<sup>2</sup> Tcol. Médico. Servicio de Farmacología Clínica.

<sup>3</sup> Cte. Farmacéutico. Servicio de Farmacia Hospitalaria. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Madrid. España.

**Dirección para correspondencia:** Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. 28047 Madrid. España. agarluq@oc.mde.es

Recibido: 11 de julio de 2011

Aceptado: 18 de julio de 2011

gunos pacientes desarrollaron reacciones relacionadas con la infusión, algunas de las cuales fueron reacciones de hipersensibilidad. El mecanismo de acción del Benlysta puede aumentar el riesgo potencial de desarrollar infecciones incluyendo reacciones oportunistas. También como medicamento inmunomodulador, no se puede descartar un riesgo potencial de tumores malignos.

### 3. BOCEPREVIR (*Victrelis*)<sup>4,6</sup>

Este principio activo es un antiviral de acción directa. Es el primero de una nueva clase de medicamentos para el tratamiento de la hepatitis que inhibe directamente la replicación del virus de la hepatitis C en las células del huésped infectado.

Ha sido aprobado su utilización en combinación con peginterferón alfa y ribavirina, en el tratamiento de la hepatitis C crónica, infección por genotipo 1, en pacientes adultos con enfermedad hepática compensada que no han sido tratados previamente o cuyo tratamiento previo ha fracasado (se puede consultar las secciones 4.4 y 5.1 de la ficha técnica).

El tratamiento debe ser iniciado y controlado por un médico con experiencia en el tratamiento de hepatitis C.

En los ensayos clínicos Victrelis, usado en combinación con peginterferón alfa y ribavirina, ha mostrado que inhibe la replicación viral en la célula del huésped permitiendo la erradicación del virus que se correlaciona con la cura de la hepatitis C crónica. Comparado con los tratamientos actuales con peginterferón alfa y ribavirina, la adición del boceprevir mejora significativamente la proporción de pacientes que se pueden curar de hepatitis C. En algunos pacientes el beneficio de boceprevir también se traduce en una reducción en la duración del tratamiento necesario hasta alcanzar la respuesta.

Las reacciones adversas más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico fueron fatiga, anemia, náuseas, dolor de cabeza y disgeusia. Boceprevir induce un incremento en el riesgo de anemia comparado con el uso de la combinación de peginterferón alfa y ribavirina.

### 4. DENOSUMAB (*Xgeva*)<sup>4,7</sup>

Este principio activo es un anticuerpo humano monoclonal IgG2 producido en una línea de células de mamífero (ovario de hámster chino) mediante tecnología de ADN recombinante. La proteína diana de este anticuerpo, RANKL, es esencial para la formación, la función y la supervivencia de los osteoclastos, el único tipo de célula responsable de la resorción ósea. El aumento de la actividad de osteoclastos, estimulada por RANKL, es un mediador clave de la destrucción ósea en la enfermedad ósea metastásica. Denosumab se une con alta afinidad y especificidad a RANKL, impidiendo que la interacción RANKL/RANK se produzca con la consiguiente reducción en el número de osteoclastos y en su función.

Indicación aprobada: «Prevención de eventos esqueléticos (fractura patológica, radioterapia ósea, compresión de la médula espinal o cirugía ósea) en adultos con metástasis óseas de tumores sólidos».

En los ensayos clínicos de prevención de eventos esqueléticos en pacientes adultos con metástasis óseas de tumores sólidos ha mostrado que disminuye la resorción ósea y la destrucción ósea inducida por cáncer.

Las reacciones adversas más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico fueron la disnea, diarrea, hipocalcemia, hipofosfatemia, hiperhidrosis y osteonecrosis de la mandíbula.

### 5. DIHIDROARTEMISINA-FOSFATO DE PIPERAQUINA (*Eurartesim*)<sup>8,9</sup>

Es una combinación fija de un conocido esquizotónico y una amnioquinolina.

Ha sido aprobado para el tratamiento de la malaria no complicada por *Plasmodium falciparum* en adultos y niños desde 6 meses y que pesen más de 5 kg. Se debe tener en cuenta las guías oficiales sobre el uso adecuado de agentes antimaláricos.

Las reacciones adversas más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico fueron anemia, cefalea, astenia y prolongación del intervalo QT.

### 6. EVEROLIMUS (*Votuvia*)<sup>8,10,11</sup>

Everolimus es un inhibidor de la proteína quinasa que inhibe la señal asociada a la translación y la síntesis de proteínas, y en consecuencia inhibe el crecimiento y la proliferación de células tumorales.

El Comité de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Europea de Medicamentos ha recomendado la autorización condicional para *Votuvia*. El titular de la autorización de comercialización aportará información clínica más exhaustiva en una etapa posterior.

Su indicación aprobada es el tratamiento de pacientes mayores de 3 años con astrocitoma subependimial de células gigantes asociado con el complejo esclerosis tuberosa que requieran intervención terapéutica pero que no sean susceptibles de cirugía.

La evidencia se basa en un análisis del cambio del volumen del astrocitoma. No se ha demostrado beneficio clínico adicional ni mejoría de los síntomas relacionados con la enfermedad.

Pacientes tratados con everolimus experimentaron una disminución en el tamaño de sus astrocitomas subependimarios de células gigantes (SEGA), un tumor benigno del cerebro asociado con la esclerosis tuberosa. En la revista *The New England Journal of Medicine* se ha publicado el primer ensayo clínico prospectivo de un fármaco que muestra el beneficio del tratamiento en estos pacientes.

Según los datos publicados, ensayo clínico fase I/II del estudio de 28 pacientes, el tratamiento con everolimus produce una reducción significativa del volumen de los SEGAs primarios respecto al valor basal a los seis meses. El 75% de los pacientes experimentaron una reducción de más del 30% en el tamaño de los SEGAs y el 32% experimentó una reducción de más del 50% respecto al valor basal a los seis meses. El uso de este fármaco también se asoció con una reducción en la frecuencia total de crisis y, además, ningún paciente requirió cirugía o desarrolló un nuevo SEGa al recibir everolimus durante los seis meses de estudio.

Las reacciones adversas más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico fueron estomatitis, infección del tracto respiratorio superior, sinusitis, otitis media, pirexia y dermatitis acneiforme.

Ha sido considerado fármaco huérfano para esta indicación, por ello se incluye como novedad, a pesar de estar comercializado en Europa para otras indicaciones.

## 7. FAMPRIDINA (*Fampyra*)<sup>4,12</sup>

Este principio activo es un bloqueante de los canales de potasio. Al bloquear los canales de potasio, reduce la pérdida de corriente iónica a través de estos canales, lo que prolonga la repolarización y por lo tanto mejora la formación del potencial de acción en los axones desmielinizados y la función neurológica. Es de suponer que, mediante la mejora de la formación del potencial de acción, podrían llevarse a cabo más impulsos en el sistema nervioso central.

Este principio activo fue objeto de una anterior opinión negativa, que posteriormente ha sido reexaminada por el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), y que ha recomendado la autorización condicional de este medicamento (significa que se espera más evidencia clínica). En este caso se debe realizar un estudio de eficacia y seguridad a largo plazo para investigar una variable principal más extensa clínicamente en términos de capacidad para caminar y para evaluar la identificación inicial de respondedores de cara a guiar más tratamientos. La EMA espera recibir la nueva información a lo largo de un año y actualizará la información del medicamento como considere.

La indicación aprobada es la mejora de la marcha en pacientes adultos con esclerosis múltiple con discapacidad motriz.

En los ensayos clínicos mostró su capacidad para mejorar la marcha, medida por la prueba «Timed 25 Foot Walk Test» y el ítem 12 de la escala para la marcha de Esclerosis Múltiple.

Durante su desarrollo clínico las reacciones adversas más frecuentes observadas fueron infección del tracto urinario, insomnio, ansiedad, mareos, dolor de cabeza, trastorno del equilibrio, parestesia, temblor, disnea, dolor faringolaríngeo, náuseas, vómitos, estreñimiento, dispepsia, dolor de espalda y astenia.

## 8. IPILIMUMAB (*Yervoy*)<sup>4,13</sup>

Ipilimumab, es un anticuerpo monoclonal antineoplásico que actúa como un potenciador de las células T que bloquea específicamente la señal inhibitoria de CTLA-4, causando la activación de células T, la proliferación e infiltración de linfocitos en tumores, llevando a la muerte de las células tumorales.

Su indicación aprobada ha sido el tratamiento de melanoma avanzado (irreseccable o metastático) en adultos que han recibido tratamiento previo.

En los ensayos clínicos ha demostrado un aumento de la supervivencia global clínicamente significativa en pacientes adultos con melanoma avanzado.

Las reacciones adversas más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico fueron diarrea, erupción cutánea, prurito,

fatiga, náuseas, vómitos, disminución del apetito y dolor abdominal. Yervoy puede producir reacciones adversas inflamatorias con un aumento de la actividad inmunológica, que en ocasiones pueden ser graves y poner en riesgo la vida del paciente. Generalmente estas reacciones afectan al sistema gastrointestinal, hígado, piel, sistema nervioso y endocrino, entre otros.

## 9. LINAGLIPTINA (*Trajenta*)<sup>4,14</sup>

Linagliptina es un antidiabético oral, inhibidor de la dipeptidilpeptidasa A 4.

Esta indicado en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 para mejorar el control glucémico en pacientes adultos:

- a. Como monoterapia: «En pacientes que no estén adecuadamente controlados con dieta y ejercicio físico y en los que el tratamiento con metformina no es apropiado debido a intolerancia o en aquellos que esté contraindicado debido a fallo renal»
- b. En combinación:
  - i. En combinación con metformina cuando la dieta y el ejercicio junto con el tratamiento con metformina no consiguen un adecuado control glucémico.
  - ii. En combinación con metformina y una sulfonilurea cuando la dieta y el ejercicio junto con la terapia dual con estos dos medicamentos no consiguen un adecuado control glucémico.

La reacción adversa más frecuente observada durante el desarrollo clínico fue una elevada incidencia de hipoglucemia. Este efecto fue más pronunciado cuando linagliptina se usó en combinación con metformina y sulfonilurea.

## 10. MIDAZOLAM (*Buccolam*)<sup>8,15</sup>

Aunque este principio activo está comercializado en Europa con otras indicaciones, se incluye como novedad al ser la población diana pediátrica, existiendo como norma general escasa investigación en esta población.

Midazolam es un derivado de benzodiazepina, con efecto anticonvulsivante. También ejerce un efecto sedativo e inductor del sueño de actividad pronunciada y un efecto ansiolítico y relajante muscular.

Ahora se ha aprobado su indicación para el tratamiento de crisis convulsivas agudas y prolongadas en niños y adolescentes (desde 3 meses hasta 18 años).

Sólo debe utilizarse en pacientes diagnosticados con epilepsia. Para niños de entre 3-6 meses de edad el tratamiento debe administrarse a nivel hospitalario, donde se garantiza que existen los medios necesarios para la monitorización del paciente y los equipos de resucitación en caso necesario.

Las reacciones adversas más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico fueron depresión respiratoria, sedación, somnolencia, disminución de los niveles de consciencia, náuseas y vómitos.

## 11. TELAVANCINA (*Vibativ*)<sup>4,16</sup>

Telavancina es un glucopéptido antibacteriano, derivado semisintético de la vancomicina, que inhibe la biosíntesis de la pared celular, pero que también se une a las membranas bacterianas, provocando un aumento de la permeabilidad, causando la inhibición de la síntesis de proteínas, ARN y lípidos.

Se ha aprobado para el tratamiento de adultos con neumonía nosocomial, incluyendo la neumonía asociada a ventilación mecánica, causada o que se sospecha que ha sido causada por *Staphylococcus aureus* metacilín-resistente. Debe utilizarse sólo en situaciones en las que se sabe o se sospecha que no son adecuadas otras alternativas (se puede consultar en las secciones 4.3, 4.4, 4.8 y 5.1 de la ficha técnica).

Se deberían tener en consideración las guías oficiales sobre el uso adecuado de antimicrobianos.

Telavancina ejerce actividad bactericida dependiente de la concentración contra bacterias sensibles Gram-positivas. Ha demostrado eficacia contra *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina y meticilín-resistentes en dos estudios controlados aleatorios en pacientes con neumonía nosocomial, incluyendo la neumonía asociada a ventilación mecánica.

Las reacciones adversas más frecuentes observadas durante el desarrollo clínico fueron infección por hongos, insomnio, disgeusia, dolor de cabeza, mareos, náuseas, estreñimiento, diarrea, vómitos, aumento de la alanina aminotransferasa, aumento de la aspartato aminotransferasa, prurito, erupción cutánea, insuficiencia renal aguda, aumento de la creatinina en sangre, alteraciones de la orina, fatiga y escalofríos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Informe mensual sobre Medicamentos de Uso Humano y Productos Sanitarios Abril 2011. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es/actividad/notaMensual/docs/2011/inforMensual-abril11.pdf>
2. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Nulojix EMA/CHMP/273603/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002098/WC500105253.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002098/WC500105253.pdf)
3. Nulojix (belatacept): Risk Evaluation and Mitigation Strategy (REMS): Disponible en: <http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm262210.htm>
4. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Informe mensual sobre Medicamentos de Uso Humano y Productos Sanitarios Mayo 2011. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es/actividad/notaMensual/docs/2011/inforMensual-mayo11.pdf>
5. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Benlysta EMA/CHMP/296249/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002015/WC500106511.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002015/WC500106511.pdf)
6. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Victrelis EMA/CHMP/354114/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002332/WC500106520.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002332/WC500106520.pdf)
7. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Xgeva EMA/383964/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002173/WC500106521.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002173/WC500106521.pdf)
8. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Informe mensual sobre Medicamentos de Uso Humano y Productos Sanitarios Junio 2011. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es/actividad/notaMensual/docs/2011/inforMensual-junio11.pdf>
9. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Eurartesim EMA/207988/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/001199/WC500108010.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/001199/WC500108010.pdf)
10. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Votubia EMA/477609/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002311/WC500107993.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002311/WC500107993.pdf)
11. Krueger D, Care M, Holland K, et al. Everolimus for subependymal giant-cell astrocytoma in tuberous sclerosis. *NEJM* 2010; 363 (19): 1801-11
12. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Fampyra EMA/CHMP/396600/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002097/WC500106531.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002097/WC500106531.pdf)
13. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Yervoy EMA/CHMP/384358/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002213/WC500106522.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002213/WC500106522.pdf)
14. Committee for medicinal products for human use (CHMP). Trajenta EMA/CHMP/450821/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002110/WC500107992.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002110/WC500107992.pdf)
15. Committee for medicinal products for human use (CHMP) Buccolam EMA/CHMP/438483/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/002267/WC500107989.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002267/WC500107989.pdf)
16. Committee for medicinal products for human use (CHMP) Vibativ EMA/CHMP/399709/2011. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_-\\_Initial\\_authorisation/human/001240/WC500106519.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/001240/WC500106519.pdf)

## El sueño en ambientes extremos

Martínez Ruiz M.<sup>1</sup>, Martínez Galdámez ME.<sup>2</sup>

*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 310-316; ISSN: 1887-8571*

### RESUMEN

El sueño humano es sensible al medio ambiente. Las exposiciones al calor y al frío nocturno provocan reacciones en el sueño SWS (*Slow-Wave Sleep*) de ondas lentas y en el sueño REM (*Rapid Eyes Movement*) de movimientos oculares rápidos. La altitud y alta presión tienen efectos perjudiciales para el sueño, especialmente en individuos no aclimatados. Jet Lag es un trastorno aeronáutico del sueño que ocurre como consecuencia del cruce rápido de zonas horarias. En su entorno controlado los astronautas pueden dormir bien en ambiente de microgravedad. El presente artículo examina el conocimiento actual de los patrones de sueño humano en diferentes ambientes: exposición al calor y al frío, la altitud, la aviación y la microgravedad en el espacio.

**PALABRAS CLAVE:** Sueño, Calor, Frío, Altitud, Jet lag, Microgravedad espacial.

### Sleep under extreme environments

#### SUMMARY

Human sleep is sensitive to the individual's environment. Heat and nocturnal cold exposures provokes reactions in SWS and REM sleep. Altitude and high pressure are deleterious to sleep, especially in non-acclimatized individuals. Jet lag is a recognized aeronautical sleep disorder that results from crossing time zones too rapidly for the circadian clock to keep pace. In their controlled environment, astronauts can sleep well in microgravity. The present article examines current knowledge of human sleep patterns under different environments: heat exposure, cold exposure, altitude, aviation and microgravity in space.

**KEYWORDS:** Sleep, Heat exposure, Cold exposure, Altitude, Jet lag, Space microgravity.

### INTRODUCCIÓN

El sueño del ser humano es sensible al medio ambiente, de modo que los patrones de sueño varían según la exposición al calor y al frío (medicina ambiental), la altitud (medicina de montaña), el ambiente hiperbárico (medicina subacuática), el cruce rápido de zonas horarias a bordo de un avión (medicina aeronáutica) y la microgravedad en el espacio (medicina espacial)<sup>1</sup>.

El calor y el frío provocan fenómenos de regulación a corto y a largo plazo (adaptación y aclimatación), dependiendo de factores tales como el momento e intensidad de la exposición y la humedad ambiental<sup>1</sup>.

La altitud (ambiente hipobárico) altera el patrón normal de sueño, especialmente en individuos no aclimatados<sup>1</sup>. En Medicina de Montaña la altitud supone un estrés que depende principalmente de la susceptibilidad individual al desarrollo de respiración periódica durante el sueño, a la aclimatación, a la velocidad de ascenso y al nivel de altitud alcanzado, lo que conlleva unos efectos sobre el sueño perjudiciales, con pérdida de sueño SWS (*Slow-Wave Sleep*) junto a alteraciones respiratorias hipóxicas. En Medicina Aeronáutica los pasajeros y los tripulantes de avión que realizan vuelos transmeridianos sufren un trastorno circadiano del sueño denominado Jet-Lag<sup>2</sup>.

El ambiente hiperbárico, propio de la Medicina Subacuática, altera los patrones de sueño por la presión elevada, independientemente de los cambios gasométricos respiratorios; pero las alteraciones del sueño son reversibles durante la descompresión<sup>1</sup>.

En ambiente de microgravedad espacial controlado, los astronautas llegan a dormir aceptablemente bien, independientemente de la posición, mediante mecanismos de adaptación; sin embargo los astronautas experimentan también alteraciones circadianas del sueño, especialmente en vuelos prolongados<sup>1</sup>.

En este artículo revisaremos la influencia sobre el sueño de la altitud, la aviación y el espacio.

### SUEÑO Y TEMPERATURAS EXTREMAS

La exposición al calor tiene dos efectos, según sea a corto o a largo plazo. A corto plazo, como sucede en las olas de calor que sufren las personas que viven en climas templados, la exposición al calor moderado antes de dormir provoca un aumento del sueño de ondas lentas (SWS) durante la noche siguiente; mientras que la exposición al calor durante la noche interrumpe el sueño, reduciendo el sueño SWS y/o el sueño de movimientos oculares rápidos REM (*Rapid Eyes Movement*). Por el contrario, a largo plazo, en sujetos aclimatados que viven en climas tórridos y tropicales, el calor provoca fenómenos adaptativos. Aunque las razas autóctonas, que viven en zonas de clima tropical seco, presentan un aumento generalizado del sueño SWS, tales incrementos son mayores durante la temporada de calor y con el ejercicio; mientras que el sueño REM, también aumentado, no varía de una estación a otra, ni tampoco con el ejercicio. Por el contrario, los habitantes que viven en climas tropicales húmedos no presentan un incremento ni del SWS ni del

<sup>1</sup> Col. Médico. Hospital Central de la Defensa «Gómez Ulla». Subdirección Médica. Madrid. España.

<sup>2</sup> Tte. Farmacéutica. Academia General del Aire. Farmacia. San Javier (Murcia). España.

**Dirección para correspondencia:** Mario Martínez Ruiz. Hospital Central de la Defensa «Gómez Ulla». Glorieta del Ejército, s/n. 28047 Madrid. E-mail: mmarruiz@oc.mde.es

Recibido: 12 de julio de 2010

Aceptado: 25 de noviembre de 2010

REM, comparados con los observados en el clima seco. De todo lo anterior se deduce que la calidad del sueño nocturno depende de si la exposición al calor ha sido durante el día o durante la noche, de su intensidad y de la humedad ambiental<sup>1</sup>.

La exposición al frío a corto plazo aumenta la inquietud durante el sueño y parece afectar principalmente al sueño REM. La exposición al frío polar provoca efectos adaptativos en el sueño REM, con un acortamiento proporcional a la intensidad del frío y a la activación de las hormonas del estrés. En sujetos aclimatados al frío, que viven en zonas polares, se demuestra una disminución generalizada del sueño SWS y del REM, hasta desaparecer en la temporada de invierno el sueño SWS, si bien durante la temporada de verano las fases de sueño SWS y REM aumentan de manera proporcional a la duración total de sueño<sup>1</sup>.

### SUEÑO Y ALTITUD

La presión barométrica disminuye con la altitud. A unos 2.400 m la presión parcial arterial de oxígeno baja hasta el valor crítico de 60 mm Hg. Sin oxígeno suplementario, el denominado «mal de montaña» cursa con confusión y disminución del rendimiento mental y psicomotor; y a más altura se puede desarrollar edema cerebral y pulmonar. La altitud representa un reto que depende principalmente de la susceptibilidad a desarrollar una respiración periódica durante el sueño, de la aclimatación, de la velocidad de ascenso y del nivel de altitud alcanzado<sup>1</sup>.

El mal de montaña se asocia a desaturación de oxígeno durante el sueño en altas altitudes. La respiración periódica en la altitud está representada principalmente por la apnea central del sueño. El sueño es interrumpido con cada episodio apneico. En adultos, un moderado síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) al nivel del mar se convierte en una grave apnea central del sueño a unos 2.750 m, con un gran número de apneas durante el sueño REM<sup>1</sup>.

El insomnio, como tal, aparece a altitudes a partir de los 2.000 m, aumentando con elevaciones durante las primeras semanas de aclimatación. Los trastornos del sueño van desde una disminución de tiempo total de sueño, con numerosos despertares, a una disminución o desaparición del sueño de ondas lentas (SWS). Sin embargo, los estudios de investigación son escasos, adolecen de errores metodológicos y no son concluyentes<sup>1</sup>.

### SUEÑO Y AVIACIÓN

El viaje aéreo puede afectar al sistema circadiano humano principalmente de dos modos: «trabajo por turnos» y «cambio de hora». Estos dos tipos de interferencias tienen en común la presencia de una disparidad entre la «hora biológica» interna y la hora ambiental externa y ambas afectan tanto a las tripulaciones como a los pasajeros del vuelo<sup>3</sup>.

El término «trabajo por turnos» se refiere al hecho de que los pilotos de líneas aéreas y los tripulantes de cabina de pasajeros (TCP) suelen realizar sus funciones en horas anormales del ciclo habitual de 24 horas, por ejemplo durante vuelos nocturnos o largos períodos de servicio. Los problemas que surgen de este tipo de conflicto no son específicos de las operaciones aéreas; sino que están asociados con el trabajo por turnos en general. En ciertos casos también se

vuelven importantes para los pasajeros que hacen un viaje de negocios<sup>3</sup>.

El segundo tipo de conflicto, denominado «cambio de hora», aparece después de realizar vuelos transmeridianos en dirección Este u Oeste, lo que implica transiciones a «zonas horarias» con importantes cambios en la hora ambiental<sup>3</sup>. Los efectos resultantes afectan específicamente al campo de la aviación, ya que las altas velocidades de los modernos aviones facilitan el recorrido de varias «zonas horarias» en unas pocas horas, velocidad que no puede ser alcanzada por el transporte de superficie<sup>3</sup>. El sujeto que realiza un viaje aéreo de larga distancia se encuentra de modo bastante repentino en una «zona horaria» en completo desajuste con sus procesos biológicos. Es lo que se conoce como «desincronosis», «desincronización», «disritmia» «discronismo transmeridiano» o síndrome/trastorno «Jet Lag»<sup>2,3</sup>. Aunque el término «síndrome» no sea del todo acertado, por cuanto el Jet Lag es un trastorno transitorio de ajuste circadiano y no una enfermedad, no cabe duda de que algunos viajeros experimentan diversos síntomas de «discomfort», y se observan con frecuencia claros trastornos del sueño y marcados deterioros del rendimiento, incluso a un nivel únicamente subjetivo<sup>2,3</sup>.

### JET LAG

El desfase horario o Jet Lag (*Jet Lag disorder, JLD*) es un tipo de trastorno del sueño del ritmo circadiano (*circadian rhythm sleep disorders, CRSDs*) que tiene lugar al cruzar zonas horarias con demasiada rapidez<sup>2,4,5,6</sup>. Las consecuencias del Jet Lag son conocidas entre los pasajeros de vuelos transmeridianos de larga duración y consisten en somnolencia diurna, insomnio nocturno, depresión y deterioro en la concentración<sup>2</sup>. Todos estos problemas parecen deberse a un desajuste temporal entre el reloj interno circadiano (salida), normalmente sincronizado al ciclo de luz solar-oscuridad, y la hora externa local (llegada)<sup>2</sup>.

### Factores determinantes del Jet Lag

#### a) Dirección y sentido del vuelo

Para la mayoría de nosotros resulta más fácil ajustar el reloj biológico cuando viajamos al Oeste que al Este (Fig. 1). Viajando al Oeste nos dormimos y despertamos más tarde, mientras que viajando al Este nos dormimos y despertamos más pronto. Dicha asimetría tiene su fundamento en el hecho de que el periodo natural del ritmo cotidiano, si lo comparamos con la mayoría de las funciones vitales, supera las 24 horas del día solar. De ahí que la mayoría de la gente tenga dificultad para dormir antes de su horario biológico habitual, resultándole más fácil «alargar» su día tras un vuelo hacia el Oeste que «acortarlo» en un vuelo hacia el Este. Se dice que los vuelos hacia el Este se asocian con un «cambio de avance» (*advance shift*), mientras que hacia el Oeste tiene lugar un «cambio de retraso» (*delay shift*) de la hora local<sup>3,4</sup>.

#### b) Duración y fatiga de vuelo

Un vuelo de larga distancia, con un cambio en 3 - 4 zonas horarias, puede resultar casi imperceptible para el organismo; sin em-

bargo, si el cambio es de 6 - 8 zonas horarias exige una adaptación completa y de bastante duración. Los vuelos de larga duración implican mayor fatiga de vuelo, un factor que puede influir en la clínica y evolución del Jet Lag<sup>2,3</sup>.

c) Velocidad de crucero

Los viajes que no provocan cambios de horario de más de 60-90 minutos por día, como por ejemplo los viajes en barco y los desaparecidos vuelos supersónicos comerciales (Concorde, Tupolev), entran dentro del «rango de ajuste» normal y, por lo tanto, permiten conseguir el ajuste durante el viaje. Cuando la velocidad de crucero se incrementa por encima de este rango, el sistema de tiempo circadiano se desajusta más y más respecto de la hora ambiental. Esto es lo que sucede viajando en los actuales aviones comerciales.

d) Número de zonas horarias cruzadas

El número de zonas horarias cruzadas es proporcional al grado de desalineación o desajuste del ritmo circadiano.

e) Pérdida de sueño durante el vuelo

Las condiciones ambientales de los aviones, como la baja humedad (5% a 35.000-40.000 pies), hipoxia, baja presión de cabina (equivalente a 7.000 pies), movilidad reducida (riesgo de trombosis venosa profunda), deshidratación (sequedad de mucosas), ruido, vibraciones, turbulencias, incomodidad, alimentación, exposición a radiaciones ionizantes cósmicas), junto a factores psicológicos frecuentes en los pasajeros (pérdida de sueño previo al vuelo, miedo a volar, ansiedad), hacen difícil conciliar el sueño durante un vuelo<sup>3</sup>. La incomodidad es manifiesta sobre todo en asientos de clase turista y no tanto en la clase preferente o de negocios.

f) Factores ambientales locales

La principal acción de la periodicidad ambiental (luz/oscuridad) es sincronizar el sistema circadiano interno a un periodo de 24 horas. La disponibilidad de señales horarias locales, tales como la luz natural en el lugar de destino, es un factor clave para el reentrenamiento del reloj circadiano. Sin embargo, no siempre es posible garantizar la adecuada exposición a la luz solar (horario local, época del año, actividad social). La exposición a la luz artificial debe adecuarse a la fase del ciclo circadiano para permitir el correcto re-entrenamiento del reloj biológico<sup>2</sup>.

g) Factores físicos individuales

La capacidad para tolerar la desalineación o desajuste de fase circadiana expresa una variabilidad individual. Aunque los ritmos circadianos son endógenos, con oscilaciones genéticamente determinadas y con periodos cercanos a las 24 horas, cerca del 25% de las personas tras un vuelo que cruza 5-8 zonas horarias casi no sienten ninguna molestia a causa del brusco cambio horario. Pero otro 20-25% de las personas se adaptan con gran dificultad o simplemente no pueden adaptarse<sup>3</sup>. La tolerancia circadiana disminuye con la edad y aumenta con la práctica deportiva.

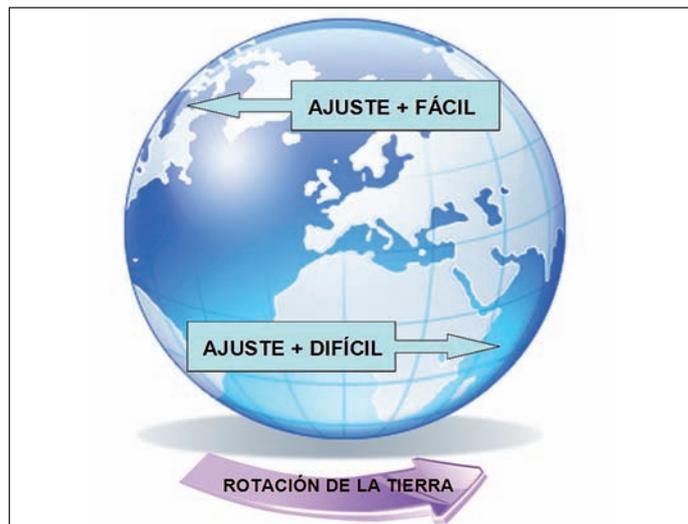


Figura 1. Sentido de rotación de la Tierra y grados de dificultad en el ajuste del reloj circadiano según el sentido del vuelo.

### Jet Lag y fatiga de vuelo

En el ambiente aeronáutico el insomnio breve o transitorio, relacionado con operaciones aéreas prolongadas o nocturnas o con el Jet Lag, puede contribuir a la aparición de la fatiga de vuelo, con el riesgo final de incidentes o accidentes aéreos<sup>7</sup>. La necesidad de garantizar un sueño reparador, sin efectos que comprometan la seguridad de vuelo, llega a ser imperiosa en el medio aeronáutico, tanto para los pilotos como para los tripulantes de cabina de pasajeros (TCP)<sup>7,8</sup>.

El grado de dificultad, la duración, la destreza, el conocimiento o familiaridad con la tarea, así como la motivación, el nivel de alerta («arousal»), el estado de fatiga o descanso, los factores ambientales y la situación de la periodicidad circadiana, son factores que están relacionados con el rendimiento o performance<sup>7</sup>. Pero el rendimiento en una tarea especializada está afectado por la pérdida de sueño, sobre todo en el uso de habilidades recientemente adquiridas, más que en tareas adquiridas con anterioridad<sup>7</sup>. Dado que la tripulación de vuelo la conforman profesionales entrenados que usan habilidades adquiridas hace tiempo, a priori cabría pensar que la pérdida moderada de sueño no afectaría negativamente a sus habilidades para el vuelo; sin embargo, es posible que la fatiga de vuelo muestre algún efecto sobre la vigilancia en fases de cansancio y realización de tareas monótonas.

### SUEÑO Y VUELO: REGULACIONES INTERNACIONALES MÉDICO-AERONÁUTICAS

#### Medicamentos y vuelo

El ambiente aeronáutico exige la máxima seguridad farmacológica, sin que se puedan o deban utilizar fármacos que presenten efectos adversos residuales, potenciales o reales, sobre el sistema nervioso central y periférico, que puedan afectar al rendimiento psicomotor (*performance*) o al nivel de alerta (*arousal*)<sup>7,8</sup>. El piloto de avión sabe que, antes de volar, necesita ciertas garantías psico-físi-

## El sueño en ambientes extremos

**Tabla 1.** Necesidades psico-físicas de un piloto y preguntas que debe hacerse antes de volar si está tomando algún medicamento.

Necesidades en relación con la capacidad psico-física		Preguntas en relación con la medicación
Orientación espacial	Indemnidad del sistema nervioso sensorial, visual, auditivo y propioceptivo.	¿Me siento en condiciones de volar?
Capacidad mental	Para procesar la información sensorial e iniciar las medidas adecuadas de control de la aeronave de forma segura.	¿Es realmente necesario tomar la medicación?
Capacidad física	Para llevar a cabo la misión de forma decidida.	¿He probado este medicamento en tierra, al menos 24 horas antes de volar, para asegurar que no tendrá efectos adversos sobre mi capacidad para volar?

cas<sup>9</sup> y hacerse unas preguntas si está tomando algún medicamento (Tabla 1)<sup>10</sup>.

Más del 80% de los tripulantes aéreos refieren trastornos del sueño y más de un 90% admite que la fatiga es un problema en su tipo de vuelo. Los errores se relacionan con las operaciones aéreas (sobre todo en el aterrizaje), con la fatiga de vuelo (un 10% están relacionados) y con las horas (la zona circadiana de peligro se sitúa entre las 0 y las 6 horas). Los factores o errores humanos pueden participar hasta en un 75% de los incidentes de la aviación. Aunque los síntomas de problemas de salud menores pueden causar poco o ningún problema en tierra, pueden llegar a potenciados o ser un problema mayor en el entorno de vuelo<sup>10</sup>.

### Tratamiento del insomnio aeronáutico

El consumo ocasional de un hipnótico de acción corta (por ejemplo, temazepam, zolpidem o zaleplon) o de melatonina puede ser una solución apropiada para garantizar un descanso suficiente durante una escala para un viajero<sup>9,10</sup>. Sin embargo, como la vigilancia medico-aeronáutica no siempre es posible y el lapso de tiempo suficiente entre la toma del hipnótico y el vuelo posterior no se puede garantizar (mínimo de seguridad 12 horas), el uso de cualquier hipnótico y de melatonina no está autorizado para los pilotos de aeronaves según la reglamentación aeronáutica internacional<sup>9</sup>. Es preferible recurrir y fomentar medidas no farmacológicas: no consumir cafeína, alcohol o tabaco; evitar la práctica de ejercicio antes de la hora de dormir; proporcionar un ambiente óptimo de sueño (silencio, oscuridad, aire fresco, temperatura agradable) o realizar técnicas de relajación<sup>7,8</sup>.

#### a) Tratamiento no farmacológico

La luz es la señal de sincronización más importante del ritmo circadiano<sup>2</sup>. La intensidad y el momento de exposición deben elegirse cuidadosamente ya que, si la exposición a la luz ocurre durante el anochecer el reloj biológico se retrasa (retrasos de fase), mientras que si la exposición a la luz se realiza por la mañana el reloj se adelanta (adelantos de fase)<sup>2</sup>. De esta manera, un pasajero puede acelerar su reentrenamiento eligiendo el momento óptimo de exposición a la luz brillante artificial, especialmente cuando no es posible la exposición solar natural<sup>2</sup>. Para viajes de hasta 8 zonas horarias de diferencia, la recomendación debe ser la exposición a la

luz brillante por la mañana después de un viaje en dirección Este; y la exposición al anochecer tras un viaje en dirección al Oeste<sup>2</sup>. Los viajes de más de 8 zonas horarias de diferencia deben de ser tratados como si siempre se hubieran realizado en dirección Oeste. En estas condiciones el sistema circadiano puede inicialmente malinterpretar el amanecer como crepúsculo, y viceversa<sup>2</sup>.

El seguimiento de dietas especiales es otra estrategia de resincronización biológica. El consumo de alimentos preferiblemente proteicos durante el desayuno y el almuerzo contribuye al aumento de la producción de catecolaminas durante el día. Una cena ligera y rica en hidratos de carbonos aporta al organismo triptófano, contribuyendo a la síntesis de serotonina durante la noche. Cuando se viaja en avión es de gran trascendencia tener una alimentación equilibrada antes, durante e inmediatamente después de llegar al lugar de destino<sup>7</sup>. Por ejemplo, antes de un vuelo al Oeste se recomienda realizar una comida con alimentos que incluyan un alto contenido proteínico y un bajo contenido en hidratos de carbono; durante el vuelo no es aconsejable comer mucho, pero sí beber agua y zumos en grandes cantidades y abstenerse de consumir bebidas que contengan cafeína; tras la llegada al lugar de destino es conveniente realizar una cena ligera, con un elevado contenido en hidratos de carbono, hora u hora y media antes de acostarse<sup>7</sup>.

#### b) Tratamiento farmacológico

##### Melatonina

La melatonina, además de poseer actividad hipnótica dosis-dependiente, restablece el reloj biológico circadiano (actividad cronobiótica) y ha demostrado su eficacia en el tratamiento del Jet Lag al reducir los síntomas y acelerar la sincronización del reloj circadiano, sobre todo en los viajes en dirección Oeste. Lo habitual es que, para el tratamiento del Jet Lag, la melatonina se comience a tomar a partir del día de llegada al destino, sin que parezca que existan ventajas significativas cuando se comienza a tomar en los días previos al viaje<sup>2-4,7</sup>.

La melatonina exhibe efectos opuestos a la exposición lumínica, comportándose como una señal de oscuridad para el reloj biológico circadiano<sup>2</sup>. El momento de administración de la melatonina es crucial y debe elegirse cuidadosamente el adecuado para la sincronización circadiana: la administración de melatonina en la tarde-noche adelanta el reloj biológico, mientras que la administración de melatonina por la mañana lo retrasa<sup>2</sup>. La mayor parte de los estudios

de investigación que han evaluado la eficacia de la melatonina en el tratamiento del Jet Lag se han basado en su administración al anochecer tras un viaje en dirección al Este, lo cual parece correcto; pero este momento no es el adecuado para viajes en dirección Oeste, con 6-8 zonas horarias de cruce. En estos casos es preferible administrar una dosis baja de melatonina durante la propia noche.

Las nuevas presentaciones de melatonina, comprimidos de liberación prolongada o parches transdérmicos, prolongan su concentración sérica y sus efectos. Los fármacos melatónicos o análogos de melatonina son nuevas opciones de tratamiento del Jet Lag. Ramelteon, Agomelatina y Tasimelteon son agonistas de los receptores de melatonina MT1 y MT2 que han demostrado su eficacia en la reducción del comienzo de la latencia del sueño y en el reajuste del ritmo circadiano de melatonina, potencial indicación del tratamiento del Jet Lag<sup>11</sup>.

### Hipnóticos

Las benzodiazepinas más estudiadas en el ambiente aeronáutico han sido triazolam y temazepam, éste último no comercializado en España<sup>7</sup>. En los últimos años se han introducido paulatinamente, en el tratamiento del insomnio aeronáutico y espacial, los denominados hipnóticos no benzodiazepínicos que, aunque funcionalmente actúan sobre el mismo receptor benzodiazepínico-GABA<sub>A</sub>, lo hacen específicamente sobre subtipo 1, son los denominados hipnóticos «zeta»: zolpidem, zopiclona y zaleplon. De estos, zolpidem y zaleplon, especialmente este último, han sido los más investigados en medicina aeroespacial<sup>8</sup>.

La decisión de utilizar agentes hipnóticos durante el viaje debe tener en cuenta sus posibles efectos adversos, como la amnesia y la confusión. A los pacientes que previamente no hayan tomado medicamentos hipnóticos se les debe aconsejar tomar una dosis de prueba en su casa antes de utilizarlos durante el viaje. Otro factor a considerar es que la inmovilidad inducida por una medicación hip-

nótica puede aumentar aún más el ya elevado riesgo de trombosis venosa profunda asociada al transporte aéreo («síndrome de la clase turista o económica»)<sup>12</sup>.

### Psicoestimulantes

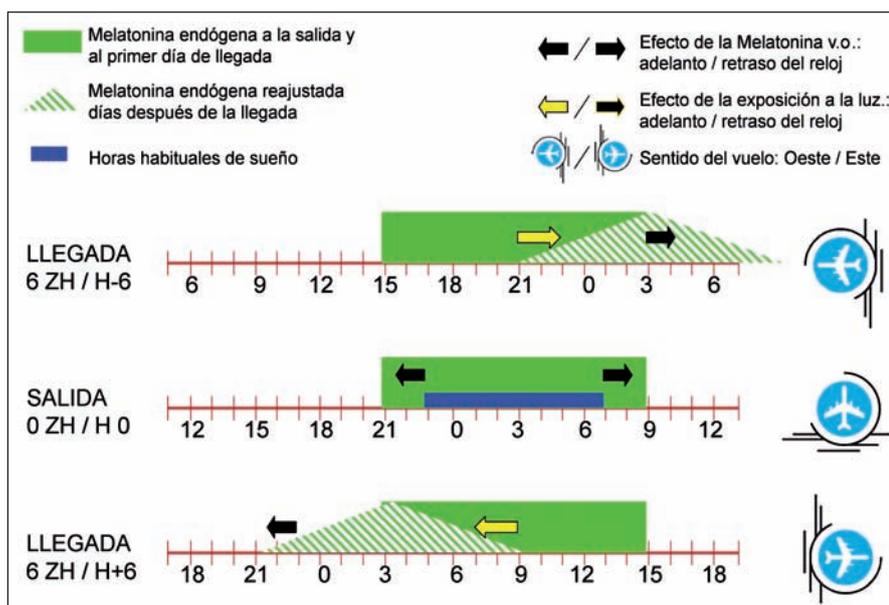
El aumento del consumo de cafeína puede contrarrestar la somnolencia diurna asociada con el Jet Lag. La cafeína de liberación prolongada aumenta el estado de alerta y reduce otros síntomas del Jet Lag después de atravesar siete zonas horarias en vuelos hacia el Este. El riesgo principal del consumo de cafeína es la exacerbación del insomnio asociado con el Jet Lag<sup>2</sup>.

El armodafinilo, simpaticomimético central estrechamente relacionado con el modafinilo, ha demostrado mejorar la vigilia después de un viaje aéreo a través de seis zonas horarias en dirección Este, administrándose a las 07:00 horas durante 3 días consecutivos después de la llegada, consiguiendo una reducción de la somnolencia diurna y un aumento del estado de alerta, si bien hubo una mayor incidencia de cefalea, náuseas y vómitos entre los sujetos que lo consumieron<sup>2</sup>.

### c) Tratamiento combinado

La utilización conjunta de luz brillante y de melatonina constituye la mejor herramienta de reajuste del reloj circadiano y se basa en los efectos inversos entre ambos: la respuesta a la exposición lumínica es mayor durante la noche, cuando la exposición solar mínima; mientras que la respuesta a la melatonina es mayor durante el día, cuando su secreción endógena es mínima<sup>2</sup>. La respuesta lumínica depende de la intensidad, duración, longitud de onda, patrón y antecedentes previos de exposición; mientras que la respuesta a la melatonina es dosis-dependiente.

El tratamiento combinado se basa en los mecanismos de ajuste del reloj circadiano a la salida y en destino, que ocurren tras cruzar



**Figura 2.** Cruce de zonas horarias, desajuste transitorio del reloj circadiano y reajuste facilitado por la toma de melatonina y/o por la exposición a la luz, según el sentido de vuelo. (ZH: zonas horarias. H: hora local. Explicación en el texto).

diferentes zonas horarias en avión, especialmente los horarios habituales de sueño, de secreción endógena de melatonina y de exposición lumínica<sup>2</sup>. El horario local de sueño habitual se sitúa entre las 23 y las 7 horas y la secreción de melatonina de 21 a 9 horas. En estas condiciones la exposición a la luz brillante durante la tarde y la primera parte de la noche retrasa el reloj circadiano (retraso de fase), mientras que la exposición a la luz brillante en la última parte de la noche y la mañana adelanta el reloj (avance de fase)<sup>2</sup>. Tras un viaje en avión se debe tener en cuenta que, a la llegada al destino, y durante el primer día después, tanto el reloj circadiano como sus respuestas a la exposición a la luz y a la administración melatonina, siguen el mismo patrón de la salida, no existiendo sincronización circadiana con las nuevas horas locales de sueño/vigilia (este desajuste entre el reloj circadiano y el horario local de sueño es la base fisiopatológica del Jet Lag)<sup>2</sup>. Durante los días sucesivos a la llegada al destino, y dada la gran sensibilidad lumínica del sistema circadiano, la exposición a

## El sueño en ambientes extremos

**Tabla 2.** Recomendaciones para minimizar los síntomas del Jet Lag y de la fatiga de vuelo. (Los números en negrita indican la dosis habitual. ZH: zonas horarias).

ESTRATEGIA	DIRECCIÓN OESTE	DIRECCIÓN ESTE
<b>ANTES DEL VIAJE</b>		
Ajustar reloj biológico	Acostarse 1-2h más tarde. Exposición luz noche.	Acostarse 1-2 h antes. Exposición luz mañana.
Sueño	1. No dejar los preparativos del vuelo para el último minuto. 2. Elegir un horario de vuelo que no altere el sueño.	
<b>A LA LLEGADA</b>		
Siesta	Dormir siesta cortas (30 minutos) los primeros días.	
Melatonina	Dosis bajas (1-3 mg) durante la 2ª mitad de la noche, hasta adaptarse a la hora local.	Dosis medias (3-5 mg) a la hora local de dormir, hasta adaptarse a la hora local.
Luz < 8 ZH de cruce	Exposición por la noche	Exposición por la mañana
Luz ≥ 8 ZH de cruce	Evitarla 2-3 horas antes del anochecer los primeros 2 días y, a partir del 3º, buscar la exposición por la noche.	Evitarla 2-3 horas después del amanecer los primeros 2 días, y a partir del 3º, buscar la exposición por la mañana.
Cafeína	Beber bebidas con cafeína por la mañana; pero evitar su consumo a partir del mediodía.	
Hipnóticos	Valorar zolpidem 5-10 mg o zaleplon 5-10 mg al acostarse durante los primeros días.	
<b>DURANTE EL VUELO</b>		
Confort	Tratar de viajar en clase superior.	
Bebidas	1. Beber suficiente agua para mantenerse hidratado. 2. No beber café si quiere dormir. 3. No beber alcohol si se va a tomar un hipnótico.	
Hipnóticos	1. Valorar zolpidem 5-10 mg o zaleplon 5-10 mg. 2. No tomar si existe riesgo de trombosis venosa profunda. 3. No combinar hipnótico con alcohol.	
Prevenir la trombosis venosa profunda	1. Cambiar de posición con frecuencia. 2. Hacer ejercicios con los pies. 3. Caminar, si es posible. 4. Valorar medias elásticas, dosis preventiva de Aspirina.	

la luz solar provocará cambios de fase encaminados reajustar el reloj biológico a la nueva hora local, sincronizándose los patrones de respuesta a la luz y a la melatonina (Fig. 2)<sup>2</sup>.

### SUEÑO Y VUELOS ESPACIALES

Los astronautas suelen tener dificultad para dormir durante el vuelo espacial, lo que parece deberse a una combinación de factores tales como la novedad y la emoción del vuelo espacial, la microgravedad, la cinetosis, las características de la misión, el estrés, la fatiga, el ruido ambiental, el reducido espacio de la nave y la ausencia

de ciclos circadianos habituales (la luz del sol y el calor entran por la ventana de la cabina cada 90 minutos)<sup>13</sup>. Los astronautas viven la experiencia de 16 puestas de sol cada 24 horas y un nuevo día aproximadamente cada 90 minutos. En este ambiente, la duración media del sueño de los astronautas es de 6-6,5 horas, existiendo más despertares y menos sueño SWS durante la tercera parte final del sueño. Tras el regreso a la Tierra el sueño REM experimenta un aumento significativo<sup>13</sup>.

La «mejora» del sueño, que algunos astronautas refieren, puede deberse a que los efectos de la gravedad cero reducen los ronquidos, al disminuirse la resistencia de las vías respiratorias superiores durante el sueño<sup>14</sup>.

La interrupción del sueño puede conducir a fatiga y a disminución del rendimiento de los astronautas. Para mejorar la calidad del sueño muchos astronautas han tomado hipnóticos (temazepam, zaleplon, melatonina). De hecho el 45 por ciento de todos los medicamentos utilizados por la tripulación del transbordador espacial son hipnóticos<sup>7,8,13</sup>.

#### PAUTAS DE TRATAMIENTO RECOMENDADAS PARA EL JET LAG

1. Un pasajero de avión va a realizar un vuelo en dirección Este, viaje ida y vuelta, cruzando 6 zonas horarias (ZH). Las recomendaciones médico-aeronáuticas serían (Tabla 1 y Fig. 2):
  - a) Antes de la salida (0 ZH), adelantar progresivamente el horario de sueño 2 horas y exponerse a la luz brillante al despertarse.
  - b) Al llegar al destino (+ 6 ZH, dirección Este), caminar con la luz brillante solar, beber una bebida con cafeína cada mañana y tomar melatonina a una dosis media (3 mg) a la hora de acostarse, durante 3 a 4 días, con el fin de acelerar el desplazamiento de fase a la nueva situación circadiana. Si la melatonina no bastara para facilitar el sueño, podría asociarse una dosis habitual de zolpidem (5 mg) o zaleplon (10 mg).
  - c) A su regreso (- 6 ZH, dirección Oeste), exponerse a la luz brillante durante la noche y tomar una pequeña dosis de la melatonina (1 mg) si se despierta antes de la madrugada.
2. Si, por el contrario, el pasajero fuera a volar en dirección Oeste, viaje ida y vuelta, cruzando 6 ZH, las recomendaciones médico-aeronáuticas serían (Tabla 1 y Fig. 2):
  - a) Antes de la salida (0 ZH), retrasar progresivamente el horario de sueño 2 horas y exponerse a la luz brillante al acostarse.
  - b) A llegar al destino (- 6 ZH, dirección Oeste), exponerse a la luz brillante durante la noche y tomar una pequeña dosis de la melatonina (1 mg) si se despierta antes de la madrugada.
  - c) A su regreso (+ 6 ZH, dirección Este), caminar con la luz brillante solar, beber una bebida con cafeína cada mañana y tomar melatonina a una dosis media (3 mg) a la hora

de acostarse, durante 3 a 4 días, con el fin de acelerar el desplazamiento de fase a la nueva situación circadiana. Si la melatonina no bastara para facilitar el sueño, podría asociarse una dosis habitual de zolpidem (5 mg) o zaleplon (10 mg).

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Buguet A. Sleep under extreme environments: effects of heat and cold exposure, altitude, hyperbaric pressure and microgravity in space. *J Neurol Sci* 2007; 262 (1-2): 145-152.
2. Sack RL. Jet Lag. *N Engl J Med* 2010; 362(5): 440-447.
3. Wegmann H. Jet Lag y sueño. En: Avances en la investigación del sueño y sus trastornos. Gualberto Buena-Casal y José Francisco Navarro Humanes (Eds.). Siglo Veintiuno de España Editores, S.A 1990. ISBN: 84-323-0677-0. Págs. 139-152.
4. Sack RL; Auckley D; Auger RR; Carskadon MA; Wright KP; Vitiello MV; Zhdanova IV. Circadian rhythm sleep disorders: Part I, basic principles, shift work and Jet Lag disorders. *Sleep* 2007; 30(11): 1460-1483.
5. Sack R; Auckley D; Auger RR; Carskadon MA; Wright KP; Vitiello MV; Zhdanova IV. Circadian rhythm sleep disorders: Part II, advanced sleep phase disorder, delayed sleep phase disorder, free-running disorder, and irregular sleep-wake rhythm. *Sleep* 2007; 30(11): 1484-1501.
6. Morgenthaler TI; Lee-Chiong T; Alessi C; Friedman L; Aurora N; Boehlecke B; Brown T; Chesson AL; Kapur V; Maganti R; Owens J; Pancer J; Swick TJ; Zak R; Standards of Practice Committee of the AASM. Practice Parameters for the Clinical Evaluation and Treatment of Circadian Rhythm Sleep Disorders. *Sleep* 2007; 30(11): 1445-1459.
7. Martínez Ruiz M. Tratamiento del insomnio en Medicina Aeronáutica. *Med Mil (Esp)* 2003; 59(4): 11-22.
8. Martínez Ruiz M, Ríos F, Esteban B. Seguridad y utilidad de zaleplon en operaciones aéreas. *Med Mil (Esp)* 2005; 61(1): 10-14.
9. The Joint Aviation Authorities (JAA) Committee. JAA Manual of Civil Aviation Medicine. Chap. 19. Pages:19-313 to 19-326. Amendment 6. Stage 01.06.07. Global Engineering Documents, Englewood, Colorado (USA). 1 June 2009.
10. The UK Civil Aviation Authority. Information Circular (AIC) 99/2004 (Pink 72). Medication, alcohol and flying. Aeronautical. National Air Traffic Services Ltd. Aeronautical Information Service. Control Tower Building, London Heathrow Airport (UK). 14 October 2004.
11. Ferguson SA, Rajaratnam SM, Dawson D. Melatonin agonists and insomnia. *Expert Rev Neurother*. 2010; 10(2):305-318.
12. Martínez Ruiz M, Martínez-Galdámez ME. Prevención de síndrome de la clase turista o de la trombosis del viajero. *Med Mil (Esp)* 2006; 62(4): 225-229.
13. Martínez Ruiz M. Retos de la Medicina Espacial en el siglo XXI. *Med Aeroesp Ambient* 2007; 5(2): 91-97.
14. Shi SJ, Garcia KM, Meck JV. Temazepam, but not zolpidem, causes orthostatic hypotension in astronauts after spaceflight. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41(1):31-39.

## Identificación sanitaria: la huella genética

Marqués Negrodo M<sup>A</sup>L.<sup>1</sup>, Sanz Zamarro M<sup>A</sup>I.<sup>2</sup>, Villa Rodríguez L.<sup>3</sup>, García Tejerina R.<sup>3</sup>, Álvarez-Maldonado Paramés T.<sup>1</sup>, Rubiano Rubiano JC.<sup>4</sup>, Coca Menchero S.<sup>5</sup>

*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 317-320; ISSN: 1887-8571*

### RESUMEN

Hasta hace poco, la identificación de los restos de las personas desaparecidas se basaban en comparar la información que se tenía de esas personas antes y después de la desaparición o la catástrofe. Hoy en día se ha introducido el análisis del ADN para la completa y fiable identidad de dichas personas. La variabilidad del genoma y la identificación de esa variabilidad a través del estudio de diversos polimorfismos (RFLP, SNP, etc) hacen que cada individuo se pueda separar de su semejante con un alto grado de fiabilidad (99'999 %) y al mismo tiempo se puede seguir su linaje. Estas técnicas han sido sometidas a procesos de validación y están altamente automatizadas. El sistema «AmpFISTR® Identifier™ PCR Amplification Kit» junto con el equipo «ABI Prism® 3130 Genetic Analyzer» de Applied Biosystems permiten la identificación de 15 loci más un marcador de sexo (amelogenina). El sistema CODIS está constituido por 13 STRs de los 15 que analiza este kit.

**PALABRAS CLAVE:** Polimorfismos de ADN, STR, AmpFISTR, huella genética.

### Medical identification: genetic fingerprint

#### SUMMARY

Until recently the identification of human remains was based on comparing the data available of the missing persons before and after their disappearance or the disaster. Nowadays DNA analysis allows complete and reliable identification. The variability of the genome and the identification of that variability through the study of different polymorphisms (RFLP, SNP, etc) facilitate the differentiation of individuals with a high degree of reliability (99.999 %) and simultaneously follow their lineage. These techniques have been validated and are highly automated. The system «AmpFISTR® Identifier™ PCR Amplification Kit», together with the «ABI Prism® 3130 Genetic Analyzer» of Applied Biosystems, allows the identification of 15 loci and one sex marker (amelogenin). The CODIS system is integrated by 13 STRs among the 15 analyzed by this kit.

**KEY WORDS:** DNA polymorphisms, STR, AmpFISTR, Genetic fingerprint.

El análisis de ADN para la identificación de evidencias humanas en el campo forense se hizo popular a partir de mediados de la década de los 90. Se analizan pequeñas regiones o trozos de la secuencia del ADN que se encuentran repetidos y dispersos por todo el genoma<sup>1</sup>. Al ser tan pequeñas están libres de artefactos como la presencia de dímeros entre las bases nitrogenadas o alteraciones de la hélice del ADN en ese tramo, por ejemplo, lo que minimiza los errores de lectura al copiarse, son fáciles de amplificar y están poco degradadas aunque la muestra sea mala o escasa. Además son regiones de ADN ampliamente polimórficas, por lo que varían de un individuo a otro haciendo muy difícil su coincidencia y no están relacionadas con patologías, lo que elimina susceptibilidades a la hora de establecer un perfil genético.

El ADN o ácido desoxirribonucleico se encuentra fundamentalmente en el núcleo de las células eucariontes. También se puede

hallar ADN en el interior de las mitocondrias, en los cloroplastos de las células vegetales y en el citoplasma de las células procariontes. Asimismo podemos encontrar ácidos nucleicos de origen viral<sup>2</sup>.

Podemos clasificar el ADN en:

1. Genes que codifican proteínas y se transcriben a ARN mensajeros.
2. Genes que transcriben ARN mensajero y transferente.
3. Genoma no codificante: DNA repetido, DNA espaciador y pseudogenes.

El genoma<sup>2</sup> es el conjunto total de material genético hereditario presente en una célula. La parte codificante del genoma, incluida en los genes, posee la información necesaria para dar lugar a los productos génicos: los RNAs y las proteínas que son los responsables de toda la actividad celular, de sus características morfológicas y de muchas de las claves del comportamiento de un organismo, desde la embriogénesis a su crecimiento, maduración física e intelectual, estado adulto, reproducción y todas sus funciones metabólicas y actividades fisiológicas.

El ADN genómico nuclear es una entidad altamente variable. Esta diversidad es responsable de fenómenos como la evolución de las especies y, dentro de una misma especie, de la presencia de características diferenciales para cada individuo, únicas e irrepetibles.

La variabilidad genética se observa en variaciones en la secuencia del genoma producidas por diferentes mecanismos. Estas varia-

<sup>1</sup> Lda. en Biología (Genetista). Servicio de Anatomía Patológica. Unidad de Identificación Sanitaria.

<sup>2</sup> Dra en Biología (Genetista). Servicios Centrales.

<sup>3</sup> Tte. Enfermera. Servicio de Anatomía Patológica. Unidad de Identificación Sanitaria.

<sup>4</sup> Auxiliar de Enfermería. Servicio de Anatomía Patológica. Unidad de Identificación Sanitaria.

<sup>5</sup> Col. Médico. Servicio de Anatomía Patológica.

Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Madrid.España.

**Dirección para correspondencia:** M<sup>a</sup> Luisa Marqués Negrodo. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Glorieta del Ejército, s/n. 28047 – Madrid. Tno: 914222547. mmarneg@oc.mde.es

Recibido: 28 de octubre de 2010

Aceptado: 13 de enero de 2011

ciones afectan tanto a regiones codificantes como a las no codificantes del genoma. En ambos casos pueden consistir en la variación de un solo par de bases del ADN o de varios pares de bases. A su vez, cualquier variación puede tener lugar en las células reproductoras, con lo que será transmitido a la descendencia, o bien se puede producir en células somáticas, sin repercusión en la descendencia (como los polimorfismos que ocurren en la mayoría de los cánceres).

Hoy en día *polimorfismo*<sup>2,3</sup> se define como la existencia simultánea de una población de genomas con distintos alelos para un *locus* determinado. Un polimorfismo es considerado como tal cuando su frecuencia en la población es superior al 1 %. Los alelos son variaciones de la secuencia de ADN presente en un *locus*. Un *locus* es una posición definida en un cromosoma. Consecuentemente, en una célula diploide (dotación doble de ADN; ejemplo: paterno y materno) cada *locus* está ocupado por dos alelos, uno de origen paterno y otro de origen materno. Por lo tanto, individuos heterocigotos para un *locus* concreto serán aquellos que muestran dos alelos con diferentes secuencias en ese *locus*, e individuos homocigotos serán aquellos que han heredado el mismo alelo (misma secuencia) de cada progenitor.

Como todo polimorfismo es el reflejo del genotipo de los individuos, surge el concepto de *individualidad genética*, entendida como la presencia en todo individuo de un genoma con una secuencia característica y única para ese individuo. Dentro de una misma especie, en este caso la humana, la *huella genética* trata de determinar la individualidad genética analizando polimorfismos, que pueden ser fisiológicos o normales y patológicos.

## MECANISMOS IMPLICADOS EN LA VARIABILIDAD GENÉTICA

Son varios los mecanismos que producen variabilidad genética y normalmente no actúan por separado. Actúan desde la morfogénesis y durante toda la vida del individuo<sup>2,4</sup>. La causa última del polimorfismo es la existencia de mutaciones en el ADN.

## CONSECUENCIAS FUNCIONALES DEL POLIMORFISMO<sup>2</sup>

El polimorfismo puede tener distinta transcendencia desde el punto de vista funcional, dependiendo de la región de ADN a la que afecte.

### 1. Polimorfismos en regiones génicas codificantes

De la parte codificante del genoma humano (de 20.000 a 25.000 genes según el estudio del genoma humano) se cree que unas tres cuartas partes son genes monomorfos, esto es, genes únicos compartidos sin variación por todos los individuos. Son el genoma común de la especie humana. La cuarta parte restante son polimorfos y sus variaciones determinan el polimorfismo génico.

### 2. Polimorfismos en regiones génicas no codificantes

Existen regiones dentro de los genes que no se traducen en su producto génico. Aunque este polimorfismo no afecte a la secuencia de la proteína, sí puede afectar a su expresión.

### 3. Polimorfismos en regiones no génicas

No tienen efecto en el fenotipo. Sin embargo sí son de interés para la identificación genética de individuos.

### 4. Polimorfismos en el genoma mitocondrial

En el genoma mitocondrial<sup>2</sup> más del 93 % de la molécula del ADNmt es codificante. Además, el ADNmt es marcador de linaje puesto que las mitocondrias son heredadas por vía materna.

## APLICACIONES DE LOS POLIMORFISMOS DE ADN

1. Los polimorfismos del ADN que no tienen efecto fenotípico se utilizan para la comprobación de la identidad (huella genética).
2. Los polimorfismos que tienen una contribución mínima o leve a la susceptibilidad frente a ciertos procesos patológicos poseen interés médico especialmente en la prevención de enfermedades complejas.
3. Y los polimorfismos que desempeñan un papel directo en la aparición de una patología son de interés para establecer un diagnóstico o un seguimiento de la enfermedad del paciente, así como para el estudio de los mecanismos moleculares de la enfermedad.

## ¿CÓMO SE HACE LA HUELLA GENÉTICA?

Desde la correcta recepción de la muestra hasta la elaboración del informe médico-legal, el proceso consta de una serie de etapas.

### 1. Extracción del ADN

De cualquier muestra orgánica se puede extraer ADN: de un resto humano como un diente, pelo, sangre, saliva, semen, etc. En nuestro caso, y como método más cómodo y seguro de almacenar vestigios biológicos para determinación *a posteriori* de ADN, se utilizan muestras de sangre recogidas en unas tarjetas tratadas con una química especial. Las FTA® Cards de Whatman® son unas tarjetas que están impregnadas con una fórmula química patentada que lisa las membranas celulares y desnaturaliza las proteínas al contacto. Los ácidos nucleicos quedan físicamente atrapados, inmovilizados y estabilizados para que puedan ser almacenados a temperatura ambiente. Las FTA's protegen a los ácidos nucleicos de las nucleasas, de la oxidación, del daño de las radiaciones UV y de ataques de microbios y hongos. Los patógenos infecciosos quedan inactivados por contacto con las FTA's. Los ácidos nucleicos quedan estabilizados durante años.

Nuestras muestras se recogen en la Unidad de Identificación Sanitaria dentro del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Central de la Defensa «Gómez Ulla» de Madrid, en tarjetas «Gene Storage Matrix™» que están personalizadas para el Ministerio de Defensa. Éstas se fabrican en entorno GMP sala blanca 10,000/100,000 bajo estándares ISO9001:2002 y aprobado por FDA para dispositivos médicos de Clase III. Son de Control Biogen, S. L..

De las tarjetas se extrae un disco de 2 mm de los cuales se puede conseguir entre 10 y 30 ng de ADN. Sobre el ADN de este disco se aplica la amplificación de las secuencias que vamos a identificar para establecer el perfil genético.

### 2. Cuantificación del ADN

Cuando las muestras no se han recogido en soportes tipo FTA, es conveniente hacer una cuantificación del ADN obtenido.

En nuestro laboratorio la cuantificación se lleva a cabo mediante una reacción de PCR a tiempo real. Se realiza una curva patrón de referencia sobre la que se va a extrapolar la concentración de ADN de la muestra. Para que la cuantificación sea óptima se deben tener en cuenta una serie de valores de la prueba (pendiente de la curva patrón, R2, línea basal, ruido de inicio,...)<sup>5</sup>. Es un paso importante ya que se necesita saber con qué cantidad de ADN se está trabajando a fin de que las posteriores reacciones de PCR y análisis de fragmentos salgan bien.

### 3. Amplificación del ADN

La PCR o reacción en cadena de la polimerasa, es una técnica de amplificación *in vitro* de pequeños segmentos de ADN con la que a partir de una única copia de ADN podemos obtener millones de copias. Los cebadores o primers empleados están marcados con diferentes fluorocromos (6-FAM<sup>TM</sup>, VIC<sup>®</sup>, NED<sup>TM</sup>, PET<sup>®</sup>) para obtener fragmentos marcados. El «AmpFISTR<sup>®</sup> Identifier<sup>TM</sup> PCR Amplification Kit» proporciona primers para amplificar 16 STR que son coamplificados en un mismo tubo para cada muestra<sup>5-10</sup>.

### 4. Análisis de secuencias de ADN

Los polimorfismos que podemos analizar son de distintos tipos<sup>(3,11,12)</sup>:

- Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP).
- Polimorfismos en el número de repeticiones en tándem (VNTR y STR).
- Polimorfismos de secuencia (SNP).

En el caso de la huella genética se detectan y analizan STR<sup>1</sup>. Los STR o microsatélites aparecen en el ADN no codificante repetitivo<sup>2,4</sup>. Son repeticiones de secuencias de entre 1 y 7 pares de bases colocados en tándem. Son altamente polimórficos y de herencia mendeliana simple. Las grandes ventajas de los STR son su estabilidad y la posibilidad de PCR multiplex con las que se puede amplificar varios *loci* microsatélite simultáneamente a partir de una muestra minúscula. El polimorfismo STR, entre dos individuos y/o entre los dos alelos de un mismo individuo, surge porque el número de repeticiones que forma cada alelo no es el mismo.

El análisis de fragmentos se realiza mediante una electroforesis, que en este caso es capilar y automática, en la que un láser nos identifica los fragmentos que hemos obtenido de cada muestra en la amplificación. La electroforesis capilar la llevamos a cabo en el 3130 Genetic Analyzer de Applied Biosystems<sup>®</sup>. Los datos son analizados con el software GeneMapper<sup>®</sup> (Applied Biosystems<sup>®</sup>). Estos datos se muestran en un electroferograma de picos correspondientes

a cada STR. El conjunto de los STR nos dará el perfil genético de la muestra. En Estados Unidos se basan en un total de 13 *loci* para determinar un perfil genético individual. Allí, la información de estos perfiles se encuentra almacenada en bases de datos de ADN tales como el CODIS (Combined DNA Index System). El sistema británico utiliza bases de datos con perfiles de ADN de STR de 10 *loci* (NDNAD). Los datos proporcionados por estos *loci* están aceptados por la European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) y por organizaciones de la Interpol<sup>5,7,8</sup>.

De los STR del AmpFISTR<sup>®</sup> Identifier<sup>TM</sup> PCR Amplification Kit constituyen el sistema CODIS los siguientes: CSF1PO, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, FGA, TH01, TPOX y vWA. Pero además este kit proporciona información sobre otros tres *loci* más: D2S1338, D19S433 y el *locus* de la amelogenina (marcador de sexo).

### 5. Valoración probabilística

Una vez que se obtiene el perfil genético<sup>1,3</sup>, éste pasa por un proceso de cotejo. Se coteja el perfil genético obtenido con bases de datos como el CODIS, valorando si hay coincidencias o no. La no coincidencia implica la exclusión mientras que si es coincidente habría que hacer una interpretación estadística que requiere a su vez de estudios poblacionales con la estimación de las frecuencias alélicas de los marcadores genéticos empleados. Se calcula el poder de coincidencia y el likelihood ratio (LR).

Nuestro caso sería más sencillo ya que cotejaríamos los perfiles obtenidos con los obtenidos de las muestras recogidas en nuestro Servicio.

### 6. Elaboración del informe

Finalmente se emite un informe médico-legal.

Estas etapas tienen un precedente básico que es la correcta recogida de muestras y el envío de los vestigios al laboratorio. Las condiciones en las que llegan las muestras no siempre son las mejores para extraer el ADN. Aquí entra la denominada «cadena de custodia» de los vestigios que es de suma importancia en este proceso de identificación.

Ejemplo de una determinación de huella genética con AmpFISTR<sup>®</sup> Identifier<sup>TM</sup> PCR Amplification Kit en la que podemos ver un individuo con el genotipo de la figura 1.

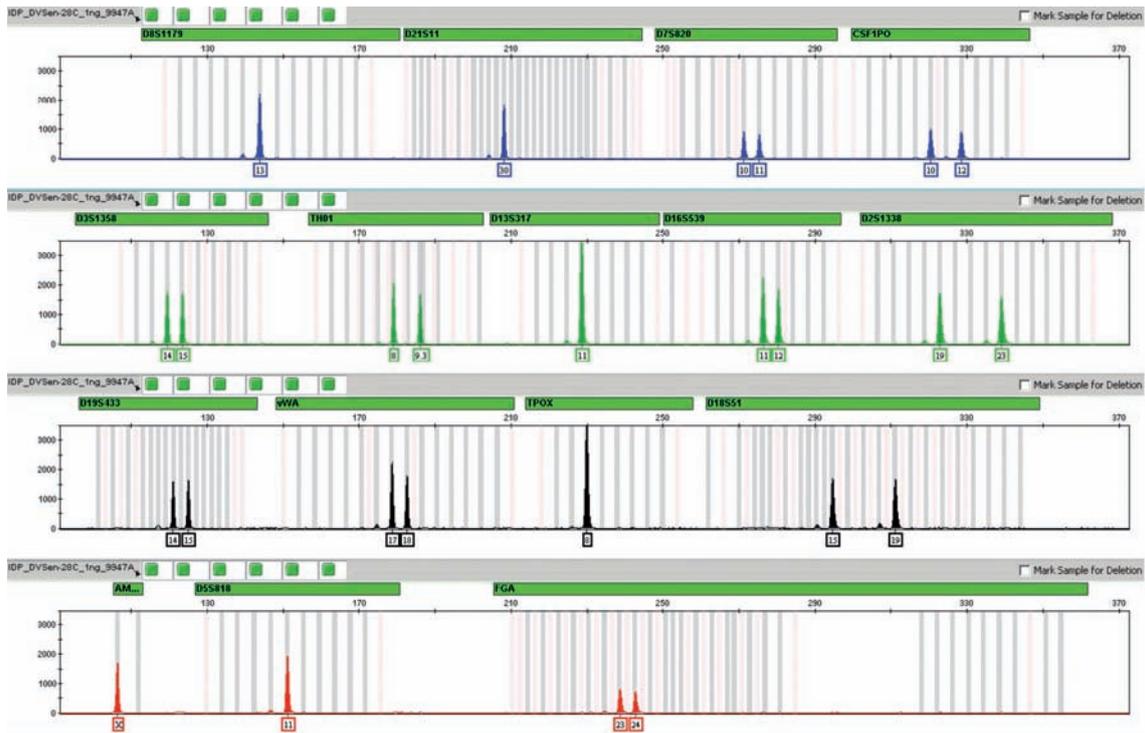
Cada muestra presentará un perfil genético o conjunto de alelos determinado. Para el caso de arriba, esos alelos son: 13 (D8S1179), 30 (D21S11), 11 (D7S820), 10/12 (CSF1PO), 14/15 (D3S1358), 8/9.3 (TH01), 11 (D13S317), 11/12 (D16S539), 19/23 (D2S1338), 14/15 (D19S433), 17/18 (vWA), 8 (TPOX), 15/19 (D18S51), X (amelogenina), 11 (D5S818) y 23/24 (FGA).

El cotejo de dicho perfil nos indicará la probabilidad de su exclusión o no en un delito, por ejemplo.

### AGRADECIMIENTOS

Al Teniente Coronel José M<sup>a</sup> Delgado Pérez.

Al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Central de la Defensa «Gómez Ulla» de Madrid donde se desarrolla tan interesante actividad.



**Figura 1.** Análisis de 1 ng del ADN 9947A, usado como control, amplificado con el kit AmpFISTR® Identifier™ Plus y analizado en el analizador genético 3130xl de Applied Biosystems<sup>7</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Curso Teórico de introducción a la Genética Forense. 1ª Edición. 16-17 Diciembre 2009. Laboratorio de Genética Forense y Genética de Poblaciones. Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. SIGEN. COBCM.
2. Luque J, Herráez A. Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética. Conceptos, Técnicas y Aplicaciones en Ciencias de la Salud. 2001 Ediciones Harcourt, S.A.. ISBN:84-8174-505-7.
3. [http://www.um.es/biomytiotec/web/Seminarios/2008/papers/MV\\_Lareu\\_clase\\_genetica\\_forense.pdf](http://www.um.es/biomytiotec/web/Seminarios/2008/papers/MV_Lareu_clase_genetica_forense.pdf)
4. Biología Molecular. Curso on-line de la Fundació IL3-UB. Instituto de Formación Continua. Universitat de Barcelona. 2009.
5. Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer. Bea Cabot. Diciembre 2009. User's Guide. Applied Biosystems®
6. [http://es.wikipedia.org/wiki/Huella\\_de\\_ADN](http://es.wikipedia.org/wiki/Huella_de_ADN).
7. AmpFISTR Identifier Plus PCR Amplification Kit. User's Guide. Applied Biosystems®
8. <http://en.wikipedia.org/wiki/CODIS>
9. Sipes DE, Harris JA, Bethune MT, Cotton RW. Validation of the AmpFISTR® Identifier™ PCR Amplification Kit using the ABI Prism® 310 Genetic Analyzer. Orchid Cellmark, Germantown, MD 20876.
10. Patrick J. Collins, BA, Hennessy LK, Leibelt GS, Rhonda K, Rody MP, Reeder DJ, Foxall PA. Developmental Validation of a Single-Tube Amplification of the 13 CODIS STR Loci, D2S1338, D19S433 and Amelogenin: The AmpFISTR® Identifier™ PCR Amplification Kit. J Forensic Sci, 2004; 29(6): Paper ID JFS2002195. Available online at: [www.astm.org](http://www.astm.org).
11. [http://en.wikipedia.org/wiki/Short\\_tandem\\_repeat](http://en.wikipedia.org/wiki/Short_tandem_repeat).
12. Conferencia sobre «Conceptos en Genética y Cáncer». M<sup>a</sup> Luisa Martín Ramos. Dra en Biología. Servicio de Genética. Hospital «12 de Octubre» de Madrid.

## Dolor lumbar irradiado a testes y calcificación en radiografía de abdomen

Salinas Vela FT., Fernández Antón R.<sup>1</sup>

*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 321-322; ISSN: 1887-8571*

### INTRODUCCIÓN

Paciente de 65 años sin alergias conocidas y con antecedentes previos de hipertensión arterial, insuficiencia venosa en miembros inferiores, lumbalgias, cólicos nefríticos y amigdalectomizado en la infancia.

Acude al servicio de urgencias por dolor en región lumbar que desciende a testículos. A la exploración existe abdomen blando y depresible con dolor lumbar izquierdo con descenso a testes y puño-percusión negativa.

Se solicita una ecografía abdominal para descartar nefrolitiasis sin hallazgos relevantes. El paciente aporta una radiografía abdominal realizada en urgencias en la que se observa un aumento de densidad en zona inferior de la placa sugiriendo la presencia de una masa abdominal. Asimismo es visible una tenue zona de mayor aumento de densidad radiológica apreciable principalmente en el borde izquierdo de la masa anteriormente aludida y que parece contornearla sugiriendo la posibilidad de la existencia de calcificación lineal a dicho nivel. Es de notar igualmente el borramiento de parte del músculo psoas izquierdo en comparación con la zona derecha de la radiografía (fig 1).



**Figura 1.** Ver comentario en el texto.

<sup>1</sup> Cap. Médico Especialista en Formación.

<sup>2</sup> Col. Médico.

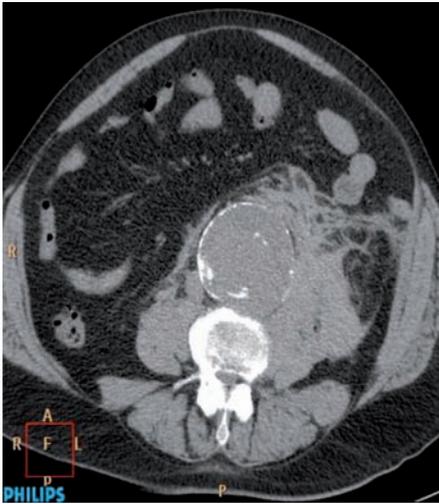
Servicio de Radiodiagnóstico: Hospital Central de la Defensa «Gómez Ulla»

**Dirección para correspondencia:** Francisco Tomás Salinas Vela. Servicio de Radiodiagnóstico. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Glorieta del Ejército, s/n. 28047 Madrid. E-mail: fsalvel@fn.mde.es

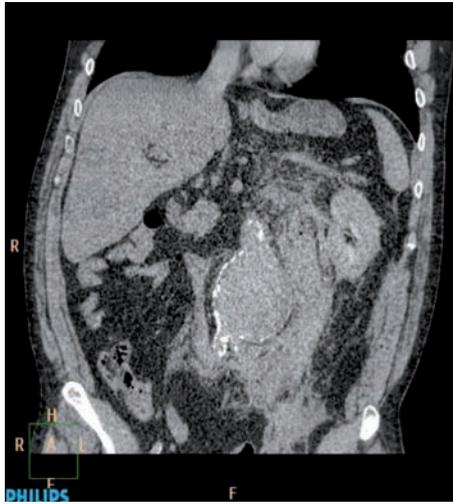
Recibido: 3 de mayo de 2010

Aceptado: 12 de abril de 2011

## Diagnóstico: Aneurisma aórtico roto



**Figura 2.** TC axial. Aneurisma aórtico roto con extravasación de sangre



**Figura 3.** TC coronal. Muestra como el aneurisma interesa la bifurcación de la aorta abdominal con las arterias ilíacas primitivas.



**Figura 4.** TC sagital con contraste intravenoso. Muestra el aneurisma aórtico en relación con el resto de la aorta. Las áreas de menor densidad corresponden a zonas trombosadas del aneurisma.

### HALLAZGOS EN TOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA

Se realiza TC abdominopélvica sin y con administración de contraste intravenoso observando una gran dilatación de la aorta abdominal en su porción infrarrenal de unos 8,5x8 cms de diámetro máximo y que se identifica como un gran aneurisma. En cortes de TC más inferiores se observa que dicho aneurisma interesa la bifurcación de las arterias ilíacas primitivas. Con el uso de contraste intravenoso se observan áreas de mayor densidad que se interpretan como la luz propia del vaso y otras más hipodensas que sugieren zonas trombosadas dentro del aneurisma. Adyacente a la lesión se observa gran colección de densidad partes blandas mal definida sobre todo en flanco izquierdo sugiriendo sangrado y por tanto la existencia de ruptura en dicho aneurisma.

### COMENTARIO

Un aneurisma se define como una dilatación circunscrita de una arteria. El aneurisma verdadero afecta a las tres capas de la pared aórtica (íntima, media y adventicia), siendo sus formas la esférica, sacular o fusiforme. En su etiología destaca la enfermedad aterosclerótica que debilita la pared del vaso y permite la dilatación del mismo debido a una presión sanguínea intraaórtica elevada. Su

localización, en al menos el 90% de los casos, es infrarrenal y su rotura se relaciona con el tamaño; así los mayores de 5 cms lo hacen aproximadamente en un 5%, los mayores de 6 cms aproximadamente en un 20% y los mayores de 7 cms hasta en un 75%. Cuando un aneurisma se rompe la mortalidad oscila entre un 75-95%. La clínica más frecuente suele ser dolor abdominal, masa pulsátil e hipotensión arterial.

Los principales signos son:

- En la radiografía abdominal: la calcificación aórtica que dibuja el aneurisma.
- En la tomografía computerizada (TC)<sup>1</sup>:
  - Calcificación de la pared aórtica y del aneurisma.
  - Realce de la luz verdadera con el contraste intravenoso, mientras que la zona que no realza suele ser trombo.
  - Signo de la semiluna de hiperatenuación: la sangre disecciona la zona trombosada dirigiéndose hacia la pared (signo de rotura inminente).
  - Cuando se rompe suele aparecer sangre en área pararenal y perirrenal, así como extravasación activa de contraste.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Webb W.R., Brant W.E., Major N.M. Fundamentos de TAC Body 3ª Ed. Marban libros 2007.
2. Rakita D. et al. Spectrum on CT findings in rupture and impending rupture of abdominal aortic aneurysms. Radiographics mar-apr 2007 27:497-507.

## Cólico nefrítico y hallazgo casual torácico

Martín García AM<sup>a</sup>.<sup>1</sup>, Hernández Navarro JC.<sup>2</sup>, Baquero López FR.<sup>3</sup>

*Sanid. mil. 2011; 67 (3): 323-324; ISSN: 1887-8571*

Varón de 36 a que padece cólico renoureteral litiasico izquierdo y se realiza RX de abdomen y tórax (Figuras 1 y 2) en urgencias. Tras la resolución del cuadro urológico, es remitido a Radiología por el neumólogo para realizar ecografía torácica para estudio de posible derrame pleural y marcaje en piel para toracocentesis.

La ecografía descarta derrame, tampoco encapsulado subpulmonar. En la parte inferior del hemitórax derecho existe un tejido ecogénico-sólido de naturaleza indeterminada. Se realiza TAC (Figuras 3-6).

El único antecedente referido era una caída de moto hace varios años.



Figura 1



Figura 2

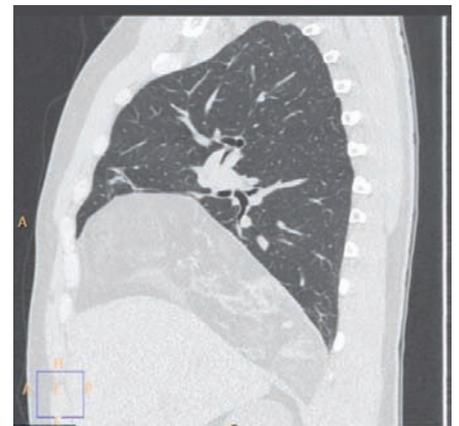


Figura 3



Figura 4



Figura 5



Figura 6

<sup>1</sup>Cte. Médico. Servicio de Radiodiagnóstico.

<sup>2</sup>Col Médico. Servicio de Radiodiagnóstico.

<sup>3</sup>Tcol Médico. Servicio de Cirugía Torácica.

Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla.

**Dirección para correspondencia:** A. María Martín García. Servicio de Radiodiagnóstico. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Glorieta del Ejército s/n. 28047 Madrid.

Recibido: 3 de marzo de 2010

Aceptado: 26 de mayo de 2011

## Diagnóstico: Timolipoma

Tras la realización de la ecografía y la consulta al clínico, se procede a realizar TC que objetiva un material de atenuación dominante en rango de grasa con tractos o cordones de mayor atenuación. En su conjunto se adapta a estructuras anatómicas adyacentes y la localización dominante es subpulmo-

nar derecha. No existen discontinuidades frénicas, ni lesiones costales.

Existe una fina conexión aparente anterior y superior con el mediastino.

Fue extirpada una masa de consistencia blanda de 1.365 gr .

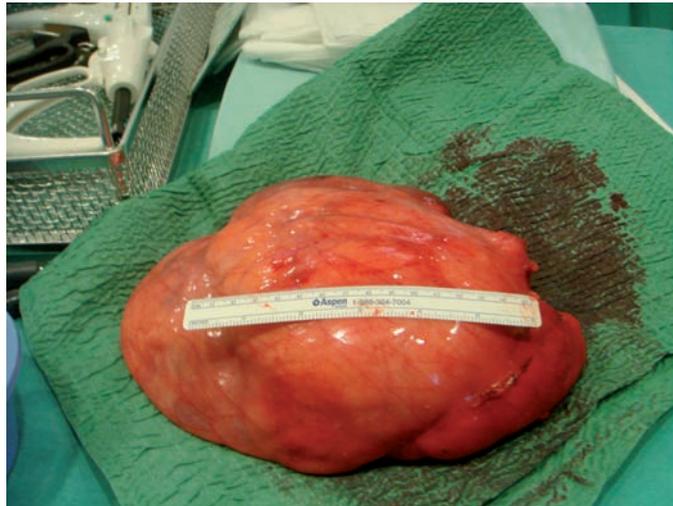


Figura 7

El timolipoma es una tumoración benigna rara que puede crecer mucho sin dar síntomas, debido a que no infiltra y se adapta a estructuras adyacentes con localizaciones intratorácicas que pueden resultar «atípicas» a pesar de su dependencia mediastínica.

**Diagnóstico diferencial:** debido al componente dominante graso y a la situación inferior en el tórax así como a los «cordones» y reticulación interna, con el antecedente antiguo traumático, nos hizo pensar en primer lugar en la posibilidad de herniación diferida por rotura frénica. Se descartó algún tipo de continuidad trasfrénica.

La conexión mediante prolongación estrecha demostrada en los cortes coronales anteriores (Figura 5 flechas) con el mediastino anterosuperior dio la clave para sugerir el diagnóstico que se confirmó con la cirugía y anatomía patológica.

En la bibliografía se habla de timolipomas gigantes<sup>1-3</sup> pero no hemos encontrado referencias de tamaños mayores que el que mostramos.

### BIBLIOGRAFÍA

1. C. Roque, P. Rodríguez , C. Quintero, N. Santana, M. Hussein and J. Freixineta; Timolipoma gigante; Archivos de Bronconeumología Volume 41, Issue 7, July 2005, Pages 402-403.
2. Naidich, Webb, Müller, Krinsky, Zerhouni, Siegelman -»Tórax, TC y RM«. Pag. 74. Edit Marban 3ª Ed 2000.
3. W. Richard Webb, Charles B. Higgins»Thoracic Imaging»Pag.223-225 Edit Lippincott Williams& Wilkins. 2005.

## Melatonina y jet lag ¿un suplemento alimenticio o un principio activo de interés militar?

Excmo. Sr. G. D. Médico Director de Sanidad Militar:

La desadaptación horaria (jet lag) afecta con frecuencia a los que viajan en avión y cruzan varias zonas horarias, como es el caso del personal militar en misiones internacionales.

Los síntomas del jet lag son principalmente fatiga diurna y trastornos del sueño, pero incluyen también pérdida de la eficiencia mental, debilidad e irritabilidad<sup>1</sup>.

La melatonina es una hormona liberada por la glándula pineal durante el periodo de oscuridad. Parece jugar un papel clave en la regulación de los ritmos circadianos, habiéndose utilizado desde el punto de vista terapéutico para la adecuación de los ritmos circadianos alterados.

Merece mención en el ámbito militar, un ensayo clínico realizado en soldados americanos en el que la melatonina ayudó a la adaptación circadiana y mantuvo las duraciones del sueño de siete a ocho horas en la zona de destino, mientras que con el placebo el sueño fue de cinco a siete horas. Además, en la pruebas cognitivas realizadas inmediatamente después de despertar, el grupo que recibía melatonina tuvo cerca de la mitad de errores del grupo que recibía placebo<sup>2</sup>.

En relación al jet lag, la biblioteca Cochrane ha realizado un metaanálisis de 10 ensayos clínicos (EECC) aleatorios con el fin de evaluar la eficacia de melatonina. La población a estudiar fueron pasajeros de líneas aéreas, personal de las líneas aéreas o personal militar a los que se administró melatonina oral *versus* placebo u otra medicación, valorando desadaptación horaria (a través de una escala visual analógica con puntuación de 0 = nula desadaptación a 100 = desadaptación completa) o componentes relacionados (bienestar, cansancio en horario diurno, comienzo y calidad del sueño, funcionamiento psicológico, duración del retorno a la normalidad) o indicadores de los ritmos circadianos. Los resultados muestran una diferencia de medias en la escala visual analógica entre el grupo que se le administró melatonina *versus* al grupo que se le administró placebo de -19,52 con un IC 95% de -28,13 a -10,92 en vuelos hacia el este y una diferencia de medias de -17,27 con un IC 95% de -27,28 a -7,26 en vuelos hacia el oeste. Por otro lado, en 2 EECC se estudia como variable la proporción de personas con puntuación de desadaptación horaria > 60, obteniendo una diferencia de riesgo de -0,50 con un IC 95% de -0,74 a -0,25, a favor del grupo que recibía melatonina; por tanto, sólo sería preciso tratar a dos personas con melatonina en lugar de con placebo para evitar un desadaptación horaria > 60. Respecto a la dosificación y seguridad de la melatonina, se muestra que las dosis diarias de melatonina entre 0,5-5 mg son igual de efectivas, no habiendo mejoría con dosis superiores; que presentaciones de melatonina de vida media corta son más efectiva que las presentaciones de melatonina de liberación prolongada y que su uso ocasional a corto plazo por adultos se considera seguro<sup>3</sup>.

La melatonina está comercializada como suplemento alimentario desde hace más de 20 años en EEUU, así como en otros países, como Canadá, México, Argentina, Venezuela, Rusia, Polonia, Hungría o Italia<sup>4</sup>.

En España es considerada como principio activo con actividad farmacológica, no aceptándose su comercialización como complemento alimenticio según la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). La primera autorización por parte de la Agencia Europea del Medicamento (EMA) de este principio activo (en comprimidos de liberación prolongada de 2 mg) se ha realizado en junio de 2007, sin embargo aún no está comercializado el medicamento en nuestro país y su indicación se ha restringido, según ficha técnica, al tratamiento a corto plazo del insomnio primario en pacientes mayores de 55 años<sup>4-6</sup>.

Herxheime A y Petrie KJ, en la revisión realizada sobre melatonina y jet lag, señalan que el uso de ésta el día del viaje y hasta 4 días después de la llegada puede aumentar marcadamente la efectividad y eficiencia del despliegue militar<sup>3</sup>.

Los autores nos preguntamos si teniendo en cuenta la eficacia, seguridad, utilidad militar y la no comercialización de este suplemento alimenticio/principio activo en España, debiera plantearse la incorporación en el Petitorio de Farmacia de la melatonina y su fabricación por parte de los Laboratorios Farmacéuticos Militares.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Sack R. Jet Lag. *N Engl J Med* 2010; 362: 440-7
2. Comperatore CA, Lieberman HR, Kirby AW, Adams B, Crowley JS. Melatonin efficacy in aviation missions requiring rapid deployment and night operations. *Aviat Space Environ Med*, 1996; 67: 250-4
3. Herxheime A, Petrie KJ. Melatonina para la prevención y tratamiento de la desadaptación horaria ("jet lag») (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 2. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
4. CLAVIS. Disponible en: <http://www.melatonina.es/articulos/224-2010-02-28.html>. Consultado: 08/06/2011
5. AEMPS. Disponible en: <https://sinaem4.agemed.es/consaem/fichasTecnicas.do?metodo=buscar>. Consultado: 08/06/2011
6. EMA. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/es\\_ES/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000695/WC500026811.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000695/WC500026811.pdf). Consultado: 08/06/2011

Cte. Médico García-Luque A.  
Tcol. Médico Puerro Vicente M.  
Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla.  
Servicio de Farmacología Clínica.

# NORMAS DE PUBLICACIÓN

## (Revisadas Enero – 2011)

**Sanidad Militar** la Revista de Sanidad de las Fuerzas Armadas de España publicará las observaciones, estudios e investigaciones que supongan avances relevantes para la Sanidad Militar. Se dará prioridad a los trabajos relacionados con la selección del personal militar, el mantenimiento y recuperación de su estado de salud, la epidemiología y medicina preventiva la medicina pericial y forense, la logística sanitaria y la medicina de urgencia y catástrofe. Acogerá igualmente las opiniones personales e institucionales que expresen ideas novedosas y ponderadas o susciten controversias para beneficio de sus lectores. También serán bienvenidas las colaboraciones espontáneas sobre historia y humanidades en especial las que tengan relación con la Sanidad Militar.

Lo publicado en **Sanidad Militar** no expresa directrices específicas ni la política oficial del Ministerio de Defensa. Los autores son los únicos responsables de los contenidos y las opiniones vertidas en los artículos.

**Sanidad Militar** asume y hace propios los «Requisitos uniformes para preparar los manuscritos presentados para su publicación en las revistas biomédicas», acordados por el International Committee of Medical Journal Editors<sup>1</sup>.

Salvo en circunstancias excepcionales, **Sanidad Militar** no aceptará documentos publicados con anterioridad o artículos remitidos paralelamente para su publicación en otra revista.

Los trabajos a publicar como «Artículos originales» y «Revisiones», serán sometidos a un proceso de revisión por pares, por parte de expertos en el tema del artículo. Pero la decisión final sobre su publicación compete exclusivamente al Comité de Redacción. El resto de artículos permite la revisión por un solo experto.

Es preferible que los artículos no vayan firmados por más de 6 autores. Las cartas al director no deberían ir firmadas por más de 4 autores. Los firmantes como autores deben estar en condiciones de acreditar su calidad de tales.

Los colaboradores pueden dirigir sus manuscritos para ser incluidos en alguna de las siguientes secciones de la Revista:

**Artículos originales.**—Estudios retrospectivos o prospectivos, ensayos clínicos, descripción de series, trabajos de investigación clínica o básica. La extensión no superará 4.000 palabras de texto o 20 páginas (incluyendo la bibliografía e ilustraciones). Podrán contener hasta 8 tablas y figuras. Se aceptará un máximo de 50 referencias bibliográficas. Deben acompañarse de un resumen estructurado que no supere las 250 palabras.

**Comunicaciones breves.**—Observaciones clínicas excepcionales o artículos científicos que no precisan más espacio. La extensión no superará 2.000 palabras de texto o 10 páginas (incluyendo la bibliografía e ilustraciones). Podrán contener hasta 4 tablas y figuras. Se aceptará un máximo de 20 referencias bibliográficas. Se acompañarán de un resumen no estructurado que no supere las 150 palabras.

**Revisiones.**—Trabajos de revisión sobre temas específicos. La extensión no será mayor de 5.000 palabras de texto o 25 páginas (incluyendo la bibliografía e ilustraciones). El número de tablas y figuras permitidas es de 10. No se pone límite al número de referencias bibliográficas. Se acompañarán de un resumen estructurado que no supere las 250 palabras.

**Notas técnicas.**—Aspectos puramente técnicos, de contenido sanitario militar, cuya divulgación pueda resultar interesante. La extensión no superará 1.000 palabras de texto o 7 páginas (incluyendo la bibliografía e ilustraciones). Se aceptará un máximo de 4 tablas y figuras. Deben acompañarse de un resumen no estructurado que no supere las 150 palabras.

**Cartas al Director.**—Puntualizaciones sobre trabajos publicados con anterioridad en la Revista, comentarios u opiniones, breves descripciones de casos clínicos... Su extensión no será mayor de 500 palabras de texto o dos páginas (incluyendo la bibliografía) y podrán ir acompañadas de una tabla o figura. Se permitirá un máximo de 6 referencias bibliográficas. No llevarán resumen.

**Historia y humanidades.**—Artículos sobre historia de la medicina, farmacia, veterinaria, o la sanidad militar, ética, colaboraciones literarias... Se seguirán las mismas normas que para los Artículos originales.

**Imagen problema.**—Imagen radiológica, anatomopatológica, o foto que pueda dar soporte y orientar a un proceso clínico. Deberán ocupar un máximo de dos páginas, incluyendo en el texto, la presentación del caso, la ilustración, el diagnóstico razonado y la bibliografía.

**Informes.**—Con una extensión máxima de 10 páginas a doble espacio y hasta 4 ilustraciones.

**Crítica de libros.**—Las reseñas o recensiones de libros y otras monografías tendrán una extensión máxima de 500 palabras o dos páginas de texto. Los autores de la reseña deben dar la referencia bibliográfica completa: autores, título, número de tomos, idioma, editorial, número de edición, lugar y año de publicación, número de páginas y dimensiones.

**Editoriales.**—Sólo se admitirán editoriales encargados por el Consejo de Redacción.

Otras secciones.—De forma irregular se publicarán artículos con formatos diferentes a los expuestos: artículos especiales, legislación sanitaria militar, problemas clínicos... Sugerimos a los colaboradores interesados en alguna de estas secciones que consulten con la Redacción de **Sanidad Militar**, antes de elaborar y enviar sus contribuciones.

### PREPARACIÓN DEL MANUSCRITO

Utilice papel blanco de tamaño DIN A4. Escriba únicamente en una cara de la hoja. Emplee márgenes de 25 mm. No emplee abreviaturas en el Título ni en el Resumen. Numere todas las páginas consecutivamente en el ángulo inferior derecho.

### PÁGINA DEL TÍTULO

Ponga en esta hoja los siguientes datos en el orden mencionado: (1) Título del artículo; el título debe reflejar el contenido del artículo, ser breve e informativo; evite en lo posible los subtítulos. (2) Nombre y apellidos de los autores, ordenados de arriba abajo en el orden en que deben figurar en la publicación. A la derecha del nombre de cada autor escriba la institución, el departamento y la ciudad. En el caso de personal militar debe constar también su empleo. (3) Nombre y apellidos, dirección completa, teléfono y fax (si procede) del autor responsable de mantener la correspondencia con la Revista. (4) Nombre, apellidos y dirección del autor a quien deben solicitarse las separatas de los artículos. Es preferible no dar la

dirección del domicilio particular. (5) Las subvenciones, becas o instituciones que han contribuido al estudio y cuál fue la contribución (material, fármacos, financiera...). (6) Al pie de la página escriba un título breve de no más de 40 espacios, incluyendo caracteres y espacios en blanco.

### RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Escriba un resumen de hasta 150 palabras si no está estructurado y hasta 250 palabras si está estructurado. Los Artículos originales y las Revisiones deben llevar un resumen estructurado. Los resúmenes estructurados de los Artículos originales constarán de los siguientes encabezamientos: Antecedentes y Objetivos, Material y Métodos, Resultados, Conclusiones. Los resúmenes estructurados de las Revisiones se organizarán atendiendo al siguiente esquema de encabezamientos: Objetivos, Fuentes de datos, Selección de estudios, Recopilación de datos, Síntesis de datos, Conclusiones. Para más detalles sobre cómo elaborar un resumen estructurado consulte JAMA 1995;273(1):29-31. En el resumen puede utilizar oraciones y frases de tipo telegráfico, pero comprensibles (por ejemplo Diseño.- Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego). Procure ser concreto y proporcionar los datos esenciales del estudio en pocas palabras.

Separadas del resumen, e identificadas como tales, escriba 3 a 6 palabras u oraciones cortas que describan el contenido esencial del artículo. Es preferible atenerse a los **medical subject headings** (MeSE) que se publican anualmente con el número de enero del Index Medicus.

### TEXTO

Procure redactar en un estilo conciso y directo, con frases cortas. Use un máximo de cuatro niveles subordinados, en el siguiente orden: nivel 1: **MAYÚSCULAS Y NEGRILLA**; nivel 2: **minúsculas negrilla**; nivel 3: **Minúsculas subrayadas**; nivel 4: **minúsculas en cursiva**. Comience todos los niveles en el margen izquierdo de la página, sin sangrados ni tabulaciones. No aplique al cuerpo del texto otros resaltes (negrillas, subrayados, cursivas, cambios de tipo y tamaño de letra...).

No use abreviaturas que no sean unidades de medida, si no las ha definido previamente. En relación con el empleo militar, unidades militares, despliegue de unidades y otras abreviaturas y signos convencionales, se seguirán las normas contenidas en el «Reglamento de abreviaturas y signos convencionales para uso de las Fuerzas Armadas, 5.ª ed. Madrid: Ministerio de Defensa. Secretaría General Técnica, 1990», declarado de uso obligatorio para las Fuerzas Armadas por O.M. 22/1991, de 22 de marzo. Sin embargo, defina previamente los que sean menos conocidos.

En lo posible, organice los **Artículos originales** en las siguientes partes: (1) Introducción; (2) Material y métodos; (3) Resultados; (4) Discusión; (5) Bibliografía. Organice las **Comunicaciones breves** (por ejemplo, casos clínicos) en las siguientes partes: (1) Introducción; (2) Métodos; (3) Observación(es) clínica(s); (4) Discusión; (5) Bibliografía. Hay comunicaciones breves que pueden requerir otro formato. Estructure las **Revisiones** en las siguientes partes: (1) Introducción y objetivos; (2) Fuentes utilizadas; (3) Estudios seleccionados; (4) Métodos de recopilación de datos; (5) Síntesis de datos; (6) Discusión; (7) Conclusiones y (8) Bibliografía.

### ASPECTOS ÉTICOS

Al respecto, consulte los «Requisitos uniformes...»<sup>1</sup>.

## AGRADECIMIENTOS

Escriba los agradecimientos, antes de la Bibliografía. Cerciórese de que todas las personas mencionadas han dado su consentimiento por escrito para ser nombradas. Consulte, a este respecto, los «Requisitos uniformes para preparar los manuscritos presentados para su publicación en revistas biomédicas»<sup>1</sup>.

## CITAS Y BIBLIOGRAFÍA

Numere las referencias por orden de citación en el texto, no alfabéticamente. Mencione únicamente la bibliografía importante para el tema del artículo. Haga las citas en el texto, tablas y figuras en números arábigos en superíndice, ordenados de menor a mayor. Una por guiones el primero y último números consecutivos -si son más de dos números- y separe por comas los no consecutivos. En el formato de las referencias bibliográficas, utilice las abreviaturas de las revistas del Index Medicus. Hasta 6 autores nombre todos ellos; si hay más de seis autores nombre los seis primeros, seguidos de «et al.». Ejemplos de referencias:

### Artículo de una revista

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980; 79:311-314.

Capítulo de un libro con varios autores y direcciones Marcus R, Couston AM. Water-soluble vitamins: the vitamin B complex and ascorbic acid. En: Gilman AG, Rail TW, Nies AS, Taylor P (eds). Goodman and Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8 ed. New York: Pergamon Press, 1990:1530-1552.

### Libro con autor(es) personales

Gastaut H, Broughton R. Ataques epilépticos. Barcelona: Ediciones Toray, 1974:179-202.

## TABLAS Y FIGURAS

Tenga en cuenta que el número de ilustraciones ha de ser el mínimo posible que proporcione la información estrictamente necesaria.

En el caso de las tablas, identifique el título en el encabezamiento de la tabla; en el caso de las figuras, identifique el título en el pie de la figura. Los títulos han de ser informativos pero breves. Explique en el pie de cada ilustración todos los símbolos y abreviaturas no convencionales utilizados en esa ilustración. Asigne números arábigos a las tablas y figuras por orden de mención en el texto.

## TABLAS

No emplee tablas para presentar simples listas de palabras. Recuerde que señalar unos cuantos hechos ocupa menos espacio en el texto que en una tabla. Las tablas han de caber en una página. Si no pudiera ajustar los datos de una tabla a una página, es preferible que la divida en dos o más tablas. Si usa un procesador de textos, en las tablas utilice siempre justificación a la izquierda y no justifique a la derecha. No use rayado horizontal o vertical en el interior de las tablas; normalmente bastarán tres rayas horizontales, dos superiores y una inferior. Los datos calculados, como por ejemplo los porcentajes, deben ir redondeados. Si los estadísticos no son significativos, basta con que ponga un guión. Utilice, salvo excepciones justificadas, los siguientes valores de la probabilidad («p»): no significativo (ns), 0,05, 0,01, 0,001 y 0,0001; puede usar símbolos para cada uno, que explique en el pie de la tabla. No presente las tablas fotografiadas.

## FIGURAS

Busque la simplicidad. Recuerde que una figura sencilla aporta más información relevante en menos tiempo. No use representaciones tridimensionales u otros efectos especiales. En los gráficos con ejes no desperdicie espacio en blanco y finalice los ejes a no más de un valor por encima del último dato reflejado. En los gráficos con representaciones frecuenciales (histogramas...), emplee si es posible los datos directos (entre paréntesis puede poner los porcentajes), o bien remita a la Redacción una copia tabulada de todos los datos utilizados para la representación, de forma que sea posible valorar como se construyó el gráfico.

Las fotografías enviadas en formato papel deben ser de buena calidad. Rellene una etiqueta adhesiva con los siguientes datos: número de figura (por ejemplo F-3), primer apellido del primer autor y una indicación de cual es la parte superior de la figura (por ejemplo, una flecha); después pegue la etiqueta en el dorso de la fotografía. No escriba directamente en el dorso de la fotografía ni adhiera nada con clips, pues podría dañarse la imagen. Si desea hacer una composición de varias fotografías, remita una fotocopia de la misma, pero no pegue los originales en una cartulina. Las radiografías deben ser fotografiadas en blanco y negro. Las microfotografías deben llevar incluida la escala interna de medida; en el pie se darán los valores de la escala y la técnica de tinción. Las fotografías en las que aparezca una persona reconocible han de acompañarse del permiso escrito y firmado de la misma, o de sus tutores, si se trata de un incapacitado legalmente.

Asegúrese de que todas las tablas y figuras se citan en el texto. También puede enviar el material fotográfico como diapositivas, pero asegúrese de que vayan rotuladas adecuadamente (número de figura, primer apellido del primer autor e indicación de la parte superior de la figura).

## CARTA DE PRESENTACIÓN

Adjunte al manuscrito una carta de presentación dirigida al Director de Sanidad Militar y firmada por todos los coautores. En la carta haga constar lo siguiente: (1) que todos los autores se responsabilizan del contenido del artículo y que cumplen las condiciones que les cualifican como autores; (2) cómo se podría encuadrar el trabajo en la Revista (Artículo original, Comunicación breve...) y cuál es el tema básico del artículo (por ejemplo, medicina aeroespacial); (3) si los contenidos han sido publicados con anterioridad, parcial o totalmente, y en qué publicación; (4) si el artículo ha sido sometido paralelamente a la consideración de otro Consejo de Redacción; (5) si puede haber algún conflicto de intereses, como por ejemplo la existencia de promotores del estudio; (6) se acompañará documento firmado por los autores cediendo los derechos de autor.

Acompañe a la carta un documento con el permiso firmado de las personas nombradas en los agradecimientos, de las personas reconocibles que aparezcan en las fotografías y del uso de material previamente publicado (por parte de la persona que ostente los derechos de autor).

Quando se proporcionen datos sobre personal militar, localización de unidades, centros u organismos militares o el funcionamiento interno de los mismos, los autores deberán hacer una declaración independiente de que los datos que se hacen públicos en el artículo no están sujetos a restricciones de difusión por parte del Ministerio de Defensa.

Si hubiera habido publicación previa del contenido del artículo, parcial o completa, debe acompañar

una copia (original, separata o fotocopia) de lo publicado y la referencia completa de la publicación (título de la publicación, año, volumen, número y páginas).

## ENVÍO DEL MANUSCRITO

Remita la carta de presentación, los permisos correspondientes, dos copias de buena calidad del manuscrito y dos juegos completos de las tablas y figuras a la siguiente dirección:

**Revista Sanidad Militar  
Edificio de Cuidados Mínimos (Planta Baja)  
Hospital Central de la Defensa «Gómez Ulla»  
Glorieta del Ejército, s/n  
Madrid 28047**

Remita todo el material en un sobre resistente, incluyendo las ilustraciones en otro sobre de papel grueso. Separe las fotografías entre sí por hojas de papel blanco y limpio. Es imprescindible remitir también el texto, las tablas y las figuras, en soporte informático (disquete o CD-ROM). Asegúrese de proteger todo bien, para evitar que se deteriore en el transporte por correo.

Si así lo prefiere, puede utilizar el correo electrónico en lugar del correo postal, con lo que ganaremos agilidad, utilizando la dirección: [medicinamilitar@oc.mde.es](mailto:medicinamilitar@oc.mde.es)

## ACUSE DE RECIBO Y COMUNICACIÓN POSTERIOR CON LOS AUTORES

Dentro de las 48 horas de la recepción de un manuscrito se comunicará a los autores su recepción. Se dará un número de identificación del trabajo, que será la referencia a la que han de hacer mención los autores en sus comunicaciones con la Redacción. Si el envío se hubiera realizado mediante correo electrónico, el acuse de recibo se realizará por ese medio y con igual plazo.

El autor que figure como corresponsal se responsabilizará de mantenerse en contacto con los restantes coautores y de garantizar que aquéllos aceptan la forma definitiva acordada finalmente. Si durante el proceso de revisión, el autor corresponsal cambia de dirección, debe notificar a la Redacción de la Revista la nueva dirección y teléfono de contacto.

Para la corrección de los defectos de forma, los autores deberán ponerse en contacto con el Director ejecutivo o el Redactor Jefe a la dirección postal o correo electrónico ya mencionados.

## CORRECCIÓN DE PRUEBAS DE IMPRENTA

Una vez acordada la forma definitiva que tomará el artículo, y poco antes de su publicación, se remitirá a los autores una prueba de imprenta para su corrección, que debe ser devuelta en un plazo de 3 días.

## PUBLICIDAD PREVIA A LA PUBLICACIÓN

Una vez remitido un artículo para su publicación en *Sanidad Militar*, se entiende que los autores se comprometen a no difundir información sustancial referente al mismo, en tanto no se haya publicado o bien se libere a los autores del compromiso.

Para una información más detallada se sugiere consultar los «Requisitos uniformes...»<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Disponible en: <http://www.icmje.org/>

BOLETÍN DE SUSCRIPCIÓN

Sanidad Militar

Revista de Sanidad de las FAS de España

Tarifas de suscripción

- 10,82 € ESPAÑA
- 12,02 € RESTO DEL MUNDO
(IVA Y GASTOS DE ENVÍO INCLUIDOS)

APELLIDOS, NOMBRE
DIRECCIÓN: C. electrónico:
POBLACIÓN: CP: PROVINCIA:
TELÉFONO: NIF: N.º DE SUSCRIPCIONES:

FORMAS DE PAGO: (Marque con una X)

- Domiciliación bancaria a favor del Centro de Publicaciones del Ministerio de Defensa. (Rellene la autorización a pie de página).
Incluyo un cheque nominativo a favor del CENTRO DE PUBLICACIONES DEL MINISTERIO DE DEFENSA.
Transferencia bancaria a: BBVA "CENTRO DE PUBLICACIONES DEL MINISTERIO DE DEFENSA"

N.º de Cuenta: 0182 - 2496 - 18 - 02 0000 0368

Al recibir el primer envío, conocerá el número de suscriptor, al cual deberá referirse para cualquier consulta con este Centro.

En , a de de

Firmado:

IMPRESO DE DOMICIALIZACIÓN BANCARIA

Table with 4 columns: ENTIDAD, OFICINA, D.C., NÚMERO DE CUENTA

En , a de de

SELLO DE LA ENTIDAD

Firmado:

EJEMPLAR PARA ENVIAR AL CENTRO DE PUBLICACIONES DEL MINISDEF

Dept.º de Suscripciones, Camino de los Ingenieros, 6
28047 Madrid

Tfno.: 91 364 74 21 - Fax: 91 364 74 07 - Email: suscripciones@oc.mde.es

CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....CORTAR.....

EJEMPLAR PARA QUE Vd. LO ENVÍE AL BANCO

SR. DIRECTOR DEL BANCO/CAJA DE AHORROS:

Ruego a Vd. de las órdenes oportunas para que a partir de la fecha y hasta nueva orden sean cargados contra mi cuenta n.º
abierta en esa oficina, los recibos presentados para su cobro por el Centro de Publicaciones del Ministerio de

Defensa - Revista de Sanidad Militar.

En , a de de

Firmado: