



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 18 - No. 1

Año 2015

Organo Oficial de la SVBE

CONTENIDO

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ARTÍCULOS ORIGINALES:

Emergencia de *Acinetobacter baumannii* con resistencia extrema a los antibióticos en un Hospital de Maracaibo, Venezuela

Liliana Gómez-Gamboa, Jessica Villasmil, Armino Perozo-Mena,
José Luis Bermúdez-González, Irene Zabala..... 2

Prevalencia de parasitosis intestinales y parametros hematológicos en pacientes de tres comunidades urbanas del Estado Carabobo.

Ericka Hernández, Arli Marlinet Guerrero De Abreu, María Triolo, Yasmin Tang..... 6

Polimorfismos del gen de la Apolipoproteína-E relacionado con la Enfermedad de Membrana Hialina del Neonato.

Pedro Michelli, Rosa Ciaccia, Horbelys Guzmán, Marwan Aguilar, Jesuelith Carrillo,
Mariom Di Mauro, María Fátima Garcés, Joseba Celaya..... 14

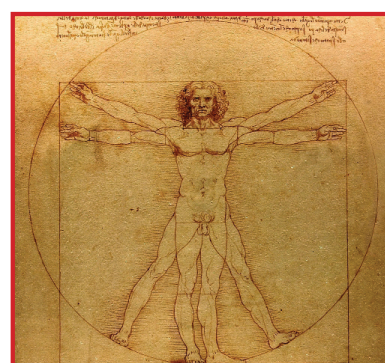
ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Epigenética I: Conceptos básicos para entender este campo de moda.

Ana Z. Fernandez 23

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 29

Revista arbitrada e indizada
LILACS (BIREME)
Depósito Legal 199202DF899
ISSN 1315-1746
Miembro ASEREME



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 18. No 1.
Año 2015



Revista arbitrada e indizada dedicada a publicar los trabajos de los profesionales del Bioanálisis en investigación básica y aplicada.

Dirección: Av. Ppal c/c Alfredo Jahn y Alvarez Michaud.
Casa Colegio de Bioanalistas. Nro. 13-01. Urb. Los
Chorros. Zona Postal 1070. Caracas - Venezuela.

ISSN: 1315-1746

Depósito Legal: pp 199202DF899

Indizada

LILACS (BIREME)

MIEMBRO ASEREME

Publicación Semestral de la SVBE

2014-2015

Consejo Directivo

Editora

Dra. María Fátima Garcés

Gerencia Editorial

Dra. María Fátima Garcés

Gerencia Administrativa

MSc. Yacelli Bustamante

Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (S.V.B.E.)

Junta Directiva

Presidenta

MSc. Yaniska Fránquiz

Dirección General

Dra. María Fátima Garcés

Dirección Científica

Esp. Shasbleidy Díaz

Dirección Administrativa

MSc. Yacelli Bustamante

Dirección de Proyectos y Divulgación Científica

Esp. Valmore Rodríguez

Comisión evaluadora de credenciales:

MSc. Yacelli Bustamante

Esp. Valmore Rodríguez

Comisión para otorgar unidades crédito

Lic. Josefina Guariguata

Esp. Shasbleidy Díaz

Comité de Redacción

Dra. Priva Zabner de Oziel, Esp. Noel Silva

Esp. Shasbleidy Díaz, Esp. Valmore Rodríguez

Dra. María Fátima Garcés, Lic. Giuseppe Ferrara,

Dra. Marlyn Vivenes, Lic. Celsy Hernández,

MSc Hilda Stekman.



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENIDO

Vol. 18 - No 1

2015

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ARTÍCULOS ORIGINALES:

Emergencia de *Acinetobacter baumannii* con resistencia extrema a los antibióticos en un Hospital de Maracaibo, Venezuela

Liliana Gómez-Gamboa, Jessica Villasmil, Armino Perozo-Mena,
José Luis Bermúdez-González, Irene Zabala..... 2

Prevalencia de parasitosis intestinales y parámetros hematológicos en pacientes de tres comunidades urbanas del Estado Carabobo.

Ericka Hernández, Arli Marlinet Guerrero De Abreu, María Triolo, Yasmin Tang..... 6

Polimorfismos del gen de la apolipoproteína-E relacionado con la Enfermedad de Membrana Hialina del Neonato.

Pedro Michelli, Rosa Ciaccia, Horbelys Guzmán, Marwan Aguilar, Jesuelith Carrillo,
Mariom Di Mauro, María Fátima Garcés, Joseba Celaya..... 14

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Epigenética I: Conceptos básicos para entender este campo de moda.

Ana Z. Fernandez 23

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 29



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 18 - No 1

2015

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ORIGINAL ARTICLES:

Emergence of extensive-drug-resistant (XDR)

***Acinetobacter baumannii* in a Maracaibo's Hospital, Venezuela**

Liliana Gómez-Gamboa, Jessica Villasmil, Armino Perozo-Mena,

José Luis Bermúdez-González, Irene Zabala..... 2

Prevalence of intestinal parasites and haematological parameters changes in patients of three urban communities. Carabobo State.

Ericka Hernández, Arli Marlinet Guerrero De Abreu, María Triolo, Yasmin Tang..... 6

Gene polymorphisms of apolipoprotein-E associated with hyaline Membrane Disease of the Neonate.

Pedro Michelli, Rosa Ciaccia, Horbelys Guzmán, Marwan Aguilar, Jesuelith Carrillo,

Mariom Di Mauro , María Fátima Garcés, Joseba Celaya..... 14

REVIEW ARTICLE:

Epigenetic I: basics concepts to understand this field of fashion.

Ana Z. Fernandez 23

INFORMATION FOR AUTHORS..... 29

EDITORIAL

Este año 2015 promete ser un gran año. La Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (SVBE) en conjunto con el Colegio de Bioanalistas de Distrito Capital y Estado Miranda llevaron a cabo las XIX Jornadas Científicas de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas y el III Foro Latinoamericano en Educación auspiciado por la Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica (COLABIOCLI), eventos desarrollados en el Hotel Ávila de Caracas, los días 23 y 24 de abril en celebración con el día del Bioanalista.

Fue un intenso trabajo, en el cual el Comité organizador conformado por la M.Sc. Yacelli Bustamante, Esp. Celsy Hernández, Esp. Valmore Rodríguez, Esp. Ana María Vivas, M.Sc. Yaniska Fránquiz y mi persona como Presidenta del mencionado Comité se le ofreció a nuestros Bioanalistas un programa científico de excelente calidad, con las mejores conferencias dictadas por especialistas de cada área, el cual fue disfrutado por más de 450 profesionales, quienes aprovecharon este espacio científico no solo para actualizarse sino además como reencuentro con colegas de diferentes partes del país.

El III Foro Latinoamericano en Educación estuvo presidido por la M.Sc. Yaniska Fránquiz y el Dr. Carlos Navarro, Presidente de la COLABIOCLI. En el Foro luego de la exhaustiva revisión y análisis de la currícula de cada una de las carreras de Bioquímica o equivalentes de las Universidades participantes de Argentina, Bolivia Colombia y Ecuador y nuestras cinco Universidades Autónomas: UCV, ULA, LUZ; UC y UDO se ratificó y concluyó en la obligante necesidad de conformar la: “RED DE INSTITUCIONES UNIVERSITARIAS FORMADORAS DE LOS PROFESIONALES BIOQUIMICOS O TITULOS EQUIVALENTES DE AMERICA LATINA Y EL CARIBE”.

Es importante destacar que estos eventos enmarcaron el XXX aniversario de la SVBE y permitieron la apertura de nuevos horizontes en el campo científico, en el que hemos incluidos nuevas áreas las cuales son indispensables para desarrollo integral del Bioanalista como lo son la Calidad, Biología Molecular, Genética, Biotecnología e Informática y la Educación .

Estamos muy satisfechos por los logros obtenido por la Junta Directiva que actualmente dirige la SVBE y estamos seguros que con el apoyo de la FECOBIOVE continuaremos con nuestra misión como es impulsar con el más alto sentido de excelencia el desarrollo propio de la Sociedad, agrupación de carácter científico y contribuir al fomento e intercambio de la difusión del conocimiento en el ámbito nacional e internacional.

Nuestros más cordiales saludos y afectos.

Dra. María Fátima Garcés
Editora.

PREMIO AL MEJOR TRABAJO LIBRE (CARTEL) EN LAS XIX JORNADAS CIENTÍFICAS DE LA SVBE
EMERGENCIA DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* CON RESISTENCIA EXTREMA A LOS
ANTIBIÓTICOS EN UN HOSPITAL DE MARACAIBO, VENEZUELA.

Liliana Gómez-Gamboa^{1*}, Jessica Villasmil², Armindo Perozo-Mena³,
José Luis Bermúdez-González⁴, Irene Zabala⁵

¹Cátedra de Microbiología, Escuela de Medicina, La Universidad del Zulia. ²Servicio de Bioanálisis, Bacteriología, Hospital Dr. Adolfo Pons. IVSS. Maracaibo. ³Práctica Profesional de Bacteriología, Escuela de Bioanálisis, La Universidad del Zulia. ⁴Bios Venezuela, C.A. ⁵Laboratorio de Genética y Biología Molecular. Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, La Universidad del Zulia.

Recibido para publicación el 15 mayo 2015. Aprobado para publicación el 15 junio 2015.

RESUMEN:

Acinetobacter baumannii ha emergido como un patógeno importante que ocasiona una variedad de infecciones con alta morbilidad y mortalidad. Los antibióticos carbapenemes representan generalmente, los últimos recursos para el tratamiento de infecciones intrahospitalarias y es preocupante que esta situación esté siendo amenazada a nivel mundial por la aparición de cepas de *A. baumannii* con resistencia a estos antibióticos. La presente investigación tuvo como finalidad clasificar las cepas de *A. baumannii* resistentes a los carbapenemes, aisladas de un Hospital de la región Zuliana durante Enero a Diciembre del año 2014, en multidrogo-resistentes, extremadamente drogo-resistentes y pan drogo-resistentes. Se aislaron 142 cepas de *A. baumannii*, de las cuales 139 obtuvieron resistencia a los carbapenemes (97,89%). De las 139 cepas de *A. baumannii*, el 65,47% (91/139) fueron catalogadas como extensamente drogo-resistentes, mientras que el 33,09% (46/139) fueron clasificadas como multi-drogo resistentes y 1,44% pan resistentes (2/139). Los datos obtenidos en el presente estudio ofrecen un panorama preocupante en nuestra región, de allí la importancia de la vigilancia en cada institución hospitalaria para el establecimiento de mejores opciones terapéuticas y medidas epidemiológicas de contención.

Palabras claves: *Acinetobacter baumannii*, resistencia, antibióticos.

EMERGENCE OF EXTENSIVE-DRUG-RESISTANT (XDR) *ACINETOBACTER BAUMANNII* IN A MARACAIBO'S HOSPITAL, VENEZUELA

SUMMARY

Acinetobacter baumannii has emerged as an important pathogen causing a variety of infections with high morbidity and mortality. Carbapenems are the last resort of drugs for the treatment of multidrug-resistant pathogens including *A. baumannii* and it is worrying that this situation is being threatened worldwide by the appearance of strains of *A. baumannii* resistant to these antibiotics. This research had to classify the strains of carbapenem-resistant *A. baumannii*, isolated from a hospital in the Zulia region during January to December 2014, in multidrug-resistant, extremely drug-resistant and pan drug-resistant. A total of 142 isolates of *A. baumannii* were collected and 139 were carbapenem-resistant (97.89%). Ninety-one of 139 strains (65.47%) were extensively drug-resistant, while 33.09% (46/139) were classified as multi-drug-resistant and 1.44% pan drug-resistant (2/139). The data obtained in this study offers a worrying panorama in our region, highlighting the importance of monitoring in each hospital facility to establish better therapeutic options and epidemiological containment measures.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, drug-resistant.

Introducción

Acinetobacter baumannii es un patógeno oportunista con gran relevancia en las infecciones adquiridas en las instituciones de cuidados de salud (1). Su habilidad para colonizar crónicamente los pacientes y ocasionar brotes difíciles de erradicar plantea desafíos significativos para el control de infecciones e incrementa el gasto

sanitario. Además de su resistencia intrínseca a muchos antibióticos, este patógeno problemático puede adquirir rápidamente mecanismos adicionales en respuesta al uso de nuevos antibióticos de amplio espectro. Los antibióticos carbapenemes representan generalmente, los últimos recursos para el tratamiento de infecciones asociadas a los servicios de salud producidas por bacterias

Solicitar copia a: Liliana Gomez-Gamboa (e-mail: liliana_gomezgamboa@yahoo.com.)

Gram negativas multiresistentes. Es preocupante que esta situación esté siendo amenazada en todo el mundo por la aparición de cepas con resistencia a estos antibióticos incluyendo *A. baumannii* (2). La presente investigación tuvo como finalidad clasificar las cepas de *A. baumannii* resistentes a los carbapenemes, aisladas de un Hospital de la región Zuliana, en multi-drogo resistentes (MDR), extremadamente drogo-resistentes (XDR) y pan drogo-resistentes (PDR).

Materiales y Métodos

Se realizó una investigación descriptiva, transversal, no experimental, caracterizando fenotípicamente todas las cepas aisladas de *A. baumannii* provenientes de diferentes cultivos de muestras de pacientes hospitalizados en un Centro de Salud de Maracaibo (secreción traqueal y bronquial, herida, hemocultivo, dren, urocultivo, coprocultivo, punta de catéter, absceso y nasal), durante el período comprendido entre Enero 2014 a Diciembre 2014. Las muestras de los pacientes fueron procesadas de acuerdo a los procedimientos de microbiología clínica descritos por la Sociedad Americana de Microbiología. La determinación de la resistencia a los antibióticos se realizó por el método de difusión con discos en agar descrito por Bauer-Kirby, siguiendo las recomendaciones del Instituto para la Estandarización de los Laboratorios Clínicos (CLSI M100-S24, 2014). El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete SPSS para Windows®, versión 19. Se determinó la prevalencia de cepas de *A. baumannii* resistentes a los carbapenemes; además, se realizó el análisis descriptivo de las variables en estudio. Para las variables cualitativas, se utilizó el Chi cuadrado para determinar la independencia entre el género y la edad de pacientes con *A. baumannii*. El nivel de significación estadística se estableció para una $p < 0,05$ con intervalos de confianza del 95%.

Resultados

Durante el año 2014, se procesaron un total de 4651 cultivos de muestras clínicas de pacientes, aislando 142 cepas de *A. baumannii*, de las cuales 139 presentaron resistencia a los carbapenemes (97,89%), observándose una prevalencia de 2,99% (139/4651). La distribución de los aislamientos de *A. baumannii* entre los pacientes según sexo y edad fue relativamente uniforme. Al analizar por Chi cuadrado el estado de portador y compararlo con el género y la edad de los participantes, se obtuvo que las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Estas cepas fueron aisladas principalmente de secreciones traqueales

(69/139, 49,64%), seguido de secreciones de heridas (23/139, 16,55%) y 7,19% (10/139) de hemocultivos. Con respecto a la distribución de las cepas aisladas según servicios del Hospital, el 80,58% (112/139) de las cepas fueron aisladas de pacientes de la UTI, mientras que el 9,35% (13/139) fueron aisladas de Hospitalización de Cirugía y el 3,60% (5/139) de Medicina Interna. La resistencia a los agentes antimicrobianos en las 139 cepas se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Resistencia a los antibióticos en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii*. Maracaibo, Venezuela. 2014.

Antibióticos	Resistencia (%)
Ampicilina/sulbactam	89,13
Ticarcilina	100,0
Piperacilina	100,0
Piperacilina/Tazobactam	98,99
Imipenem	100,0
Meropenem	100,0
Cefotaxime	100,0
Ceftazidima	100,0
Ceftriaxone	100,0
Cefepime	97,73
Amikacina	97,37
Gentamicina	91,80
Tobramicina	96,67
Tetraciclina	87,29
Minociclina	0,00
Tigeciclina	40,00
Trimetoprim/sulfametoxazole	98,51
Colistin	1,60
Ciprofloxacina	97,67
Levofloxacina	97,69

Magiorakos y col. (3) elaboraron una propuesta internacional de definiciones provisionales para la resistencia bacteriana adquirida, clasificando a las bacterias en multidrogo-resistentes (MDR), extremadamente drogo-resistentes (XDR) y pan-drogo-resistentes (PDR). El patrón MDR fue definido como la no susceptibilidad al menos a un agente en tres o más categorías de antimicrobianos; el XDR como no susceptible al menos a un agente en todas las categorías pero permanece susceptible a una o dos categorías de antimicrobianos y el PDR fue definido como no susceptibilidad a todos los agentes en todas las categorías de antimicrobianos. De las 139 cepas de

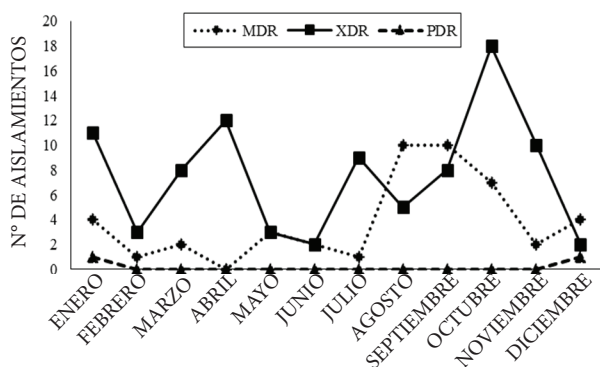


FIGURA 1. Distribución de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* según meses del año. Maracaibo, Venezuela. 2014.

A. baumannii aisladas en la presente investigación, el 65,47% (91/139) fueron catalogadas como extensamente drogo-resistentes, mientras que el 33,09% (46/139) fueron clasificadas como multi-drogo resistentes y 1,44% pan-drogo resistentes (2/139). La distribución de estos aislamientos en el transcurso de los meses del año 2014 se presenta en la Figura 1. El más alto número de aislamientos MDR se registró en los meses agosto, septiembre y octubre (58,69%); mientras que en los meses de enero, abril y octubre se observó mayor cantidad de aislamientos XDR y los aislamientos PDR se presentaron en enero y diciembre.

Discusión

La incidencia de resistencia a los carbapenems en *A. baumannii* ha incrementado constantemente en la última década. A nivel mundial, el programa SENTRY documentó un incremento en la resistencia a imipenem desde 34,5% en 2006 a 59,8% en 2009, la cual frecuentemente está acompañada con resistencia múltiple a otros agentes (2). En la presente investigación, la resistencia a los carbapenems en las cepas aisladas de *A. baumannii* fue muy superior (97,89%).

Similar a lo obtenido en la presente investigación, otros estudios obtuvieron que la edad promedio de los pacientes afectados por *A. baumannii* resistentes a los carbapenems fue $66,8 \pm 19,8$ años. Las cepas fueron principalmente recuperadas de muestras de tracto respiratorio (15,1%; 45%; 50,1%), sangre (14,9%; 18,6%), pus de abscesos y heridas (13,4%; 25%; 31,5%) y orina (13,2%) y provenientes de pacientes de la UTI (15,5%; 28%; 36,6%) y Cirugía (14%, 18,3%) (2, 4, 5).

En el presente estudio el 51,1% de los pacientes fueron portadores respiratorios de *A. baumannii* (71/139),

resultados que pueden atribuirse a que en las Unidades de Terapia Intensiva (UTI), generalmente los pacientes están conectados a respiradores artificiales, presentando mayor riesgo de adquirir infecciones respiratorias, por lo que se hace importante e imprescindible el control de estos portadores, debido a que constituyen una fuente importante de transmisión a otros pacientes que ingresan a la unidad y al personal que labora en la misma. Asimismo, existen estudios sobre el aumento actual de casos de neumonía adquirida en UTI debido a *A. baumannii* (6).

A. baumannii desarrolla multiresistencia a los antimicrobianos de forma extremadamente rápida y mediante variados mecanismos (7), algunos de ellos inherentes a la especie y otros adquiridos, que finalmente se manifiestan como resistencia a una amplia gama de antibióticos (8). El principal mecanismo de resistencia a los antibióticos β -lactámicos es la degradación enzimática por β -lactamasas, de las cuales las más preocupantes en *A. baumannii* son las Carbapenemasas, principalmente las serin-oxacilinasas (tipo OXA de la clase D de Ambler) (6). Se considera que la resistencia contra los carbapenems es, en sí misma, suficiente para definir un aislamiento de *A. baumannii* como altamente resistente (9). En el presente estudio, las cepas de *A. baumannii* fueron altamente resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos (>89%), aminoglucósidos (>91%), Tetraciclina, Trimetoprim/ sulfametoxazole y fluoroquinolonas, mientras que la resistencia a Minociclina y Colistin fue muy baja. Similar a lo obtenido en la presente investigación, los antimicrobianos para los que Cantón y Ruíz-Garbajosa (1) reportaron mayor proporción de aislados no sensibles de *A. baumannii* fueron ceftazidima, piperacilina y ciprofloxacina (> 94%), seguidos de los carbapenems y tetraciclina (82-86%), tobramicina, sulbactam, gentamicina y doxiciclina (60-70%), amikacina (49%) y minociclina y rifampicina (30%). Los que ofrecieron menores porcentajes con los criterios empleados fueron tigeciclina (24%) y colistina (3%). La tasa de resistencia a Colistin y Tigeciclina en otros estudios fue igualmente baja (2, 10, 11). Las cepas de *A. baumannii* aisladas en la presente investigación mostraron resistencia a los diferentes antimicrobianos similares a las obtenidas por las contrapartes aisladas en el Centro de Referencia Bacteriológica-Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (12).

Kuo y col. (2) reportaron resultados similares a los obtenidos en la presente investigación, con un incremento significativo de *A. baumannii* XDR de 1,3% en 2002 a 41% en 2010 y un promedio de prevalencia en 10 años de 26,1%. Los factores asociados con la

emergencia de estas cepas en Taiwán incluyeron pacientes ancianos (> 65 años), origen del tracto respiratorio y reclusos en la UTI. Por el contrario, otros estudios obtuvieron en Bosnia y Herzegovina e India mayor porcentaje de cepas MDR (85,6%; 91%) que XDR (14,4%; 78%) respectivamente (4, 5).

En los últimos años se ha observado un incremento de los aislamientos de *A. baumannii* MDR y XDR, con incidencias en diferentes países desde 65% hasta 100 % (España, EE.UU., Taiwán, Irán, Jordania, China Italia, Grecia, Turquía, Bulgaria). Asimismo, en la institución hospitalaria estudiada en la presente investigación se puede observar que el 71,74% de los aislamientos MDR se presentó entre los meses de agosto y diciembre, observando un incremento a partir del mes de agosto; mientras que el mayor número de cepas XDR fueron aisladas en el mes de Octubre (Figura 2).

Actualmente, *A. baumannii* es una de las bacterias Gram negativa más importante; responsable de varias infecciones nosocomiales serias, en particular en unidades de cuidado intensivo, pudiendo complicar la enfermedad primaria en pacientes enfermos y aumentar el costo del tratamiento. Además de la capacidad de expresar resistencia a muchos antibióticos, las cepas MDR, XDR y PDR tienen la capacidad de supervivencia duradera en las superficies inanimadas, así como la tendencia de diseminación epidémica (4).

A. baumannii no es una excepción dentro del panorama de los microorganismos multi-resistentes con interés en la infección asociada a los servicios de salud. Los datos obtenidos en el presente estudio ofrecen un panorama preocupante en nuestra región, de allí la importancia de la vigilancia en cada institución hospitalaria para el establecimiento de las mejores opciones terapéuticas y medidas epidemiológicas de contención (1).

Conclusiones

En la presente investigación, las cepas de *Acinetobacter baumannii* presentaron altos porcentajes de resistencia a los antibióticos. El sitio de colonización más frecuente en estos pacientes fue el tracto respiratorio y la mayoría de las cepas fueron extremadamente drogo-resistentes.

Referencias

1. Cantón R y Ruiz-Garbajosa P. *Acinetobacter baumannii*: ¿debemos seguir prestando atención?. *Enf Inf Microbiol Clin*. 2013; 31 (1):1-3.

2. Kuo S, Chang S, Wang H, Lai J, Chen P, Shiao Y, Huang I and Yang T. Emergence of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* complex over 10 years: Nationwide data from the Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance (TSAR) program. *BMC Inf Dis*. 2012, 12:200.
3. Magiorakos A, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT and Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18: 268-281.
4. Dedeić-Ljubović A, Granov D1, Hukić M. Emergence of extensive drug-resistant (XDR) *Acinetobacter baumannii* in the Clinical Center University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. *Med Glas (Zenica)* 2015; 12 (2): 169-176.
5. Rynga D, Shariff M and Deb M. Phenotypic and molecular characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* isolated from Delhi, India. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2015; 14 (40): 2-8.
6. Peleg AY, Seifert H and Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008; 21 (3): 538-582.
7. Cisneros JM y Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: un patógeno nosocomial de difícil control. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003; 21(5):221-223.
8. Suárez CJ, Kattán JN, Guzmán AM, Villegas MV. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infectio*. 2006; 10 (2): 85-93.
9. Poirel L and Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Inf*. 2006; 12 (9):826-836.
10. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-2009). *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:2070-2074.
11. Farrel DJ, Turnidge JD, Bell J, Sader HS, Jones RN. The in vitro evaluation of tigecycline tested against pathogens isolated in eight countries in the Asia-Western Pacific region (2008). *J Infect* 2010; 60:440-451.
12. Bonilla Lucartt X, Pineda Sánchez M, Perozo Mena A. Boletín sobre Resistencia Bacteriana 2013. Centro de Referencia Bacteriológica. Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo. Décima Tercera Edición. Maracaibo-Venezuela; Julio 2014.

PREVALENCIA DE PARASITOSIS INTESTINALES Y PARAMETROS HEMATOLOGICOS EN PACIENTES DE TRES COMUNIDADES URBANAS DEL ESTADO CARABOBO.

Ericka Hernández¹, Arli Marlinet Guerrero De Abreu^{2,3}, María Triolo^{2,3}, Yasmin Tang^{2,3}.

¹Departamento de Ciencias Básicas. Escuela Bioanálisis, Universidad de Carabobo. ²Departamento Estudios Clínicos. Escuela Bioanálisis, Universidad de Carabobo. ³Centro de Tecnologías en Información, Comunicación y Educación Asistida (CETICEA).

Recibido para publicación el 16 marzo 2015. Aprobado para publicación el 27 abril 2015.

RESUMEN:

Las parasitosis intestinales constituyen un problema de salud pública que afecta a los individuos de una población sin distinción de sexo o edad, las cuales tienen prevalencias más altas en países subdesarrollados. Esta investigación consistió en determinar la prevalencia de parásitos intestinales y su posible asociación con alteraciones hematológicas en pacientes de tres comunidades urbanas del estado Carabobo. Se realizó un estudio descriptivo y transversal en el que participaron voluntariamente 93 pacientes entre 16 y 81 años, de ambos sexos, pertenecientes a las comunidades Brisas de Carabobo y Simón Bolívar (municipio Naguanagua) y la comunidad La Unidad (municipio Valencia), a quienes se les realizó hematología completa y estudio coproparasitológico. La prevalencia global fue de 65,59%, siendo *Blastocystis* spp el más predominante. No se observó presencia de helmintos. El mayor porcentaje de individuos mono infectados se observó en la comunidad Simón Bolívar (50,00%), mientras que Brisas de Carabobo registró mayor número de individuos con poli-infección (37,21%). La anemia fue una condición observada en el 9,68% de los casos, leucocitosis en 17,20% y eosinofilia en el 21,74%. En los individuos mono infectados 9,78% presentaron eosinofilia mientras que en los individuos poli- infectados solo 6,52% presentaron este signo clínico. No se encontró relación estadísticamente significativa entre la infección por protozoarios intestinales y las alteraciones hematológicas observadas en las comunidades evaluadas ($p < 0,05$).

Palabras claves: Parasitosis intestinal, *Blastocystis* spp, eosinofilia adultos.

PREVALENCE OF INTESTINAL PARASITES AND HAEMATOLOGICAL PARAMETERS CHANGES IN PATIENTS OF THREE URBAN COMMUNITIES. CARABOBO STATE.

SUMMARY

Intestinal parasites are a public health problem that affects individuals of a population regardless of sex or age, which have higher prevalence in developing countries. This research aims to determine the prevalence of intestinal parasites and their possible association with haematological abnormalities in patients at three urban communities of Carabobo state. A descriptive cross-sectional study in which 93 patients between 16 and 81 years, of both genders voluntarily participated belonging to the "Brisas de Carabobo" and "Simon Bolivar" communities (municipality Naguanagua) and "La Unidad" in the municipality Valencia, was conducted who underwent complete hematology and coproparasitological study. The overall prevalence was 65,59 %, *Blastocystis* spp was the most predominating. Helminths was not observed. The highest percentage of mono infected individuals it was observed in the community Simón Bolívar (50,00 %), while in the Brisas de Carabobo community a higher percentage of multi-infected individuals it was observed (37,21%). Anemia was a condition observed in 9,68% of cases, leukocytosis in 17,20% and eosinophilia in 21,74%. In mono infected individuals 9,78% of eosinophilia were observed and multi-infected individuals 6,52%. No statistically significant relationship between infection with intestinal protozoa and haematological abnormalities observed in these communities.

Keywords: Intestinal parasites, *Blastocystis* spp, eosinophilia, adults.

Introducción

Las parasitosis intestinales son un problema de salud pública que afecta a individuos de cualquier edad y sexo. Estas infecciones pueden ser asintomáticas generalmente cuando cursan con una baja carga parasitaria, pero cuando superan cierta intensidad, pueden ocasionar diversas manifestaciones clínicas como diarrea de

intensidad variable, malabsorción de nutrientes, pérdida de sangre, vitaminas, intolerancia a azúcares, desnutrición, manifestaciones cutáneas, pulmonares y digestivas; las cuales dependen principalmente del tipo de parásito y de su acción patógena (1-3).

Estas infecciones producen efectos fisiológicos asociados a la patogenicidad del agente etiológico, entre

Solicitar copia a: Ericka Hernández. (e-mail: erickaer1007@gmail.com, ehernandez3@uc.edu.ve)

las que figuran alteraciones hematológicas, como por ejemplo la eosinofilia, que se define cuando el número total de eosinófilos circulantes en sangre periférica es igual o superior a 450/ μ l (3). Esta condición suele estar relacionada principalmente con daño tisular que producen algunos helmintos de migración extraintestinal. Así por ejemplo, la migración de las larvas de nematodos puede afectar sobre todo al pulmón, produciendo el síndrome de Löeffler que cursa con eosinofilia de intensidad elevada (*A. lumbricoides*, *A. duodenale*, *N. americanus* y *S. stercoralis*) (4). Estos síntomas clínicos dependerán igualmente de la intensidad y diversidad de especies parasitarias. Por su parte, los helmintos que no realizan migración extraintestinal generan una eosinofilia discreta. En contraste, la mayoría de los protozoos no producen eosinofilia (3, 5).

Sin embargo, se debe considerar que este parámetro guarda relación con algunas condiciones fisiológicas (edad, género, embarazo), fármacos o patologías no parasitarias pueden modificar su magnitud (3).

La prevalencia de parasitosis intestinal en el mundo reportadas por organismos oficiales son muy escasas ya que éstas no son de notificación obligatoria en algunos países y la mayoría de los datos disponibles son obtenidos gracias a investigaciones particulares. Sin embargo, para el año 2001 en la 54ª Asamblea de Mundial de la Salud, se consideró a las parasitosis como prioridad de salud pública, señalando que más de 2000 millones de personas, aproximadamente la tercera parte de la población mundial, estaría infectada por parásitos, de las cuales cerca de 300 millones sufren formas clínicas graves y 155 mil mueren cada año por causas atribuibles a estas parasitosis (6). La especie *Giardia intestinalis* presenta la mayor prevalencia mundial entre los protozoarios (7,8) y *Ascaris lumbricoides* entre los helmintos, alcanzando aproximadamente 1.472 millones de infectados (9).

En América Latina y el Caribe existen por lo menos 39 millones de infectados por parásitos intestinales (7). En Bolivia en el año 2012, de acuerdo con la investigación de Rivero y colaboradores (10) realizada en población adulta, y particularmente en pacientes geriátricos, refieren una alta frecuencia de *Blastocystis* spp. y protozoarios comensales tales como *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, entre otros.

Estudios en la población venezolana, demuestran altas prevalencias de parasitosis, que oscilan entre 42,6% y 97,4% (1,11). Sin embargo, la amibiasis es la

única parasitosis intestinal de notificación obligatoria, reportándose 48.494 casos principalmente en grupos etarios de 1 a 4 años y de 25 a 44 años (12). Estas infecciones están asociadas con situaciones de pobreza, especialmente en países en vías de desarrollo donde se observa deficiencias en hábitos de higiene personal, prácticas inadecuadas en la preparación de los alimentos, indebida disposición de excretas, mala disponibilidad de agua, así como deficientes condiciones sanitarias que propician el contacto entre las formas parasitarias infectantes y sus hospederos (4,13). Venezuela, en las últimas décadas, ha presentado un acelerado aumento de la inflación, ocasionando una disminución progresiva del ingreso económico, lo cual ha generado un impacto negativo en las condiciones de vida del venezolano (1).

Debido a esta situación de salud, La Fundación Centro de Estudios sobre Crecimiento y Desarrollo de la Población Venezolana (FUNDACREDESA) realizó el Segundo Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humano de la República Bolivariana de Venezuela (SENACREDH) en individuos de edades comprendidas entre 3 meses y 59,99 años entre mayo del 2007 a diciembre 2008; en el que se levantó la información del Eje Centro Norte Costero del país, abarcando la evaluación nutricional a través de indicadores antropométricos, hematológicos y bioquímicos, odontología y parasitosis intestinales, así como el estrato socio-económico a través del método Graffar modificado por Méndez Castellano. Sin embargo, aún no se encuentran disponibles los resultados preliminares de esta investigación (11).

Para 2008, de acuerdo a datos generados por el Programa de Control de Parasitosis Intestinales y Esquistosomiasis de la Dirección de Sanidad Ambiental – Ministerio de Poder Popular para la Salud (MPPPS), la prevalencia general de geohelminCIAS fue 22,68% manteniéndose cercano a lo previsto por OPS/OMS (20%), siendo *A. lumbricoides* la especie con mayor prevalencia (9,07%), y en lo que respecta a protozoarios, la prevalencia general resultó 6,75% siendo *Blastocystis* spp. y *Giardia intestinalis* los más significativos. Esta estadística nacional se construyó a partir de datos suministrados por los estados Nueva Esparta, Táchira y Portuguesa, según lo indicado por dicho organismo. Sin embargo, grupos de investigadores participantes en la mesa de trabajo de XXVIII Jornadas de la Sociedad Parasitológica Venezolana (SPV) “J W Torrealba”; demostraron un predominio de protozoarios sobre helmintos, no coincidiendo con los datos aportados por el MPPPS, prevaleciendo *Blastocystis* spp, *Giardia intestinalis* y *Entamoeba histolytica*/E.dispar en los

primeros lugares (14).

El estado Carabobo, ha presentado un aumento de la inmigración poblacional en las últimas décadas en busca fuentes de empleo. Esto genera como consecuencia del aumento de su población y la creación de barriadas para dar alojamiento a sus habitantes; aglomerándose en su mayoría en la zona sur de la ciudad, donde se ubican los estratos sociales más bajos de la población (15).

Tradicionalmente los estudios sobre parasitosis intestinales se llevan a cabo en niños por ser un grupo de alto riesgo dado a sus hábitos de juegos y posible susceptibilidad a dichas infecciones, con manifestaciones clínicas graves. Por el contrario, en la población adulta por considerarse inmunocompetentes en la mayoría de los casos, no suelen desarrollar enfermedades graves, por lo que las investigaciones de prevalencia de parasitosis en este grupo etario resulta poco frecuente, aun cuando aporta información epidemiológica importante. La posibilidad de contar con datos de prevalencia de parasitosis intestinal en población adulta permitiría crear políticas públicas y sanitarias más eficientes y consecuentes con la situación actual.

Por ello la presente investigación se realizó con el propósito de determinar la prevalencia de parásitos intestinales en individuos en edades comprendidas entre 16 y 81 años pertenecientes a tres comunidades urbanas del estado Carabobo y determinar su posible relación con alteraciones hematológicas.

Materiales y Métodos

Este estudio surge a partir de un programa de asistencia social de la Asignatura Prácticas Profesionales de Parasitología del Departamento de Estudios Clínicos, en la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo. Se llevó a cabo entre abril y junio del año 2011, abarcando las comunidades "La Unidad" ubicado al sur del municipio Valencia cuyas coordenadas geográficas son 68°59'12" de longitud oeste y 10° 10'11" de latitud norte, "Brisas de Carabobo" ubicada en Municipio Naguanagua 68°00'40" longitud oeste y 10°15'00" latitud norte y "Simón Bolívar" del municipio Naguanagua cuyas coordenadas geográficas son 10°17'05" Latitud Norte y 68°00'53" Latitud Oeste, todos estos pertenecientes al Estado Carabobo.

Las actividades asistenciales del mismo fueron efectuadas previa información de los objetivos, autorización verbal y escrita de los pacientes participantes y con la probación del comité de bioética; 375 individuos

asistieron a la convocatoria de actividades asistenciales del proyecto, en su mayoría pertenecientes a los estratos socioeconómicos IV y V determinados según el método Graffar modificado por Méndez Castellano citado por Barón y cols (2007)(1). Se les extrajo por venoclisis 5 cc de sangre venosa a nivel del pliegue del codo, dispensando la muestra en tubos de vidrio de 12x75 mm con anticoagulante EDTA para el análisis de los parámetros hematológicos para lo cual se contó con un Contador Hematológico Mindray 3200, la fórmula leucocitaria fue realizada a través de la observación microscópica del extendido sanguíneo para el cual se utilizó colorante Wright. Se tomaron como valores de referencia para la hemoglobina de 12,0 a 15,0 mg/dL en mujeres y de 13,0 a 16,0 mg/dL para hombres, para el hematocrito de 36 a 45% en mujeres y de 39 a 48% en hombres, los leucocitos de 4.000 a 10.000/mm³ (16). El criterio para la clasificación de la anemia fue manejado según lo establecido por la Organización Mundial de la Salud, considerando anemia severa cuando la concentración de Hemoglobina (Hb) es menor de 7,0 g/dL, moderada entre 7,0 y 9,9 g/dL y leve entre 10,0 y 10,9 g/dL(17). Por su parte la eosinofilia se determinó cuando el recuento absoluto de Eosinófilos superó 450/mm³ (3). De acuerdo a los valores normales expresados por Pérez Requejo, 3ra Edición 1995, se consideró Leucocitosis al recuento de leucocitos > 10.000 /mm³ (16).

Por otro lado, las muestras de heces fueron recolectadas por el paciente en recipientes plásticos herméticos especiales para el coproanálisis y recibidas por el personal de Laboratorio participante del proyecto el mismo día de emitida la muestra. Las muestras de heces se analizaron por los métodos directo (solución salina al 0,85% - lugol diluido), de concentración (Kato cualitativo, Faust con sulfato de zinc al 33%, Baerman) y coloración temporal de Quensel. La diversidad de parásitos intestinales diagnosticados se expresa como individuos mono infectados (diagnosticados con una sola especie parasita) y poli-infectados (más de una especie) para cada comunidad estudiada.

El presente estudio tuvo un diseño descriptivo de tipo transversal que incluyó 93 individuos entre 16 y 81 años de edad, que cumplieron con la extracción de muestra sanguínea para determinación de hematología completa y a su vez con la recolección de una muestra de heces de deposición espontánea.

Análisis estadístico de los datos

Los datos fueron tabulados considerando la edad, sexo, procedencia y resultados de laboratorio. Se empleó el programa estadístico Statgraphic 5.1 para el cálculo de frecuencias porcentuales, media y desviación estándar. Igualmente se evaluaron las posibles asociaciones estadísticas entre las variables aplicando contraste exacto de Fisher, considerando un 95% de confiabilidad.

Resultados

En relación a la procedencia, 46,23% de la población estudiada pertenece a la Comunidad Brisas de Carabobo, 38,71% a La Unión y el resto (15,06%) a Simón Bolívar. La muestra estuvo conformada por 81,72 % mujeres y 18,28% hombres en un rango de 16 a 81 años de edad, con una media de 43,47 años y distribuidos por grupos etarios como se muestra en la Tabla 1.

El análisis de la prevalencia por grupo etario mostro que el grupo entre 42 y menos de 55 años, presento la mayor frecuencia de individuos infectados por al menos uno de los microorganismos encontrados (Tabla 1).

En el estudio coproparasitológico, 55,91% de las mujeres y 9,68% de los hombres resultaron positivos para la presencia de por lo menos un protozooario y/o ameba comensal, para una prevalencia general de 65,59 %. La comunidad Simón Bolívar presentó la mayor prevalencia de parasitosis (78,59%), seguido por La Unión (63,89%) y Brisas de Carabobo (62,79%).

En relación a los parámetros hematológicos se observó anemia, parámetro que se evaluó de acuerdo al Criterio de la OMS (2005) (17), en el 9,68% de los individuos estudiados; leucocitosis en 17,21%, determinado según lo publicado por Pérez Requejo (1995) (34), y además se encontró eosinofilia en 21,73%, de acuerdo a lo establecido por Pérez-Arellano, 2006 (3). Se observó que la mayor frecuencia de eosinofilia coincidió con la mayor proporción de individuos mono infectados (9,78%) (Tabla 2).

TABLA 1. Distribución de frecuencia de resultados coproparasitológicos en función de los grupos etarios.

Grupo Etario	Infectados		No infectados		TOTAL
	n	%	n	%	
16 a < 29 años	14	15,05	8	8,60	22
29 a < 42 años	15	16,13	4	4,30	19
42 a < 55 años	16	17,20	9	9,68	25
55 a < 68 años	12	12,90	10	10,75	22
68 a 81 años	4	4,30	1	1,08	5
TOTAL	61	65,59	32	34,41	93

TABLA 2. Presencia de eosinofilia en relación a la presencia de parasitosis intestinal.

Eosinofilia	No parasitados		Mono infectados		Poli-infectados	
	N	f (%)	n	f (%)	n	f (%)
Presente	5	5,43	9	9,78	6	6,52
Ausente	27	29,35	26	28,26	19	20,65

El promedio de los resultados en cada parámetro hematológico discriminado por comunidad se mantuvo dentro de los valores de referencia considerados en este estudio (5,17, 34) (Tabla 3).

Se evidenció anemia en 11,11% (4/36) de los individuos de La Unidad, y 11,63% en Brisas de Carabobo (5/43). No se observó anemia en ningún individuo de la comunidad Simón Bolívar. La intensidad de la anemia fue leve en todos los casos de la comunidad La Unión, mientras que en Bisas de Carabobo 9,30% (4/43) presentaron anemia leve y solo 2,33% (1/43) manifestó anemia moderada. En ninguna comunidad se observó relación estadísticamente significativa de parasitosis en función a la anemia (Brisas de Carabobo $p=0,62$; Barrio La Unidad $p=0,15$).

En la presente investigación no se observó relación estadística entre la presencia de parásitos intestinales y la eosinofilia en los individuos de cada comunidad según el contraste exacto de Fisher (Brisas de Carabobo: $p=0,39$; Barrio La Unidad y Simón Bolívar $p=1,00$). Por su parte, los resultados obtenidos por coproparasitología no guardaron relación estadística con la presencia de leucocitosis en individuos de las tres comunidades evaluadas (Brisas de Carabobo $p=0,14$; Barrio La Unidad $p=0,64$; Simón Bolívar $p=0,79$).

Tras estudios por métodos directos, de concentración (Kato cualitativo, Faust, Baerman), y de coloración temporal (Quensel), se lograron identificar los microorganismos presentados en la Tabla 4, siendo uno de los más prevalentes *Blastocystis* spp en las tres comunidades estudiadas.

Por último, la Tabla 5 muestra la prevalencia de infección por parásitos intestinales y/o amebas comensales diagnosticados por cada comunidad y las alteraciones hematológicas observadas. Pese a que Simón Bolívar fue la comunidad con mayor frecuencia de parasitosis intestinal, los individuos no manifestaron el mayor porcentaje de eosinofilia, leucocitosis o anemia en relación a las otras comunidades evaluadas.

TABLA 3. Distribución de frecuencia de resultados coproparasitológicos en función de los grupos etarios.

Parámetro hematológico	Brisas de Carabobo		La Unidad		Simón Bolívar	
	x	ds	x	ds	x	ds
Hb (g/L)	13,41	0,23	13,19	0,19	13,64	0,42
Hto (%)	40,66	0,66	40,45	0,56	42,24	1,18
Recuento Leucocitos/mm ³	7560	273	8648	584	6957	433
Recuento absoluto Eosinófilos/ mm ³	269	43,8	613	199	187	55,18
Recuento Plaquetas/103mm ³	278	9,87	232	12,21	491	200

x: Promedio; ds: Desviación estándar.

TABLA 4. Distribución de especies parasitarias y comensales según la procedencia.

Microorganismo	Brisas de Carabobo f (%)	La Unidad f (%)	Simón Bolívar f (%)
<i>Blastocystis</i> spp	44,19	52,78	50,00
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	4,66	5,56	0,00
<i>Giardia intestinalis</i>	0,00	2,78	0,00
<i>Endolimax nana</i>	46,51	16,67	35,71
<i>Entamoeba coli</i>	16,28	11,11	21,30
<i>Iodamoeba bustchlii</i>	11,63	0,00	0,00
<i>Chilomastix mesnilli</i>	2,33	0,00	0,00
<i>Dientamoeba fragilis</i>	2,33	2,78	0,00

TABLA 5. Prevalencia de parasitosis y alteraciones hematológicas según la procedencia.

Procedencia	Prevalencia de Parasitosis			Alteraciones Hematológicas		
	No parasitados (%)	Mono infectados (%)	Poli infectados (%)	Anemia ¹ (%)	Eosinofilia ² (%)	Leucocitosis ³ (%)
Brisas de Carabobo	37,21	25,58	37,21	11,63	13,95	9,30
La Unión	36,11	47,22	16,67	11,11	33,33	30,56
Simón Bolívar	21,43	50,00	28,57	0,00	15,38	7,14

¹ Criterio de la OMS (2005): anemia en Hombres <13 g/dL y en mujer < 12g/dL (17).² Eosinofilia presente cuando el recuento absoluto de Eosinófilos sea >450/mm³ (3).³ De acuerdo a los valores normales expresados por Pérez Requejo, 3ra Edición 1995, se consideró Leucocitosis un recuento de leucocitos > 10.000 /mm³(16).

Discusión

Las parasitosis intestinales son consideradas un problema de salud pública bastante común tanto en el ámbito nacional como internacional. La prevalencia de parasitosis obtenida en este estudio resultó un poco más alta a la reportada por autores de investigaciones latinoamericanas tales como Iannacone y cols en Perú (54,7%) (18), Londoño y cols en Colombia (54,7%) (19), Indelman en Argentina (41%) (20) y Sánchez y cols en México (31,2%) (7). En Venezuela se han reportado prevalencias que oscilan entre 38,9% a 83,9% (1, 13, 21-24), la amplia variación entre los valores está relacionada con las características sociales, sanitarias y culturales de cada comunidad (24, 25), por lo que en las poblaciones rurales o urbanas marginales se distingue una mayor parasitosis (13, 21, 23, 26). De este modo, la tasa de infecciones diagnosticadas por coproparasitología de la presente investigación en la comunidad del Municipio Valencia; resultó similar a la obtenida por Barón y cols, quien reportó una prevalencia de 58,4% en el mismo municipio para el año 2007 sin presencia de helmintos (1).

La mayor prevalencia de infección por grupo etario se observó en individuos entre 44 y menos de 55 años. Por su parte en el Boletín Epidemiológico de la semana Nro. 44 del año 2014 (12) se observa el mayor número de casos de diarreas en el grupo etario entre 25 y 44 años que coincide con el grupo de individuos diagnosticados con amibiasis. Por lo cual se considera importante realizar estudios epidemiológicos con mayor rango de acción en los municipios Naguanagua y Valencia para comprender el comportamiento de las infecciones parasitarias.

Es importante destacar que aun cuando la comunidad Simón Bolívar presentó una frecuencia de parasitosis intestinal más elevada, Brisas de Carabobo obtuvo la mayor tasa de poli-infección (Tabla 5), a pesar de ser comunidades aledañas del mismo Municipio; deduciendo que esta situación sea debida a irregularidades en el servicio de agua de consumo humano o bien por insalubridad e inadecuado saneamiento ambiental, hacinamiento, condiciones precarias de vivienda, la contaminación fecal de la tierra, la carencias en educación sanitaria, hábitos higiénicos inadecuados y una calidad de vida deficiente, facilitando así la diseminación de parásitos intestinales.

El predominio de infecciones por protozoarios en los individuos de estas poblaciones concuerda con trabajos similares a nivel nacional (27 - 30) e internacional (18). Igualmente, concuerda con la frecuencia de protozoarios

descrita por investigadores parasitólogos y expertos (14), quienes lo consideran un indicador importante de la precaria calidad del agua para consumo humano que afecta a gran parte del país.

Es importante señalar que aun cuando solo se analizó una muestra fecal por persona, la sensibilidad diagnóstica aumentó al implementarse métodos de concentración para la recuperación de protozoarios y helmintos intestinales en dichas muestras.

Blastocystis spp fue uno de los parásitos que mostró mayor frecuencia en las tres comunidades (tabla 4), que coincide con los hallazgos de los autores Devera y cols (13,31,32), Stranieri y cols (23), Perez y cols (2), entre otros, en comunidades de Venezuela. En segundo lugar se encuentra la especie *Endolimax nana*, diagnosticada por observación microscópica de su forma quística, aunque ésta es una ameba comensal, pone en evidencia la mayor predisposición de adquirir infecciones por parásitos patógenos que cumplan la misma ruta de transmisión, tal como ocurre con *E. histolytica*, agente causal de la amibiasis, así como también cualquier otro patógeno intestinal que tenga como puerta de entrada la vía oral. Es por ello que los estudios de prevalencia de parasitosis intestinal siempre resultan en un gran aporte socio-epidemiológico, siendo empleados como indicadores de salubridad.

Concuerdan los hallazgos de esta investigación con lo reportado por Herrera en el 2005 (33), quien expone que los protozoarios intestinales no generan cambios hematológicos drásticos, exceptuando los casos de infección de larga data, o las producidas por coccidios tales como *Isospora belli*. Es así como no se observan anemias marcadas, pudiendo asociarse los pocos casos obtenidos a posibles deficiencias de vitaminas y minerales en la dieta diaria.

La eosinofilia observada no resultó un parámetro relevante posiblemente debido a que solo se detectaron protozoarios intestinales, los cuales no tienen migración tisular y por tanto no aumenta el número total de eosinófilos en sangre como respuesta inmunológica. Por tanto, los pocos casos de eosinofilia detectados pudieran estar relacionados con otras condiciones fisiológicas o patológicas tales como alergias o asma.

Conclusiones

Se evidencio que la comunidad Simón Bolívar presentó mayor prevalencia de parasitosis intestinal, aunque la comunidad Brisas de Carabobo mostró mayor proporción de poli-infección. Dado que estas

comunidades son aledañas, se deduce que comparten factores sociosanitarios predisponentes a estas infecciones. La comunidad Simón Bolívar también resultó ser la que presentó mayor porcentaje de individuos mono infectados. El agente parasitario más frecuentes en las tres comunidades fue *Blastocystis* spp. y entre las amebas comensales *Endolimax nana*.

No se encontró evidencias estadísticamente significativas entre la frecuencia de parasitosis encontrada en cada comunidad con los resultados de los análisis hematológicos determinados, principalmente con la eosinofilia, posiblemente debido a la prevalencia de protozoarios intestinales.

Recomendaciones

Estudios de prevalencia de parasitosis intestinal en población adulta discriminado por rango de edades, ordenamiento poblacional (urbana, suburbana o rural), y características clínicas permitirán crear políticas públicas y sanitarias más eficientes y consecuentes con la situación actual con el fin de disminuir las tasas de parasitosis intestinal que presenta actualmente la población venezolana.

Partiendo de la premisa de que a mayor carga parasitaria y/o al presentar diversos agentes parasitarios se compromete el estado de salud del individuo, desencadenando patologías complicadas; se recomienda realizar investigaciones que incluya el análisis de las condiciones socio-sanitarias que pueden estar relacionadas con este evento, a fin de promover acciones avocadas a minimizar los factores predisponentes en estas comunidades, tomando especial interés el abordaje de Brisas de Carabobo.

Agradecimiento

A la Dra. Emy González, del Laboratorio de Investigación de Postgrado de la Especialidad Bioquímica Clínica (LIPEB), sede DESCO Brisas de Carabobo, Ambulatorio Nuestra Sra La Luz (Naguanagua), todas pertenecientes a la Escuela de Bioanálisis – Universidad de Carabobo, sede Carabobo. A la Sra Xiomara Paiva, representante de la comunidad Simón Bolívar. Al personal obrero, administrativo y docente adscrito al Departamento de Estudios Clínicos, especialmente a los del Laboratorio de Prácticas Profesionales de Parasitología de la Escuela de Bioanálisis- Universidad de Carabobo, sede Carabobo.

Referencias

1. Barón M, Solano L, Páez M, Pabón M. Estado nutricional de hierro y parasitosis intestinal en niños de Valencia, Estado Carabobo. Venezuela. An Venez Nutr 2007; 20: 5-11.

2. Pérez J, Suarez M, Torres C, Vásquez M, Vielma Y, Vogel M, Cárdenas E, Herrera E, Sánchez J. Parasitosis intestinales y características epidemiológicas en niños de 1 a 12 años de edad. Ambulatorio urbano II “Laura Labellarte”, Barquisimeto, Venezuela. ArchVenezPuericPediatri 2011; 74(1): 16-22.
3. Pérez-Arellano J, Muro-Álvarez A. Conducta diagnóstica y terapéutica ante una eosinofilia importada. JANO [revista en la Internet]. MARZO 2006. N° 1.599. 17-23. Disponible en: <http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/0/1599/35/1v0n1599a13086229pdf001.pdf>
4. Rivero de R Z., Churio O, Bracho A, Calchi M, Acurero E, Villalobos, R. Relación entre geohelmintiasis intestinales y variables químicas, hematológicas e IgE, en una comunidad Yukpa del estado Zulia, Venezuela. RevSoc Ven Microbiol 2012; 32: 55-61.
5. Suárez-Díaz O, Atencio A, Carruyo M, Fernández P, Villalobos R, Rivero Z. Parasitosis intestinales y tisulares y su relación con la eosinofilia en una comunidad indígena Yukpa de la Sierra de Perijá. Estado Zulia. Kasmera [revista en la Internet]. 2013 Ene [citado 2014 Feb 28]; 41(1): 27-41. Disponible en: http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222013000100004&lng=es.
6. Organización Mundial de la Salud. 54° Asamblea Mundial de la Salud. Novena sesión plenaria 22 de mayo de 2001. Comisión A. Quinto informe. Disponible en : www.who.int/neglected.diseases/mediacenter/WHA_54.19_Esp.pdf
7. Sánchez de la Barquera-Ramos M, Miramontes-Zapata M. Parasitosis intestinales en 14 comunidades rurales del altiplano de México. Rev MexPatolClin. 2011. 58(1): 16-25.
8. Haque R, Roy S, Kabir M, Stroup SE, Mondal D, Houtp ER. Giardia Assemblagea infection and diarrhea in Bangladesh. J Infect Dis. 2005; 192 (12): 2171-2173.
9. Rossomando M J, Márquez W, Prado J, Chacón N. Epidemiología de himenolepiosis y otras parasitosis intestinales en una comunidad suburbana de Escueque, Trujillo-Venezuela. RevFacMed (Caracas) 2008; 31(2): 101-110.
10. Rivero de R Z, Calchi M, Acurero E, Uribe I, Villalobos R, Fuenmayor A. Protozoarios y helmintos intestinales en adultos asintomáticos del estado Zulia, Venezuela. Kasmera [revista en la Internet]. 2012 Jul [citado 2014 Feb 28]; 40(2): 186-194. Disponible en: http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222012000200008&lng=es.
11. FUNDACREDESA. Impacto poblacional en Venezuela por el enriquecimiento con hierro y vitaminas de las harinas precocidas de consumo humano. Ministerio de Salud y Desarrollo Social/UNICEF. FUNDACREDESA.

- Una visión integral de Venezuela XXV años. Primera Edición. Caracas, 2002. Servicios gráficos M.G. II.
12. Boletín epidemiológico, semana epidemiológica N° 44. Desde 26 de Octubre hasta 01 de Noviembre de 2014. MPPS. 63: 1-28. Disponible en: <file:///C:/Documents%20and%20Settings/F.C.S/Mis%20documentos/Downloads/Boletinepidemiologico44.pdf>
 13. Devera R, Angulo V, Amaro E, Finali M, Franceschi G, Blanco Y, Tedesco R, Requena I y Velázquez V. Parásitos intestinales en habitantes de una comunidad rural del estado Bolívar, Venezuela. *RevBiomed*.2006; 17: 259-268.
 14. XXVIII Jornadas de la Sociedad Parasitológica Venezolana (SPV) "J W Torrealba" Centro de Investigaciones en Salud Pública "Jacinto Convit". Sanare, Estado Lara, 2- 4 de Julio de 2009 Extracto de los documentos generados en las mesas de trabajo: Evaluación de Enfermedades Parasitarias en Venezuela. Sugerencias para la Solución de Problemas en distintas parasitosis. *Salus online* 2014; 14(1): 4.
 15. Solano L, Acuña I, Barón M, Morón de Salim A, Sánchez A. Asociación entre pobreza e infestación parasitaria intestinal en preescolares, escolares y adolescentes del sur de Valencia estado Carabobo-Venezuela. *Kasmera* 2008; 36(2): 137 – 147.
 16. Pérez Requejo JL. Hematología Tomo II. 3era Edición. Editorial Disinlimed, C.A. Caracas 1995.
 17. Organización Mundial de la Salud. Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005 WHO Global Database on Anaemia. 2005. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf.
 18. Iannacone, J., Benites, M. y Chirinos, L. Prevalencia de infección por parásitos intestinales en escolares de primaria de Santiago de Surco, Lima, Perú. *Parasitol Latinoam*.2006; 61: 54-62.
 19. Londoño A, Mejía S, Gómez-Marín J. Prevalencia y riesgos asociados a parasitismo intestinal en preescolares de zona urbana en Calarcá, Colombia. *Rev Salud Publica* 2009; 11(1): 72-81.
 20. Indelman P, Echenique C, Bertorini G, Racca L, Gómez C, Luque A, Magaró H. Parasitosis intestinales en una población pediátrica de la ciudad de Rosario, Santa Fé, Argentina. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2011; 45(2): 329-334.
 21. Del Real S, Sánchez Jaeger A, Barón M, Díaz N, Solano L, Velásquez E, López J. Estado nutricional en niños preescolares que asisten a un jardín de infancia público en Valencia, Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 2007; 57(3): 248-254.
 22. Stranieri M, Silva I, Molina Y, Monges D, Montenegro L, Morales M, Dávila I. Parasitosis intestinales en alumnos de la Unidad Educativa Carabobo. Belén, Municipio Carlos Arvelo. Estado Carabobo. Venezuela. *Comunidad y Salud* 2009; 7(1): 23-28.
 23. Rivero Z, Maldonado A, Bracho A, Gotera J, Atencio R, Leal M, Sánchez R, Silva C. Enteroparasitosis en indígenas de la comunidad Japrería, estado Zulia, Venezuela. *Interciencia* 2007; 32(4): 270-273.
 24. Alarcón M, Iannacone J, Espinoza Y. parasitosis intestinal, factores de riesgo y seroprevalencia de toxocarosis en pobladores del parque industrial de huaycán, lima, Perú. *Neotrop. helminthol.* [online]. ene.-jun. 2010, vol.4, no.1 [citado 25 Octubre 2014], p.17-36. Disponible en la World Wide Web: <http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1995-10432010000100003&lng=es&nrm=iso>.
 25. Devera, R., Requena. I., Blanco, Y., Al Rumhein, F., Velásquez, V. y Tedesco, R. Prevalencia de parásitos intestinales en escolares de la Escuela Básica Estatal José Félix Blanco, estado Bolívar, Venezuela. *Salus online* Diciembre 2010; 14(3): 43-50.
 26. Sangronis M, Rodríguez A, Oberto-Perdigón L, Navas-Yamarte P, Martínez-Méndez D. Geohelmintiasis intestinal en preescolares y escolares de una población rural: realidad socio-sanitaria. Estado Falcón, Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol* 2008; 28: 56-62
 27. Páez B, Calchi M. Prevalencia de Parasitosis Intestinales en alumnos del preescolar INSP José Celestino Azuaga, "el Policiíta". Municipio Maracaibo. Estado Zulia. *Kasmera* 1994; 22: 51-69.
 28. Rivero Z, Chourio G, Díaz I, Cheng R, y Rucsón G. Enteroparasitosis en escolares de una Institución Pública del Municipio Maracaibo, Venezuela. *Invest. Clin.* 2000; 41: 27-57.
 29. Simoes M, Rivero Z, Cedeño G, Lugo M, Maldonado A, Chapín I, Parra M, Méndez Y, y Marquina M. Prevalencia de enteroparasitosis en una Escuela Urbana en el Municipio San Francisco, Estado Zulia, Venezuela. *Kasmera*. 2000; 28: 27-43.
 30. Urdaneta H, Cova I, Alfonso N, y Hernández M. Prevalencia de Enteroparásitos en una Comunidad Rural Venezolana. *Kasmera* 1999; 27: 41-51.
 31. Devera R, Cermeño J, Blanco Y, Bello M, Guerra X, De Sousa M, Maitan M. Prevalencia de Blastocitosis y otras parasitosis intestinales en una comunidad rural del estado Anzoátegui, Venezuela. *Parasitol Latinoam* 2003; 5: 95 – 100.
 32. Devera R, Blanco Y, Amaya I, Tutaya R, Ramirez K, Bermudez A. Parasitosis intestinales en habitantes de una comunidad de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. *Academia Biomédica Digital*. 2014. N. 57. Disponible en: http://vitae.ucv.ve/index_pdf.php?module=articulo_pdf&n=4908&rv=110
 33. Alparo-Herrera I. Giardiasis y desnutrición. *Rev. Bol. Ped.* 2005; 44(3): 166-173.

POLIMORFISMOS DEL GEN DE LA APOLIPOPROTEÍNA-E RELACIONADO CON LA ENFERMEDAD DE MEMBRANA HIALINA DEL NEONATO.

Pedro Michelli¹, Rosa Ciaccia², Horbelys Guzmán¹, Marwan Aguilar¹, Jesuelith Carrillo³, Mariom Di Mauro³, María Fátima Garces³, Joseba Celaya¹.

¹Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina UCV, Escuela Luis Razetti. ²Servicio de Neonatología del Hospital Universitario de Caracas. ³Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina UCV.

Recibido para publicación el 30 marzo 2015. Aprobado para publicación el 30 de abril 2015.

RESUMEN:

El Anuario de Mortalidad en Venezuela reportó en el año 2008 3.150 muertes infantiles por “síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido” y “dificultad respiratoria del recién nacido”. El gen APOE codifica la Apolipoproteína-E que interviene en el metabolismo lipídico incluyendo fosfolípidos, justificando su análisis en relación a la Enfermedad de Membrana Hialina (EMH). EL gen APOE humano es polimórfico y está asociado a diversos trastornos del metabolismo lipídico. Por esta razón, se estudió su posible relación con la síntesis del surfactante pulmonar y por ello con la EMH en neonatos prematuros. Se realizó una investigación tipo campo experimental, para la cual se tomaron muestras de sangre periférica de 64 neonatos prematuros, pacientes del Hospital Universitario de Caracas, UCV, durante el periodo enero 2008 a diciembre 2009. En el laboratorio de Patología Molecular, UCV, se realizó aislamiento del ADN genómico de las muestras y mediante la técnica de RFLP-PCR se genotipificó el gen APOE en los pacientes con o sin la enfermedad. No se encontró asociación entre polimorfismo del gen y la enfermedad estadísticamente significativa. Adicionalmente se comparó la distribución de las frecuencias de los alelos del gen APOE entre la población de neonatos prematuros estudiada en este trabajo y una población de individuos sanos que tomamos como posible control, se encontró que el alelo $\epsilon 2$ del gen pudiera estar relacionado con un menor riesgo a ser prematuro, o tener un efecto protector a favor de nacer a término. Este hallazgo será corroborado o descartado mediante el estudio de la distribución de frecuencias de alelos del gen en una población de neonatos a término del mismo servicio de neonatología del Hospital Universitario de Caracas.

Palabras claves: APOE, Polimorfismo, Surfactante Pulmonar, Síndrome de dificultad respiratoria neonatal, Enfermedad de Membrana Hialina, Recién nacido prematuro.

GENE POLYMORPHISMS OF APOLIPOPROTEIN-E ASSOCIATED WITH HYALINE MEMBRANE DISEASE OF THE NEONATE.

SUMMARY

The Yearbook of Mortality in Venezuela reported 3150 infant deaths for respiratory distress in the year 2008. The APOE gene encodes apolipoprotein-E involved in lipid metabolism including phospholipids, justifying its analysis in relation to hyaline membrane disease (HMD). The human APOE gene is polymorphic and is associated with various disorders of lipid metabolism. For this reason, we studied its possible relationship to pulmonary surfactant synthesis and thus with the HMD in preterm infants. This research was conducted experimental field type, for which samples were taken from peripheral blood of 64 preterm infants, patients in the Hospital Universitario de Caracas, UCV, during the period January 2008 to December 2009. In the laboratory of Patología Molecular was performed isolation of genomic DNA samples and by RFLP-PCR technique the APOE gene was genotyped in patients with or without the disease. No association between gene polymorphism and the disease was statistically significant. Additionally we compared the distribution of the frequencies of the APOE gene alleles between the preterm population studied in this work and a population of healthy individuals as possible to take control, we found that the gene $\epsilon 2$ allele might be associated with a decreased risk of being premature, or have a protective effect for born at term. This finding will be confirmed or ruled out by studying the frequency distribution of alleles of the gene in a population of term infants of the same neonatal ward at the Hospital Universitario de Caracas.

Keywords: APOE, Polymorphism, Pulmonary surfactant, Neonatal respiratory distress syndrome, Hyaline membrane disease, premature newborn

Introducción

Muchos recién nacidos (RN) prematuros mueren o sufren graves consecuencias por causa del Síndrome de Dificultad Respiratoria (SDR) asociado a inmadurez pulmonar.

Existen muchas causas de insuficiencia respiratoria en el RN, incluyendo una sedación excesiva de la madre, traumatismos de la cabeza fetal durante el parto, aspiración de sangre o líquido amniótico e hipoxia intrauterina debida a opresiones del cordón umbilical

Solicitar copia a: Joseba Celaya. (e-mail: celayaj@med.ucv.ve; jcelaya@ivic.gob.ve)

alrededor del cuello. Sin embargo, la causa más frecuente es el Síndrome de Dificultad Respiratoria del recién nacido asociado a inmadurez pulmonar. Según el Anuario de Mortalidad en Venezuela, de la Dirección de Epidemiología del MPPS (Ministerio Popular Para la Salud) en el año 2008 la mortalidad por Dificultad respiratoria del recién nacido fue de 3150 niños (1889 varones, 1261 hembras) (1).

La Enfermedad de Membrana Hialina (EMH) se caracteriza por la formación de exudados secundarios que microscópicamente se observan como un material amorfo depositado en la pared de los alvéolos pulmonares, cursando tempranamente con un serio compromiso de la función respiratoria, que en muchos casos puede conducir a la muerte. Su causa fue establecida como un déficit de surfactante en 1959 por Avery y Mead (2). Si el niño no fallece por infección secundaria y otras complicaciones, en algunos casos pueden quedar graves secuelas como Displasia Broncopulmonar (3), Retinopatía severa (4) o también presentarse trastorno en el desarrollo neurológico (5).

Otras posibles influencias en su aparición son la diabetes materna, la cesárea antes del comienzo del trabajo de parto y el embarazo gemelar.

El surfactante pulmonar es una sustancia tensoactiva producida por los neumocitos tipo II, que disminuye la tensión superficial a nivel de la interfase aire-líquido en la pared alveolar previniendo su colapso (6) y sin cuya función se dificulta progresivamente la posibilidad de intercambio gaseoso conduciendo a hipoxia severa. El SDR ocurre en alrededor del 60% de los niños nacidos con menos de 28 semanas de gestación, del 15 al 20% de los nacidos entre las 32 y 36 semanas de gestación y menos del 5% en aquellos nacidos después de la semana 37 de gestación (7).

Bioquímicamente el surfactante pulmonar está compuesto por 90% de lípidos y 10% de proteínas (8). Siendo la porción lipídica (principalmente fosfolípidos como la fosfatidilcolina), el elemento más abundante del surfactante y al que principalmente se debe la disminución de la tensión superficial. Una de las apolipoproteínas de la sangre que más participa en el transporte de los lípidos en el organismo para su metabolismo es la Apolipoproteína-E (ApoE). Existen varios trabajos experimentales que indican la importancia de esta apoproteína en el metabolismo de fosfolípidos como la fosfatidilcolina y de sus niveles en el surfactante alveolar (9). Algunos estudios han hallado también que ratones deficientes en ApoE contienen menos fosfatidilcolina en el cerebro que los controles

(10), mientras que por otro lado se demuestra que es necesaria la molécula completa de la proteína para unirse a su receptor y a los fosfolípidos (11). Igualmente se ha observado que la ApoE modula la homeostasis del colesterol y de los fosfolípidos en el sistema nervioso (12, 13) y que puede estimular su secreción en los neumocitos tipo II (14). Estudios de la expresión de los receptores de lipoproteínas y de ApoE en ratas de edad perinatal mostraron su influencia en la carga de lípidos por los fibroblastos en pulmón, durante la maduración pulmonar (15). Además, se han descrito casos debidos a cambios en los genes de las proteínas del surfactante, como polimorfismos de sus alelos (16) o mutaciones recesivas de alguna de ellas (17).

La apolipoproteína E (Apo E) fue descubierta al principio de la década de los setenta, formando parte del componente protéico de algunas lipoproteínas ricas en triglicéridos. De inmediato se hizo evidente que la Apo E era un determinante significativo en el metabolismo del colesterol, por lo que se convirtió en el foco de un intenso escrutinio científico (18) que continúa en nuestros días.

La Apolipoproteína-E humana circula en el plasma asociada con todas las clases de lipoproteínas. Su estructura primaria se determinó inicialmente por secuenciación de los aminoácidos de la cadena de la Apo E purificada a partir de la fracción VLDL humana (19); posteriormente se confirmó por secuenciación del ADN complementario (ADNc) obtenido a partir del ARN mensajero (ARNm) del gen APOE de rata (20) y posteriormente del ADNc del gen (APOE) humano (21). Es una llave moduladora de la homeostasis del colesterol y lípidos sanguíneos. Es un monómero de 299 aminoácidos, con un peso molecular de 35 kDalton que consiste de dos dominios plegados de manera independiente: el dominio amino-terminal de 22 kDalton (residuos 1 al 191) que se une con mucha afinidad a los receptores celulares de lipoproteínas y débilmente con lípidos (vecindad de los residuos 136 - 150), y el dominio carboxi-terminal de 10 kDalton (residuos 216 - 299), que contiene los elementos de afinidad con los lípidos que forman parte de las partículas esféricas de lipoproteína (22). El gen de la ApoE está situado en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13,2) tiene 3612 pares de bases de longitud esta compuesto por cuatro exones espaciados por tres intrones y es polimórfico. Aparte de algunas raras variantes que se han identificado, los tres alelos más frecuentes descritos en la población mundial son e2, e3 y e4, codominantes, que codifican las tres principales isoformas de la ApoE

(E2, E3 y E4) y generan tres genotipos homocigotos y tres heterocigotos. La isoforma más frecuente de esta apoproteína, E3, se caracteriza por tener en la posición 112 un residuo de cisteína (cisteína112) y un residuo de arginina en la posición 158 (arginina158), en la región de unión a receptores. La isoforma E4 (arginina112 y arginina158) está asociada con colesterol elevado y es un factor que eleva el riesgo de sufrir demencia tipo Alzheimer (23). La isoforma E2 (cisteína112 y cisteína158) está asociada a hiperlipidemia tipo III (24,25).

La función primordial de la Apo E es servir como ligando de las lipoproteínas a sus receptores celulares; sus tres principales isoformas difieren en su afinidad por la familia de receptores de lipoproteínas y partículas ricas en triglicéridos. La isoforma E3 es la más frecuente en todos los grupos humanos especialmente en aquellas poblaciones con una antigua raigambre agrícola y de producción de alimentos como las de la cuenca del Mediterráneo. Se ha publicado que los portadores del alelo $\epsilon 4$ son más sensibles a los lípidos provenientes de la dieta, esto estaría asociado con una mejor absorción a nivel intestinal de ellos, incluidas las vitaminas liposolubles como A, D, E y K, lo cual representaría una ventaja en ambientes donde la alimentación es escasa y de disponibilidad irregular (26). La presencia de la isoforma E4 de la proteína se ha descubierto relativamente elevada en muchas poblaciones aborígenes, a nivel mundial, donde persiste una tradición de subsistencia de cazador-recolector y la provisión de alimentos es, o fue hasta épocas recientes, escasa o de difícil acceso (26). En las sociedades industrializadas modernas los portadores del alelo $\epsilon 4$ tienen los niveles más altos de colesterol total y LDL-colesterol, mientras que los portadores del alelo $\epsilon 3$ presentan un nivel intermedio y los del alelo $\epsilon 2$ presentan un nivel menor. Igualmente los sujetos con diferentes genotipos de APOE difieren en la eficiencia de absorción de colesterol exógeno desde el intestino delgado (27). En poblaciones indígenas americanas que aun conservan su estilo de vida ancestral, se encontró que a pesar de existir en éstas una elevada frecuencia del alelo $\epsilon 4$ (la frecuencia de $\epsilon 2$ es casi nula), ellas no presentan niveles anormales de colesterol total (28,29).

Aunque es el más frecuente, el alelo $\epsilon 3$ es en términos evolutivos, de aparición reciente, de 200.000 a 260.000 años y el alelo $\epsilon 2$ deriva de éste (30). $\epsilon 4$, es el único presente en nuestro pariente más cercano, el chimpancé (*Pan troglodytes*) y otros grandes primates relacionados y por eso es considerado "el alelo ancestral" (31). Se ha propuesto que el genotipo primitivo, $\epsilon 4/\epsilon 4$,

favorecía el ahorro de energía; "thrifty genotype" (genotipo ahorrador), una combinación de alelos excepcionalmente eficientes en cuanto a la asimilación y procesamiento de alimentos (32).

Diversas investigaciones experimentales utilizando modelos animales in vivo con ratones knockout para el gen APOE, relacionan la apolipoproteína E con la síntesis y el metabolismo del surfactante pulmonar. En los mamíferos, desde los grandes primates hasta el más pequeño roedor, el gen APOE es monomórfico, solo en humanos este gen es polimórfico. Aun no se ha estudiado la posible asociación entre alguno de los diferentes alelos del gen APOE y la EMH en neonatos. Esto justifica iniciar una investigación en búsqueda de este tipo de asociación.

El objetivo de este estudio fue estudiar si existe relación entre los alelos del gen APOE y la enfermedad de membrana hialina en neonatos prematuros, en pacientes del Hospital Universitario de Caracas, Universidad Central de Venezuela.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó entre el Servicio de Neonatología del Hospital Universitario de Caracas (HUC) y el Laboratorio de Patología Molecular de la Cátedra de Anatomía Patológica, Universidad Central de Venezuela, con aprobación del proyecto por el Departamento de Bioética del mismo hospital. Previa autorización por escrito del representante del paciente, se realizó una investigación de campo de tipo experimental.

El análisis se realizó durante un periodo de dos años (enero 2008 – diciembre 2009). Los criterios de inclusión comprendieron neonatos de edad gestacional menor de 36 semanas, con peso al nacer menor de 2.000 gramos, con o sin dificultad respiratoria. Solo se excluyeron los recién nacidos con malformaciones congénitas. La muestra fue de 64 neonatos y su recolección fue de tipo no probabilístico, mediante reclutamiento consecutivo de prematuros sufrieran o no la enfermedad.

A cada uno de los pacientes se le tomó 2 ml de sangre periférica en un tubo con EDTA en el Servicio de Neonatología, la muestra se trasladó al Laboratorio de Patología Molecular en cava refrigerada a 4° C con hielo, donde se realizó la extracción del ADN genómico (ADNg) según el protocolo del método de Bunce (34,35,36), modificado y simplificado en el Laboratorio de Patología Molecular, usando menos cloroformo y alcohol, y reduciendo la concentración del NaCl, que

con frecuencia ocasiona la inhibición de la polimerasa. Con este método se logran concentraciones de ADN que oscilan entre 0.2 a 1 mg/mL para su posterior amplificación por PCR.

Para determinar la integridad y calidad del ADN obtenido se realizó electroforesis en una mini-cámara horizontal donde se corrió 8 μ L de la muestra en un minigel de agarosa al 1 % en buffer TAE 0,5 X (40 mM Tris-HCl, 20 mM ácido acético glacial, 1 mM EDTA pH 8,5) coloreado con bromuro de etidio.

El gen APOE fue amplificado por PCR (Termociclador modelo PTC-100 de MJ RESEARCH, INC.) utilizando los cebadores: P1: 5'-GCACGGCTGTCCAAGGAGCTGCAGGC-3' y P2: 5'-GGCGCTCGCGGATGGCGCTGAG -3', que abarcan una región de 273 pares de bases (pb) del exón 4 que incluye los dos sitios polimórficos del gen (37). Para un volumen final de 25 μ L, por cada muestra a analizar, se agregó 5 μ L del ADN; 10,525 μ L de H₂O; 5 μ L buffer 5X Green; 0,1 μ L de la mezcla de dNTPs (100 mM); 1,5 μ L DMSO (100%); 2,5 μ L MgCl₂ (25 mM); 0,125 μ L de cada cebador (50 pmol/ μ L) y 0,125 μ L de Taq-Pol Promega (5 u/ μ L). Las condiciones de amplificación del gen APOE fueron: temperatura de inicio de 94 °C por 5 minutos, seguida por 40 ciclos de: desnaturalización 94°C por 30seg, alineamiento 65 °C por 30 seg y extensión 70°C por 90 seg; con una temperatura de salida de 70°C por 10 min. El producto de PCR fue visualizado en geles de poliacrilamida al 10% (proporción 29:1) y coloreado con una solución de nitrato de plata al 0,15%. También se corrió un marcador de peso molecular de 100 bp (Promega) y un control negativo.

En los pacientes analizados se determinó el genotipo del gen APOE mediante RFLP (Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción). Para un volumen final de 10 μ L se agregaron 4,48 μ L de H₂O, 1 μ L de Buffer Multicore 10 X (Promega), 0,02 μ L de BSA (Albúmina de Suero Bovino, Promega), 0,5 μ L de la enzima de restricción HhaI (Promega) y 4 μ L del producto de PCR. La mezcla se incubó a 37°C por al menos tres horas. Se realizó electroforesis del producto digerido en gel de acrilamida al 10% (proporción 19:1) a 200 Volt, 85 mA por 45 minutos, se utilizó un marcador de peso molecular de 10 bp (Promega), la tinción del gel fue con una solución de nitrato de plata al 0,15%. En la figura N° 1 se muestra un esquema de los patrones de corte de la enzima de restricción en el producto de PCR generado para cada alelo y que permite identificar el genotipo por electroforesis.

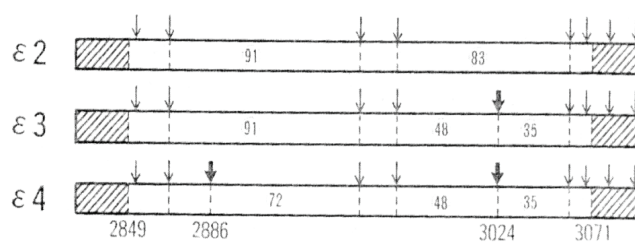


FIGURA 1. Representación esquemática de los 3 posibles alelos humanos ϵ 2, ϵ 3 y ϵ 4 del gen APOE y los fragmentos obtenidos con la enzima de restricción para cada uno de estos alelos.

Se ve el de 273 pb. Las zonas sombreadas indican los cebadores. Las flechas hacia abajo muestran los sitios de corte de la enzima de restricción HhaI comunes a todos los alelos. Las flechas gruesas, indican los puntos de corte polimórficos (37).

Los genotipos presentados por los pacientes fueron agrupados siguiendo la metodología de Molero (38) y Hutz (39): Grupo APOE 2, formado por los neonatos portadores de los genotipos ϵ 2/ ϵ 2 y ϵ 2/ ϵ 3 (al menos un alelo ϵ 2). Grupo APOE 3, integrado por el genotipo ϵ 3/ ϵ 3 (ambos alelos normales) y el Grupo APOE 4 formado por los ϵ 3/ ϵ 4 y ϵ 4/ ϵ 4 (al menos un alelo 4). En la población estudiada no se encontró ningún portador del genotipo ϵ 2/ ϵ 4 por lo que no fue necesario formar un cuarto grupo.

Las frecuencias de los alelos fueron estimadas por conteo directo de genes. Se utilizó la prueba de Ji-cuadrado para establecer si hay una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de las frecuencias de los grupos y de los alelos del gen, entre la población de prematuros que no padecieron del SDR y los prematuros que sí padecieron. Esto se realizó empleando el programa Epimax, disponible online (40). Para calcular el error típico correspondiente se empleó la siguiente ecuación: Raíz cuadrada de $(p(1-p)/n)$. Donde p es la frecuencia del alelo y n el número de cromosomas (cromosomas 19). Se realizó la comparación de las distribuciones alélicas del gen APOE, entre la población de niños prematuros reclutada en este trabajo y una muestra de población de habitantes de Caracas, usuarios del HUC para establecer OD radios (OR) mediante una tabla de contingencia de 2 x 2 según Wolf 1955 (41), Haldane 1956 (42) y Glas 2003 (43).

Resultados

De los 64 neonatos del estudio, 27 fueron del sexo masculino (42,19%) y 37 del sexo femenino

(57,81%). En la figura N° 2, sección A, se observa corrida electroforética en gel de acrilamida (29:1) no desnaturalizante al 10% de los productos de PCR que amplifica una sección de 273 pb del exón 4 del gen APOE donde están contenidos los polimorfismos. En las sección B se aprecian los productos de PCR posterior a la digestión con la enzima de restricción HhaI de 12 pacientes recién nacidos prematuros de los cuales 5 son homocigotos para el alelo ε3 (carriles B 4, 6, 10, 11 y 13) y 3 pacientes son heterocigotos para los alelos ε3/ε4 (carriles B 2, 9 y 12) 2 son heterocigotos ε2/ε3 (carriles B

7 y 8) 1 Homocigoto ε2/ε2 (carril B 3) y un homocigoto ε4/ε4 (carril C 5). No encontramos ningún 2/4.

El gen APOE se analizó en todos los pacientes, como se muestra en la Tabla 1 el alelo ε3 y el genotipo ε3/ε3 fueron los que se hallaron con mayor frecuencia. Al hacer el análisis de relación por el método estadístico de Ji-cuadrado se observó que no existe diferencia estadísticamente significativa en la distribución de los alelos al compararla por sexo, por lo cual se trataran conjuntamente ambos sexos como un todo, sin distinción.

En la Tabla 2 se observa que en la población de RN estudiada, el Grupo APOE 3 es el que presenta mayor frecuencia. Desde el punto de vista clínico, 36 pacientes presentaron la EMH (56,25%) y 28 neonatos estaban sanos (43,75%). Siendo la frecuencia del alelo ε3 de 0,81 en el grupo con SDR y de 0,77 en el grupo sin EMH. No encontramos una diferencia estadísticamente significativa entre ambas poblaciones.

La Tabla 3 muestra la relación entre los grupos según el genotipo detectado en el gen APOE y de los pacientes que sufrieron de la enfermedad que sobrevivieron o no a la misma. No hay una diferencia estadísticamente significativa en la distribución por grupo de ambas subpoblaciones.

En el presente trabajo se compararon las frecuencias alélicas de dos sub-poblaciones; Prematuros Enfermos (con EMH) y Prematuros Sanos (sin EMH). No hayamos una asociación entre los polimorfismos del gen APOE y la Enfermedad de Membrana Hialina. No estaba prevista una población de "Nacidos a Terminó" por ello, y en vista que no se halló ninguna asociación

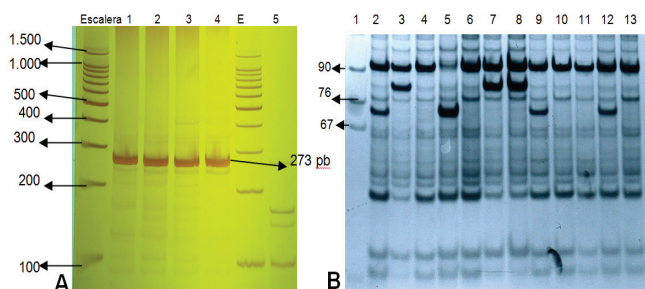


FIGURA 2. Amplificación y digestión enzimática del gen APOE. A: Electroforesis en gel no desnaturalizante de acrilamida al 10% (29:1) los productos amplificados por PCR de 273 pares de bases. Los carriles 1, 2, 3 y 4 representan los productos de PCR de los pacientes, el carril 5 de un control negativo y la E (Escala) marcador de peso molecular de 100 pares de bases. B: Electroforesis en gel no desnaturalizante de acrilamida al 10% (19:1) los productos amplificados por PCR de 12 recién nacidos digerido con HhaI. Carril 1 marcador de peso molecular (pBR322 X Msp I). Homocigotos ε3/ε3, carriles 4, 6, 10, 11 y 13. Heterocigotos ε3/ε4 los carriles 2, 9 y 12. Heterocigotos ε2/ε3 los carriles 7 y 8. Homocigoto ε2/ε2 el carril 3 y homocigoto ε4/ε4 el carril 5.

TABLA 1. Frecuencia de los alelos y genotipos del gen APOE según distribución por sexo.

Alelo	Todos (n=128)		Masculino (n= 54)		Femenino (n= 74)		p
ε2	(n*=10) 0,08±0,02		(n*= 5) 0,07±0,02		(n*= 5) 0,09±0,03		ns
ε3	(n*= 102) 0,80±0,04		(n*= 43) 0,80±0,04		(n*= 59) 0,80±0,04		ns
ε4	(n*=16) 0,13±0,03		(n*= 6) 0,14±0,03		(n*= 10) 0,11±0,03		ns
Genotipo	n°	F	n°	F	n°	F	p
ε2/ε2	2	0,03	1	0,04	1	0,03	ns
ε2/ε3	6	0,09	3	0,11	3	0,08	ns
ε3/ε3	41	0,64	18	0,66	23	0,62	ns
ε3/ε4	14	0,22	4	0,15	10	0,27	ns
ε4/ε4	1	0,02	1	0,04	0	0	ns
ε2/ε4	0	0	0	0,00	0	0	ns
TOTALES	64	1,00	27,00	1,00	37,00	1,00	

n*= número de cromosomas. n°= número de individuos. ns: no significativo

TABLA 2. Frecuencia de cada grupo del gen *APOE* en base a la presencia o ausencia de la Enfermedad de Membrana Hialina en los pacientes analizados.

	con EMH		sin EMH		OR (IC 95%)	p
	n	f	n	f		
Grupo <i>APOE</i> 2	3	0,08	5	0,18	0,4 (0,1-2,2)	ns
Grupo <i>APOE</i> 3	25	0,70	16	0,57	2,0 (0,4-11,0)	ns
Grupo <i>APOE</i> 4	8	0,22	7	0,25	0,7 (0,2-2,8)	ns
TOTAL	36	1,00	28	1,00		

OR= Odds ratio IC=Intervalo de Confianza n= número de individuos

TABLA 3. Relación entre los grupos del gen *APOE* y la mortalidad de la Enfermedad de Membrana Hialina.

	Sobreviven (n)		OR (IC 95%)	p
	Si	No		
Grupo <i>APOE</i> 2	3	0	0,6 (0,0-21,1)	ns
Grupo <i>APOE</i> 3	19	6	1,0 (0,0-18,0)	ns
Grupo <i>APOE</i> 4	7	1	2,2 (0,2-56,9)	ns
TOTAL	29,00	7,00		

n= número de individuos

entre el polimorfismo del gen y la enfermedad de Membrana Hialina, se decidió comparar la distribución de frecuencias alélicas encontradas con las reportadas en un trabajo de Genética de Poblaciones (44) donde se muestran las frecuencias alélicas de este gen en diversas poblaciones venezolanas, entre ellas las de un grupo de usuarios del mismo Hospital Universitario de Caracas (población mestiza venezolana) pertenecientes al mismo estrato socioeconómico de los pacientes en estudio y

que se tomó como "Población sana". En la Tabla 4 se muestra una comparación de las distribuciones de las frecuencias alélicas y de las frecuencias genotípicas del gen *APOE* entre los niños prematuros de este trabajo y una muestra de habitantes de Caracas usuarios del HUC tomada como control sano. La frecuencia del alelo $\epsilon 2$ del gen está muy incrementada entre los individuos sanos con respecto a los niños prematuros, con un valor de OR menor a 1, indicando que pudiera

TABLA 4. Comparación de la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del gen *APOE* entre dos poblaciones de usuarios del HUC: Niños Prematuros, este estudio y una muestra de población de habitantes de Caracas tomada como Población Sana.

	Sanos n = 87		Prematuros n = 64		OR(IC95%)	p	pc
	n*	F.A.	n*	F.A.			
Alelo <i>APOE</i>							
$\epsilon 2$	32	0,18	10	0,08	0,37	0,004	0,012
$\epsilon 3$	123	0,71	102	0,8	1,62	0,03	ns
$\epsilon 4$	19	0,11	16	0,13	1,16	0,33	ns
Genotipo <i>APOE</i>	n	F.G.	n	F.G.			
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0	0	2	0,03			
$\epsilon 2/\epsilon 3$	27	0,31	6	0,09			
$\epsilon 3/\epsilon 3$	46	0,53	41	0,64			
$\epsilon 3/\epsilon 4$	5	0,06	14	0,22			
$\epsilon 4/\epsilon 4$	3	0,03	1	0,02			
$\epsilon 2/\epsilon 4$	6	0,07	0	0			

estar relacionado con un menor riesgo a ser prematuro, o tener un efecto protector a favor de que los embarazos lleguen a término.

Discusión

A diferencia de los hallazgos reportados en ratones ApoE knockout donde Ryan y colaboradores (10) encuentran que “la modificación de genes envueltos en el catabolismo de lipoproteínas, entre ellos ApoE, resultan en hipertrigliceridemia la cual esta asociada con una alteración de la síntesis del surfactante pulmonar, en el presente trabajo no se encontró ninguna asociación entre los polimorfismos del gen APOE de la Apolipoproteína E humana y la Enfermedad de Membrana Hialina.

La etiología de muchos casos de parto prematuro permanece desconocida. Diversas investigaciones han estudiado la relación existente entre parto prematuro y genes relacionados con el metabolismo del colesterol. Entre estas publicaciones se encuentra la realizada por Steffen KL y colaboradores (2007) donde se reporta la influencia de variables fisiopatológicas, ambientales y socioeconómicas (42). Recientemente se ha reportado una posible predisposición genética al parto prematuro asociada a mutaciones o al polimorfismo de genes que están relacionados con el metabolismo del colesterol: 1) DHCR7 (7-dehidrocolesterolreductasa). Locus 11q12-q13, relacionado con el Síndrome de Smith-Lemli-Opitz que consiste en retardo mental provocado por una acumulación tóxica de 7-dehidrocolesterol debida a la deficiencia de la enzima 7-dehidrocolesterol delta 7-reductasa. 2) HMGCR (3 α Hidroxi-3-metilglutaril-CoA-sintetasa). Locus 5p14-p13, relacionado con el control de la tasa de síntesis del colesterol. 3) APOA1 (Apolipoproteína A1, Apolipoproteína de las lipoproteínas de alta densidad). Locus 11q23-q24. 4) ABCA1 (ATP-Binding cassette, Subfamily A, Member 1). Locus 9q22-q31, Relacionado con el síndrome de Tangier, también conocido como deficiencia familiar de las alfa lipoproteínas que es una rara enfermedad hereditaria que se caracteriza por muy bajos niveles de HDL colesterol en sangre (28). 5) APOE (Apolipoproteína E), Locus 19q13.2, gen en estudio en el presente trabajo y cuyo alelo ϵ 4 ha sido asociado con parto prematuro y/o bajo peso al nacer (46). Nuestro hallazgo sobre el efecto asociado al alelo ϵ 2 se repite en un trabajo publicado recientemente donde Collazo y colaboradores, en enero de 2012, encuentran el mismo o parecido efecto protector del alelo ϵ 2 sobre la interrupción de la gestación en pacientes con endometriosis (47).

La población de Venezuela como la de toda Latinoamérica, es producto de una gran mezcla de grupos étnicos, que se inició hace más de 500 años. En nuestro país, así como en el resto de América los estratos socioeconómicos se corresponden en cierto porcentaje con diferencias étnicas. El criterio de selección de las muestras está fuertemente afectado por estos hechos de genética de poblaciones, por lo que el origen de las muestras es muy importante a la hora de diseñar un estudio (48).

Debido a que en la presente investigación no se contaba con un grupo control “No prematuro” con la cual poder realizar las comparaciones de los hallazgos moleculares, se buscó en las bases de datos trabajos publicados relacionados con el gen APOE. Por lo que se encontró que hay pocos estudios publicados sobre la variabilidad del gen APOE en población venezolana, entre algunos de estos se encuentran: Estudio del Genotipo de la Apolipoproteína E (ApoE) en Escolares con Niveles Elevados de Colesterol y/o Triglicéridos Séricos de una Población Costera Venezolana (49), Genetic Variability of Apolipoprotein E in Different Populations from Venezuela (44); por lo que se decidió tomar de este último trabajo recientemente dado a conocer, una “población sana” para establecer comparaciones, asumiendo que pertenecen al mismo estrato socioeconómico en promedio, por cuanto que son usuarios del mismo hospital. Aun con todas las objeciones que se pueden hacer al respecto y asumiendo que nada garantiza que ninguno de los individuos del trabajo seleccionado hayan sido nacidos a término fue considerada como una población sana, presentando como hallazgo importante una diferencia significativa en el análisis de los alelos del gen APOE cuando se comparan con el grupo control y los pacientes.

En la presente investigación se consideraron estos hallazgos como resultado preliminar que debe ser corroborado, de hecho se inició el estudio de la distribución de las frecuencias de los alelos del gen APOE en una población de recién nacidos sanos a término del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario de Caracas que serán comparados con los obtenidos con el grupo de pacientes analizados.

Se puede concluir que no fue hallada asociación estadísticamente significativa entre ninguno de los alelos del gen humano APOE y la Enfermedad de Membrana Hialina. Sin embargo al parecer si existe una posible relación, por lo menos estadística, del alelo ϵ 2 del gen APOE con un menor riesgo a ser prematuro o con un efecto protector de nacer a término, sobre se

está desarrollando investigación a fin de corroborar o descartar la hipótesis propuesta.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Patología Molecular de la Cátedra de Anatomía Patológica y fue Financiado por el CDCH. UCV Proyecto N° PI 09-00-7068-2007.

Queremos agradecer a los Dres. Álvaro Rodríguez y Mercedes Fernández-Mestre de los laboratorios de Genética Humana y Fisiopatología del Centro de Medicina Experimental del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas IVIC su asesoría en el estudio estadístico de los resultados e invalorable recomendaciones en cuanto a la presentación de los mismos, igual reconocimiento le debemos a los editores de esta revista.

Referencias

1. Anuario de Mortalidad en Venezuela año 2008. Ministerio Popular Para la Salud (MPPS), Dirección General de Epidemiología. Mayo 2010.
2. Avery ME, Mead RJ. Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. *Am J Dis Child* 1959; 97:517-523.
3. Kugelman A, Durand M. A comprehensive approach to the prevention of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol* 2011;46(12):1153-1165.
4. Kumar P, Deorari A, Azad R, Chandra P, Agarwal R, Paul V. Risk factors for severe retinopathy of prematurity in preterm low birth weight neonates. *Indian J Pediatr* 2011;78(7):812-816.
5. Perenyi A, Katz JS, Sklar T, Flom P. Neurodevelopmental outcome and risk factors for impaired development of African American infants in an underserved urban population: a population-based study. *J Health Care Poor Underserved* 2011;22(3):983-994.
6. Sanchez R C, Torres T. Surfactante pulmonar. *Rev Pediatría Electrónica* 2004;1(1):718-728.
7. González Armengod C, Omaña Alonso MF. Síndrome de distrés respiratorio neonatal o Enfermedad de membrana hialina. *Bol Pediatría* 2006;46(1):160-165.
8. Griese M. Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: State of the art. *European Respir J* 1999;13:1455-1476.
9. Mallapalli RK, Salome RG, Bowen LS, Chappell DA. Very Low Density Lipoprotein Stimulate Surfactant Lipid Synthesis in Vitro. *J Clin Invest* 1997;99:2020-2029.
10. Ryan AJ, Medh JD, McCoy DM, Salome RG, Mallampalli RK. Maternal loading with very low-density lipoproteins stimulates fetal surfactant synthesis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;283:L310-L318.
11. Lomnitski L, Oron L, Sklan D, Michaelson DM. Distinct alterations in phospholipids metabolism in brains of apolipoprotein E deficient mice. *J Neurosci Res* 1999;58(4):586-592.
12. Li X, Kypreos K, Zanni V. Domains of apoE required for binding to apoE receptor 2 and to phospholipids: implications for the function of the brain. *Biochem.* 2003;42(35):1046-1047.
13. Han X. The role of apolipoprotein E in lipid metabolism in the central nervous system. *Cell Mol Life Sci* 2004;61(15):1896-1906.
14. Voyno-Yasenetskaya TA, Dobbs LG, Ericsson SK, Hamilton RL. Low Density Lipoprotein and High Density Lipoprotein-Mediated Signal Transduction and Exocytosis in Alveolar Type II Cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:4256-4260.
15. Mc Gowan SE, Doro MM, Jackson S. Expression of lipoprotein receptor and apolipoprotein E genes by perinatal rat lipid laden pulmonary fibroblasts. *Experiment Lung Res* 2001;27:47-63.
16. Hallman M, Ataja R. Genetic basis of respiratory distress syndrome. *Frot Biosci* 2007;12:2670-2682.
17. Andersen C, Ramsay JA, Noguee LM, Shah J, Pert SE, Paes B, Nowaczyk MJ. Recurrent familial neonatal deaths: hereditary surfactant protein B deficiency. *Am J Perinatol* 2000;17(4):219-224.
18. Siest G, Pillot T, Régis-Bailly A, Leninger-Muller B, Steinmetz J, Galteau MM, Visvikis S. Apolipoprotein E: An Important Gene and Protein to Follow in Laboratory Medicine. *Clin Chem* 1995;41(8):1068-1086.
19. Rall S. C. Jr., Weisgraber K. H. and Mahley R. W. Human Apolipoprotein E. The Complete Amino Acid Sequence. *J Biol Chem* 1982;257:4171-4178.
20. Mac Lean J. W., Fukazawa C. and Taylor J. M. (). Rat Apolipoprotein E mRNA. Cloning and Sequencing of Double-Stranded cDNA. *J Biol Chem* 1983;258: 8993-9000.
21. Mac Lean J. W. et al.. Human Apolipoprotein E mRNA. cDNA Cloning and Nucleotide Sequencing of a New Variant. *J Biol Chem* 1984;259:6498-6504.
22. Bin L., Morrow A. J. and Weisgraber K. H. Conformational Reorganization of the Four Helix Bundle of Human Apolipoprotein E in Binding to Phospholipid. *J Biol Chem* 2000;275:20775-20781.
23. Davignon J., Gregg R.E., and Sing C.F. Apolipoprotein E Polymorphism and Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1988;8:1-21
24. Aslanidis C. and Schmitz G. High-Speed Apolipoprotein E Genotyping and Apolipoprotein B3500 Mutation Detection Using Real-Time Fluorescence PCR and Melting Curves. *Clin Chem* 1999;45:1094-1095
25. Isasi C. R. et al. Apolipoprotein e2 Allele Is Associated

- With an Anti-atherogenic Lipoprotein Profile in Children: The Columbia University BioMarkers Study. *Pediatrics* 2000;106:568-575
26. Corbo RM and Sacchi R. Apolipoprotein E (APOE) Allele Distribution in the World. Is APOE*4 a Thrifty Allele? *Ann Hum Genet* 1999;63:301-310.
 27. Weggemans RM, Zock PL, Ordovas JM, et al. Apoprotein E Genotype and the Response of Serum Cholesterol to Dietary Fat, Cholesterol and Cafestol. *Atherosclerosis* 2001. 154: 547-555
 28. Sacchi R. Corbo R.M., Rickards O., Mantuano E. Apolipoprotein B and E Genetic Polymorphism in the Cayapa Indians of Ecuador. *Hum Biol* 1997;69:375-382.
 29. Aguilar C.A. Talavera G. Ordovas J.M. et al. The Apolipoprotein E4 Allele is not Associated with Abnormal Lipid Profile in a Native American Population Following its Traditional Lifestyle. *Atherosclerosis* 1999;142:409-414
 30. Fullerton S.M. Clark A.G., Weiss K.M., Nickerson D.A. Apolipoprotein E Variation at the Sequence Haplotype Level: Implications for the Origin and Maintenance of a Major Human Polymorphism. *Am. J Hum Genet* 2000;67:881-900.
 31. Hanlon C.S. and Rubinsztein D.C. Arginine Residues at Codons 112 and 158 in the Apolipoprotein Gene E Correspond to the Ancestral State in Humans. *Atherosclerosis* 1995;112:85-90.
 32. Neel J.V. Diabetes Mellitus: a "Thrifty" Genotype Rendered Detrimental by "Progress". *Am J Hum Genet* 1962;14:353-362.
 33. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E Polymorphism and Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1988;8:1-21.
 34. Welsh KI, Bunce M. Molecular Typing the MHC with PCR-SSP. *Rev Immunogenet* 1999;1:157-176.
 35. Mulligan CG, Bunce M, Fanning GC, Marshall SE, Welsh KL. A Rapid Method of Haplotyping HFE Mutations and Linkage Disequilibrium in a Caucasoid Population. *Gut* 1998;42:566-569.
 36. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A Simple Salting Out Procedure for Extracting DNA from Human Nucleated Cells. *Nucleic Acids Research* 1988;16:1215.
 37. Tsukamoto K, Watanabe T, Matsushima T, Kinoshita M, Kato H, Hashimoto Y, et al. Determination by PCR-RFLP of Apo E genotype in a Japanese Population. *J Lab Clin Med* 1993;121:598-602.
 38. Molero AE. Modulation by age and gender of risk for Alzheimer's disease and vascular dementia associated with the Apolipoprotein E- $\epsilon 4$ allele in Latinamericans: finding for the Maracaibo Agin Study. *Neuroscience Letters* 2001;307:5-8.
 39. De Franca E, Alves JG, Hutz MH. Apolipoprotein E Polimorphism and its Association with Serum Lipid Levels in Brazilian Children. *Hum Biol* 2004;76:267-275.
 40. Programa Estadístico EpiMAX. En línea: <http://www.healthstrategy.com>
 41. Wolf B. On estimating the relation between blood groups and disease. *Ann Hum Genet.* 1955;19:251-253
 42. Haldane J. The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frecuencies. *Ann Hum Genet* 1956;20:309-311.
 43. Glas A. Lijmer J. Prins M et al. The diagnostic odd ratio : a single indicator of test performance. *J Clin Epidemiol* 2003;56:1129-1135
 44. Fernández-Mestre MT, Yehirobi C, Montagnani S, Balbas O, Layrisse Z. Genetic Variability of Apolipoprotein E in Different Populations from Venezuela. *Dis Markers* 2005;21(1):15-19.
 45. Steffen KL, Cooper ME, Shi M, Caprau D, Simhan HN, Dagle JM, et al. Maternal and fetal variation in genes of colesterol metabolism associated with preterm delivery. *J Perinatal* 2007;27(11):672-680.
 46. Goodman C, Goodman CS, Hur J, Jeyendran RS, Coulman C. The Association of Apoprotein E polymorphisms with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2009;61(1):34-38.
 47. Collazo MS. Porrata-Doria T Flores I Acevedo SF. Apolipoprotein E polymorphisms and spontaneous pregnancy loss in patients whit endometriosis. 2012; *Mol Hum Reprod* 18(7):372-377.
 48. Martinez H, Rodríguez-Larralde A, Izaguirre MH, De Guerra DC. Admixture Estimates For Caracas, Venezuela, based on Autosomal, Y-chromosome, and mtDNA Markers. *Hum Biol* 2007;79(2):201-213.
 49. Marturet MR. Estudio del Genotipo de la Apolipoproteína E (ApoE) en Escolares con Niveles Elevados de Colesterol y/o Triglicéridos Séricos de una Población Costera Venezolana. Tesis de Grado, Licenciatura de Bioanálisis, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina UCV, 2001.

EPIGENÉTICA I: CONCEPTOS BÁSICOS PARA ENTENDER ESTE CAMPO DE MODA.

Ana Z. Fernandez

Human Epigenetics Lab. Baker Institute of Diabetes. Melbourne, Australia

Recibido para publicación 1 junio 2015. Aprobado para publicación 15 junio 2015.

RESUMEN:

Ya con más de medio siglo de su descripción inicial, la epigenética está cobrando auge en los últimos años gracias, en parte, al avance en las técnicas de secuenciación genética. Esta revisión presenta aspectos básicos para la comprensión y actualización en el área de la epigenética.

Palabras Clave: Epigenética, fenotipo, histonas, metilación del ADN, epigenoma.

EPIGENETIC I: BASICS CONCEPTS TO UNDERSTAND THIS FIELD OF FASHION.

SUMMARY

Already more than half a century since its earlier description, epigenetics is gaining momentum in recent years thanks in part to advances in genetic sequencing techniques. This review presents basics for understanding and updating in the field of epigenetics.

Key words: Epigenetics, phenotype, histone, epigenome, DNA methylation.

Imagine una célula hepática y un podocito. Las dos provienen del mismo ser vivo, digamos, un ser humano. Por supuesto tienen la misma secuencia genética, poseen núcleo y organelos, son alimentadas por el mismo flujo sanguíneo; sin embargo, sus fenotipos (sus características visibles) son completamente diferentes y distinguibles. ¿Qué las hace particulares tanto en morfología como en funcionalidad? La explicación para este fenómeno se encuentra en parte en la epigenética.

¿Qué es la epigenética?

Sin entrar en mucho detalle en los orígenes y la controversia alrededor de este término, la definición más actual y aceptada de epigenética comprende los cambios colectivos en el fenotipo que son heredables debido a procesos que surgen independientemente de la secuencia primaria del ADN (1). Ejemplos clásicos de este fenómeno lo vemos en las diferencias entre gemelos idénticos, en los cambios progresivos de la función de la cromatina durante el envejecimiento normal, y en la inactivación del cromosoma X en las hembras (2). En este sentido, los mecanismos epigenéticos abarcan las modificaciones de las bases nucleotídicas y de las proteínas asociadas al ADN dentro del núcleo, el remodelaje de la cromatina y los ARN no codificadores (1, 3).

Tenemos entonces que la expresión de los genes en

las células es regulada a dos niveles: una regulación lábil que comprende el control momento-a-momento de activadores y represores de la transcripción, y la regulación epigenética, que comprende el control de la expresión genética lo suficientemente estable para ser transmitido de células progenitoras a células hijas (4).

Estructura básica de la cromatina.

La cromatina, el polímero de ADN-nucleosoma, es una molécula dinámica existente en muchas configuraciones repartidas entre heterocromatina -cromatina fuertemente compactada e inactiva-, y eucromatina, la cromatina abierta transcripcionalmente activa [5]. La unidad básica de la cromatina o nucleosoma consiste en un octámero de proteínas que contiene dos moléculas de cada histona (H2A, H2B, H3 y H4), al cual se "enrolla" una cadena de aproximadamente 147 pares de bases de ADN (Fig.1). A su vez, los nucleosomas se pueden empacar de forma irregular y plegarse en estructuras de orden superior que se producen en diversas regiones del genoma dependiendo del tipo o de las etapas del ciclo celular.

En las células eucariotas, las principales funciones de las histonas son:

- 1) la protección y el empacamiento del material genético; y
- 2) el andamio para la regulación de procesos tales como la transcripción, la replicación y la reparación del ADN [6].

Solicitar copia a: Ana Fernández (e-mail: azitaf70@yahoo.com)

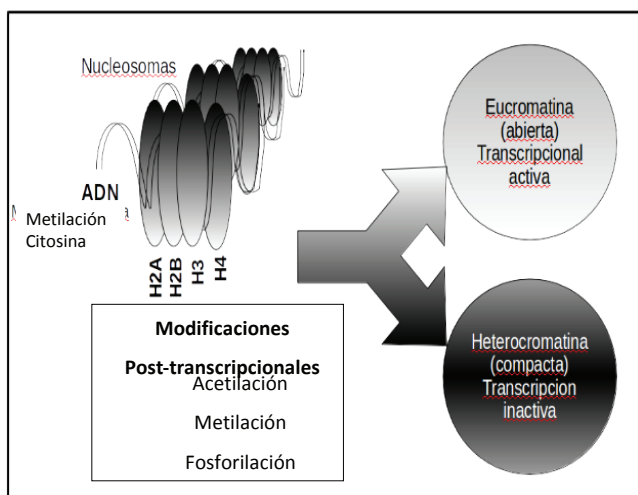


FIGURA 1. XXXXXXXX

La disposición de los nucleosomas puede ser alterada por modificaciones post-traduccionales de las histonas. Estas modificaciones se establecen como resultado de un proceso dinámico llevado a cabo por diferentes enzimas, cuyas actividades están reguladas por otros moduladores asociados. Aunque las enzimas implicadas en modificar a las histonas son específicas de la secuencia que rodea el residuo de aminoácido alterado, se sabe que pueden poseer sustratos fuera de las moléculas de histonas [7].

Modificaciones de las bases del ADN

El propio ADN puede experimentar modificaciones covalentes (p.ej., metilación) que no alteran el patrón de apareamiento de Watson-Crick (Citosina-Guanina, Adenina-Timina); en procariontes la metilación se puede dar en los residuos citosina y adenosina mientras en eucariotes la metilación solo se da en el residuo citosina; en particular, en los vertebrados la metilación de citosina de los dinucleótidos CpG (citosina-fosfato-guanina) conduce a la supresión de la expresión genética cuando se producen en una región reguladora [5]. Es así como la metilación del ADN en la región promotora puede controlar la transcripción de genes mediante el reclutamiento de las proteínas de unión a metilcitosina (MBP por sus siglas en inglés Methyl-Binding Protein) que reconocen secuencias de ADN metilado.

El control de la metilación y desmetilación se encuentra en balance en condiciones fisiológicas. Las metiltransferasas de ADN (DNMT, EC 2.1.1.37) catalizan la transferencia de grupos metilo a ADN a partir de S-adenosilmetionina (SAM) transformando

la citosina en 5-metilcitosina, mientras que el proceso de desmetilación está a cargo de la familia de proteínas TET (por Ten-Eleven Translocation).

Las DNMT se pueden agrupar en cuatro familias distintas basadas en la homología de secuencia dentro de sus dominios catalíticos C-terminal: familias DNMT1, DNMT2 y DNMT3 y la familia Cromometilasa, único en el reino de las plantas [8]. En los mamíferos, DNMT1 es la metiltransferasa de mantenimiento (durante la replicación del ADN en la división celular), que preferentemente metila ADN hemimetilado de doble cadena, mientras que DNMT3 se conoce como la metiltransferasa de novo (metila el ADN de doble cadena no metilado o hemimetilado). El genoma de mamíferos codifica dos metiltransferasas de citosina funcionales de la familia DNMT3, DNMT3A y DNMT3B, y un tercer homólogo, DNMT3L, que carece de actividad metiltransferasa citosina y funciona como un factor regulador en las células germinales. DNMT3A y DNMT3B se expresan en una variedad de tejidos adultos, pero en niveles inferiores a DNMT1 [8].

Las proteínas TET son responsables de la conversión de 5-metilcitosina en 5-hidroxi-metilcitosina, 5-formilcitosina y 5-carboxilcitosina a través de tres reacciones de oxidación consecutivas, para luego dar paso al reemplazo de la citosina modificada por citosina no modificada (9).

Los patrones de metilación de ADN pueden proporcionar información de muchos aspectos de la biología, pero también funcionan como biomarcadores en medicina (10). El patrón de metilación del ADN aparece alterado en una serie de patologías como por ejemplo el cáncer (9), la obesidad (11) y la preeclampsia [12], entre otras, así como en el envejecimiento [13]. En el caso del cáncer incluyen metilación de las islas CG en los promotores de genes supresores de tumores. También se ha visto que la Malnutrición in utero altera el patrón de metilación del ADN en células germinales que son subsecuentemente transmitidas y mantenidas en células somáticas, por lo tanto influenciando el riesgo de enfermedades en la descendencia (14,15).

Modificaciones post-traduccionales de la cromatina o el “Código de las histonas”.

La región amino terminal de las histonas puede ser modificada enzimáticamente por metilación de los residuos lisinas (Lys o K) o arginina (Arg o R), acetilación, biotilación, sumoilación o ubiquitinización de lisinas, fosforilación de serina (Ser) o treonina (Thr), entre otros (tabla 1).

TABLA 1. Modificaciones post-traduccionales identificadas en las histonas.

Histona	Residuo	Modificación	Función
H1	Lys26	Metilación	Silenciamiento transcripcional
	Ser27	Fosforilación	Descondensación de cromatina, activación transcripcional
H2A	Ser1	Fosforilación	Mitosis, ensamble de cromatina, represión transcripcional
	Lys4	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys5	Acetilación	Activación Transcripcional
	Lys7	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys9	Biotinilación	Desconocido
	Lys13	Biotinilación	
	Lys119 (mamíferos)	Ubiquitinación	Espermatogenesis
	Thr119 (D. melanogaster)	Fosforilación	Mitosis
	Ser122	Fosforilación	Reparación de ADN
	Lys126	Sumoilación	Represión transcripcional
	Ser129	Fosforilación	Reparación de ADN
	Ser139	Fosforilación	Reparación de ADN
	Lys5	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys6 o Lys7	Sumoilación	Represión transcripcional
	Ser10	Fosforilación	Apoptosis
	Lys11	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys12	Acetilación	Activación transcripcional
	Ser14	Fosforilación	Apoptosis
	Lys15	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys16	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys16/17	Sumoilación	Represión transcripcional
	Lys20	Acetilación	Activación transcripcional
	Ser33	Fosforilación	Activación transcripcional
	Lys120	Ubiquitinación	Meiosis
	Lys123	Ubiquitinación	Activación transcripcional
	Thr3	Fosforilación	Mitosis
	Lys4	Acetilación	Activación transcripcional
		Metilación (mono, di, tri)	Activación transcripcional
		Biotinilación	Expresión genética
	Arg8	Metilación	Represión transcripcional
	Lys9	Acetilación	Activación transcripcional
		Metilación (tri)	Represión transcripcional
		Biotinilación	Expresión genética
	Ser10	Fosforilación	Activación transcripcional
	Thr11	Fosforilación	Mitosis
	Lys14	Acetilación	Activación transcripcional
	Arg17	Metilación	Activación transcripcional
	Lys18	Acetilación	Reparación de ADN, activación transcripcional, replicación
		Biotinilación	Expresión genética
	Lys23	Acetilación	Reparación de ADN, activación transcripcional
	Lys27	Acetilación	Activación transcripcional
		Metilación	Silenciamiento transcripcional
	Ser28	Fosforilación	Mitosis
	Lys36	Metilación	Activación transcripcional
	Lys56	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys79	Metilación	Eucromatina, activación transcripcional, respuesta checkpoint
	Ser1	Fosforilación	Mitosis, ensamble de cromatina, reparación de ADN
H2B	Arg3	Metilación	Activación/represión transcripcional
	Lys5	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys8	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys12	Acetilación	Activación transcripcional
		Biotinilación	Respuesta dano al ADN
	Lys16	Acetilación	Activación transcripcional
	Lys20	Metilación	Silenciamiento transcripcional (mono), heterocromatina (tri)
	Lys59	Metilación	Silenciamiento transcripcional
	Lys91	Acetilación	Ensamble de cromatina
	Lisinas en cola N terminal	Sumoilación	Represión transcripcional

La acetilación de lisinas en las histona 3 (H3) y la histona 4 (H4) asociada con la transcripción activa es el resultado de la interacción entre las histonas acetilasas y desacetilasas. Las Histona acetiltransferasas (HAT; EC 2.3.1.48) catalizan la transferencia de un grupo acetilo del acetil-CoA a lisinas específicas en las histonas. Adicionalmente, coactivadores de la transcripción, como p300/CREB Proteína de Unión (PCAF), presentan actividad acetiltransferasa [16]. En contraparte, las histona desacetilasas (HDAC; EC 3.5.1.98) son las responsables de catalizar la eliminación de grupos acetilo de las histonas y se clasifican en clase I, II o III según los dominios de secuencias homólogas. La actividad de HDAC es inhibida por el butirato, tricostatina A (TSA) y ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA), con la lista de los inhibidores de HDAC en crecimiento debido al creciente interés por sus efectos en el área clínica como fármacos contra el cáncer, la inflamación, las enfermedades neurológicas y virales [17, 18].

La metilación de histonas es también una modificación epigenética dinámica gracias a la participación de Histona-lisina N-metiltransferasas (HMTasa, EC. 2.1.1.43) o protein-arginina metil-transferasas (PRMT, E.C.2.1.1.125) e Histona-desmetilasas (por ejemplo LSD, E.C. 1.14.11.B) [19, 20]. El residuo de lisina puede estar mono-, di- o trimetilado y, dependiendo de la posición en la cadena de histona, las lisinas metiladas se asocian con la activación de la transcripción o la supresión génica (20). Es así como H3K9me1, H3K27me1, H3K36me3, H3K79me2/3 y H2BK5me1 señalan genes transcripcionalmente activos, mientras H3K27m3 se consigue en promotores represados y H3K9me3 indica heterocromatina silenciada (20). El residuo de arginina en las histona puede ser monometilado o dimetilado, en este último caso dando lugar a dimetilarginina simétrica o asimétrica (21). Similar a lo encontrado con las metil-lisinas, la metilación de arginina en las histonas puede indicar tanto represión (H3R8) como activación (H3R17, H4R3) transcripcional (22).

La ubiquitinación se refiere a la adición de una o varias moléculas de ubiquitina (la ubiquitina es una proteína de 76 aminoácidos) al grupo epsilon amino de lisinas, modificando la función de la proteína (monoubiquitinación) o marcándola para su posterior degradación por el proteasoma 26S (23). Las histonas son mayormente monoubiquitinadas y esta ubiquitinación puede afectar a su vez a otras modificaciones de histonas, como metilación y acetilación (23).

A parte de su papel en la condensación cromosómica y la transcripción, la fosforilación de histonas, en particular la fosforilación de la variante H2AX, juega

un papel en la respuesta al daño y reparación de ADN (23).

La sumoilación consiste en la adición de SUMO (familia de proteínas similares a ubiquitina, por sus siglas en inglés (Small Ubiquitin-related MOdifier protein) a residuos lisina, particularmente en H4, lo cual conduce al reclutamiento de HDAC o HP1 y por ende a la represión transcripcional (24).

El ARN también participa en procesos epigenéticos.

Los ARN no codificadores (ARNnc) son ARN transcritos a partir del ADN pero que no son traducidos en proteínas. Muchos son funcionales y están involucrados en el proceso y regulación de otros ARN tales como ARNm, ARNt y ARNr. ARNnc tipo-procesador incluye ARN nuclear pequeño (ARNnp) involucrados en el empalme (splicing), ARN nucleolar pequeño (ARNnop) que modifica nucleótidos en ARNt y otros ARN. Otros ARNnc pequeños tales como micro-ARN (ARNmi) y ARN de interferencia corta (ARNic) están involucrados en la regulación de ARNm y cromatina. Además, están los ARNnc largos (>200nt). Todos estos ARNnc forman una red de procesos, la ARN-infraestructura, que se expande en la célula no solo espacialmente ya que el ARN se mueve por la célula, pero también temporalmente ya que el ARN regula procesos genéticos durante el ciclo celular (25).

Los ARNmi se derivan de transcritos que se pliegan sobre sí mismos para formar características estructuras de “gancho de pelo”, mientras que los otros tipos de ARN endógenos pequeños se derivan bien de “gancho de pelo” largos que dan lugar a una gran diversidad de pequeños ARN de interferencia como de moléculas dobles de ARN o de precursores sin ningún indicio de doble cadena (ARNpi) (26). Los ARNmi se aparean con ARNm lo que conduce a la represión de la transcripción.

Existe una intrincada conexión entre los ARNnc y los demás componentes del epigenoma, lo cual agrega nuevos retos y posibilidades terapéuticas, particularmente en oncología (27).

Perspectivas y desafíos para el laboratorio clínico.

El EPIGENOMA es esencialmente la interfase entre el genoma y el medio ambiente (9). La información presentada en las páginas que anteceden, es apenas un abrebocas de lo que representa la complejidad de los procesos epigenéticos hasta ahora reconocidos. La epigenética es un área aun naciente de menos de medio siglo que actualmente “de moda”. No obstante, el continuo avance de las investigaciones en el campo de la epigenética es clave para la identificación de

Clasificación de ARN no-codificadores (25)

ARNnc	Tamaño (nucleotidos)	Descripción
micro ARN	21-23	Regulación de ARNm blanco. Renovación y diferenciación de células madre.
ARN de interferencia corta	20-25	Asociados con transposones, retroelementos y ADN repetitivo. Guían metilación de regiones específicas de ADN. Degradación de ARNm.
ARN de interacción con PIWI (ARNpi)	27-30	Control de transposones ARN ligados a inactivación
del cromosoma X	24-42	Asegura que solo uno de los cromosomas X en hembras XX se exprese durante el desarrollo: Xist y Tsix.
ARNnc largo	>200	Regulación del cluster de genes Hox en insectos y vertebrados: HOTAIR ARN

“marcadores” epigenéticos que pudieran correlacionarse con algunas condiciones de salud/enfermedad.

En este sentido, los marcadores epigenéticos son nuevos marcadores biológicos que deben entrar en el arsenal de pruebas que el laboratorio clínico puede detectar y debe estar en la obligación de actualizar no solo su conocimiento sino en su aplicación. El laboratorio del futuro a mediano plazo tendrá a su disposición nuevas y mejores herramientas para estudiar el patrón de metilación de las células, la detección de ARNnc y el código de histona y así contribuir al diagnóstico y/o pronóstico de una enfermedad mucho antes de que aparezcan los primeros síntomas.

Referencias

1. Tollesbol TO. Epigenetics: The New Science of Genetics. En: Handbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics, Editor: T Tollesbol. Editorial Academic Press Elsevier. 2011.
2. Jiang Y-Z, Manduchi E, Jimenez JM, Davies PF. Endothelial Epigenetics in Biomechanical Stress. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 2015;35:00. DOI10.1161/ATVBAHA.115.303427.
3. Felsenfeld G. A brief History of Epigenetics. En: Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014;1;6(1). pii: a018200. doi: 10.1101/cshperspect.a018200.
4. Jiang Y-H, Bressler J, Beaudet AL. Epigenetics and Human Disease. *Ann Rev Genomics Hum Genet.* 2004;5:479-510.
5. Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D. Chapter three: Overview and Concepts. In: Epigenetics. Editors Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2009, pp 502
6. Shahbazian MD, Grunstein M. Functions of Site-Specific Histone Acetylation and Deacetylation. *Annu Rev Biochem* 2007;76:75-100.
7. Pradhan S, Chin HG, Pierre-Olivier Estève P-O, Jacobsen SE SET7/9 mediated methylation of non-histone proteins in mammalian cells. *Epigenetics* 2009;4:383-387.
8. Goll MG, Bestor TH Eukaryotic Cytosine Methyltransferases. *Annu Rev Biochem* 2005;74:481-514.
9. Kroeze LI, van der Reijden BA, Jansen JH. 5-Hydroxymethylcytosine: An epigenetic mark frequently deregulated in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1855:144-154.
10. Schubeler D. Function and information content of DNA methylation. *Nature* 2015; 517:321-326.
11. Xu X, Su S, Barnes V, De Miguel C, Pollock J, Ownby D, et al. A genome-wide methylation study on obesity. *Epigenetics* 2013;8(5):522-533
12. White W, Brost B, Sun Z, Rose C, Craici I, Wagner S, et al. Genome-wide methylation profiling demonstrates hypermethylation in maternal leukocyte DNA in preeclamptic compared to normotensive pregnancies, Hypertension in Pregnancy 2013;32(3):257-226
13. Madrigano J, Baccarelli A, Mittleman M, Sparrow D, Vokonas P, Tarantini L, et al. Aging and epigenetics: Longitudinal changes in gene-specific DNA methylation. *Epigenetics* 2012;7(1)63-70
14. Martinez D, Pentinat T, Ribo S, Daviaud C, Bloks VW, Cebria J, et al. In utero Undernutrition in Male Mice Programs liver lipid Metabolism in the Second-Generation Offspring Involving Altered Lxra DNA Methylation. *Cell Metab* 2014;19:941-951.

15. Radford EJ, Ito M, Shi H, Corish JA, Yamazawa K, Isganaitis E, et al. In utero undernourishment perturbs the adult sperm methylome and intergenerational metabolism. *Science* 2014;345(6198):1255903.
16. Chen W, Bacanamwo M, Harrison DG. Activation of p300 Histone acetyltransferase Activity Is an Early Endothelial Response to Laminar Shear Stress and is essential for Stimulation of Endothelial Nitric-oxide Synthase mRNA Transcription. *J Biol Chem* 2008;283:16293-16298.
17. Bieliauskas AV, Pflum MKH. Isoform-selective histone deacetylase inhibitors. *Chem Soc Rev* 2008;37:1402-1413.
18. Zwergel C, Valente S, Jacob C, Mai A. Emerging approaches for histone deacetylase inhibitor drug discovery. *Expert Opin Drug Discov* 2015;20:1-15.
19. Karytinis A., Forneris F, Profumo A., Ciossani G, Battaglioni E, Binda C, et al. A novel Mammalian Flavin-dependent Histone Demethylase. *J Biol Chem* 2009;284:17775-17782.
20. Varier, RA, Timmers HTM. Histone lysine methylation and demethylation pathways in cancer. *BBA* 2011;1815:75-89.
21. Herrmann F, Pably P, Eckerich C, Bedford M, Fackelmayer F. Human protein arginine methyltransferases in vivo- distinct properties of eight canonical members of the PRMT family. *J Cell Science* 2009;122:667-677.
22. Pal S, Vishwanath S N, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sif S. Human Swi/SNF-Associated PRMT5 Methylates Histone H3 Arginine 8 and Negatively Regulates Expression of ST7 and N23 Tumor Suppressor Genes. *Mol Cell Biol* 2004; 24:9630-9645.
23. Herceg Z, Murr R. Chapter 3 Mechanisms of Histone Modifications. En: *Hanbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics*, Editor: T. Tollefsbol. Editorial Academic Press Elsevier 2011.
24. Shiio Y, Eisenman RN. Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *PNAS* 2003;23:13225-13230.
25. Collins LJ, SchOnfeld B, Chen XS. The epigenetics of Non-coding RNA. En: *Hanbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics*, Editor: T. Tollefsbol. Editorial Academic Press Elsevier 2011.
26. Barte DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory Functions. *Cell* 2009;136:215-233.
27. Maia B, Rocha R, Calin G. Clinical significance of the interaction between non-coding RNAs and the epigenetics machinery. *Epigenetics* 2014;9(1):75-80.

INFORMACION PARA LOS AUTORES

Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, publica artículos originales, revisiones, cartas al editor y comunicaciones breves relacionadas con biología humana, bioanálisis y áreas afines, que contribuyan al avance de la investigación y difusión científica.

Envío del Trabajo

El autor debe enviar un original del artículo, con una carta de presentación firmada por todos los autores como constancia escrita que han contribuido en el diseño, ejecución, análisis e interpretación de los datos, redacción del artículo y, en la revisión crítica del contenido del artículo original a ser publicado. Debe dejar constancia que el trabajo no ha sido publicado ni enviado a otra revista. También indicar el orden de los autores y el autor de correspondencia con su dirección y correo electrónico. Los autores cuando presentan el manuscrito, deben revelar todas las entidades financieras y las relaciones personales que puedan haber influido en el trabajo, es decir deben declarar explícitamente si existen o no conflicto de intereses.

La revista utiliza en forma preferencial el sistema electrónico, por lo tanto debe acompañar el envío de un CD, en "Word for Windows", en cuya etiqueta se indique el nombre del autor principal.

Sistema de Arbitraje

Todos los artículos originales pasan por un proceso de arbitraje externo, realizado por tres árbitros con experticia en el tema específico. Las revisiones igualmente son evaluadas por especialistas. La decisión se tomará de acuerdo a la opinión de los árbitros aprobada por el Comité Editorial. La autoría del artículo y el arbitraje, son del dominio exclusivo del Comité Editorial. Los autores recibirán la opinión de los árbitros con las recomendaciones por parte del Comité en cuanto a modificaciones de forma y redacción. Las respuestas deben enviarse en un lapso prudencial, con una carta donde el autor señale las modificaciones realizadas y argumente aquellas que no considera adecuadas.

Normas Editoriales

Todas las partes del manuscrito deben estar escritas a doble espacio. Cada sección comenzará en página nueva, todas numeradas, con la siguiente secuencia: página del título, nombre completo de los autores (sin títulos profesionales), dirección de la(s) institución(es) donde fue realizado, y señalar con números consecutivos la que corresponde a cada autor.

Los artículos originales deben guardar la siguiente estructura:

Título en español e inglés (corto, no más de 15 palabras, 75 caracteres), Titulillo en español Resumen y Palabras Clave en español e inglés), Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias. Cuadros e Ilustraciones. Cada sección debe comenzar en hoja aparte, así como también los cuadros e Ilustraciones con sus respectivos pies o epígrafe.

Resumen debe establecer los objetivos del estudio, los procedimientos básicos (selección, métodos de observación y análisis) los hallazgos más importantes, proporcionar datos específicos y, significación estadística y las conclusiones principales sobre la base de los resultados del estudio.

No debe contener referencias ni siglas que no estén identificadas. El límite máximo son 250 palabras y no debe ser estructurado.

Al final del resumen deben estar 3 a 10 palabras clave, que incluyan descriptores en inglés, de la lista del "Medical Subject Headings (MeSH) y en español de la lista de "descriptores en Ciencias de la Salud" (DECS).

Introducción expresa el propósito del artículo, los antecedentes internacionales y nacionales, mediante referencias actualizadas. En el último párrafo de la introducción debe aparecer en forma clara y precisa el objetivo del estudio.

Metodología describa claramente como se eleccionaron los sujetos que participaron en el estudio, edad, sexo y otras características importantes. En los manuscritos de revisión se incluirá una sección en la que se describan los métodos utilizados para localizar, seleccionar o extraer los datos.

Los estudios con humanos deben dejar constancia escrita de la aprobación por parte del Comité de Ética de la institución donde se realizó la investigación, así como el consentimiento de los individuos que participaron y, evitar en todo momento que puedan ser identificados, tener especial cuidado con las fotografías. Cuando se trate de experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución acerca del cuidado y uso de animales en el laboratorio.

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que puedan verificarse los resultados. Defina los términos, las abreviaturas y los símbolos estadísticos. Cuando sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de medición de error o incertidumbre (como intervalos de confianza).

Resultados. Presente los resultados en el texto, cuadros, ilustraciones y figuras en una secuencia lógica. No repita en el texto la información que contienen los cuadros y figuras, sólo destaque lo más importante. Utilice en esta sección el tiempo pretérito.

Discusión. Destaque los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que se derivan de los resultados. Cuidese de no repetir la información ya presentada en las secciones anteriores. Relacione las observaciones con la de otros estudios internacionales y nacionales, incorporando en la discusión el análisis de las referencias bibliográficas actualizada relacionadas con el estudio. Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, y cierre la discusión con la conclusión más importante del estudio o con la propuesta de nuevas hipótesis, cuando estén justificadas.

Las Revisiones pueden ser solicitadas por el Editor preferentemente a especialistas sobre un tema de importancia científica en la actualidad, pero también se aceptan revisiones de autores, las cuales seguirán el proceso de arbitraje externo. En la revista también se publican reportes cortos de hallazgos de interés para el ámbito de la revista, así como casos clínicos cuya ocurrencia sea un verdadero hallazgo.

Las cartas al editor, por lo general están referidos a comentarios de artículos recientes publicados en la revista y su extensión no debe ser mayor a dos páginas.

Cuadros. Cada cuadro debe escribirse a doble espacio, sin líneas verticales ni horizontales internas y en hoja aparte. Numérelos consecutivamente con números arábigos y asigne un título breve en minúscula. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en el cuadro. Si incluye datos publicados o inéditos o de otra fuente, obtenga la autorización

para reproducirlos y conceda el reconocimiento al autor. No incluya más de 5 cuadros, máximo de 5 columnas y 8 filas.

Ilustraciones (Figuras) Las figuras deben estar dibujadas en forma profesional (archivos electrónicos de las figuras en formato JPEG o GIF). Se numeran en forma consecutiva con números arábigos. Las fotografías deben ser en blanco y negro, con buen contraste, en papel satinado con las siguientes medidas 127x173 mm, sin exceder 203x 254 mm. Ubicar una por página, título breve y una leyenda que facilite la comprensión del contenido.

Agradecimientos Aparecen al final del texto, allí se incluyen las colaboraciones que deben ser reconocidos pero que no justifican la autoría, ayuda técnica, apoyo financiero y material y las relaciones que puedan suscitar conflicto de intereses.

Referencias Las referencias bibliográficas dan el soporte científico al estudio realizado, por lo tanto deben ser recientes, preferiblemente de los últimos cinco años. Las referencias internacionales y nacionales constituyen antecedentes del estudio que se está publicando, de esta manera, también reconocemos la labor de los investigadores venezolanos que han aportado al tema en estudio. Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden como se mencionan por primera vez en el texto. Cite cuidadosamente en el texto, cuadros y figuras todas las referencias con un número entre paréntesis. Cuide que la escritura reproduzca fielmente el artículo original y vigile la escritura en inglés, para evitar cometer errores al transcribir la información.

Las referencias bibliográficas en Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, siguen el estilo de las normas de Vancouver. (<http://www.icmje.org>). Abrevie los títulos de las revistas de acuerdo con el estilo del Index Medicus y consulte la lista de revistas indizadas en (<http://www.nlm.nih.gov>). No se aceptan como referencias resúmenes. Los artículos aceptados pero que todavía no se han publicado, se indican como "en prensa", con la información de la revista donde fue aceptado.

Ejemplos de referencias:

Artículos de revista

Enumere los primeros seis autores y añada la expresión "et al"

1. Artículo de revista ordinario

Bremer AA, Byrd RS, Auinger P. Racial trends in sugar sweetened beverage consumption among US adolescents: 1988-2004. *Int J Adolesc Med Health* 2011; 23(3):279-86.

Libros

2. Individuos como autor:

Casademunt J. Sobrepeso y obesidad infantil. Barcelona: Editorial Océano; 2005.

3. Editores como autor:

Alemán M, Bernabeu-Mestre JB, editores. *Bioética y Nutrición*. Alicante. Universidad de Alicante: Editorial Agua Clara; 2010.

4. Capítulo de libro:

López de Blanco M, Landaeta-Jiménez M. Los estudios de crecimiento y desarrollo físico en Venezuela. En: Fano V, Del Pino M, Cano S, compiladores.

Ensayo sobre crecimiento y desarrollo presentado al Dr. Horacio Lejarraga por sus colegas y discípulos. Buenos Aires: Paidós; 2011. p. 431-454

Material electrónico

5. Artículo de revista en Internet:

Vázquez de la Torre MJ, Vázquez Castellanos JL, Crocker Sagastume R. Hipertensión arterial en niños escolares con sobrepeso y obesidad. *Respyn [Serie en Internet]* 2011 Jul-Sep [citada 5 nov 2011]; 12(3): [6 pantallas]. Se consigue en: URL: http://www.respyn.uanl.mx/xii/3/articulos/Hipertension_arterial.htm.

Para otros ejemplos de formato de referencias bibliográficas, los autores deberían consultar la página web: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html. Para cualquier otro tipo de información se sugiere consultar: Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication Updated April 2010. <http://www.icmje.org>.

Antes de enviar el artículo, revise cuidadosamente las instrucciones a los autores y verifique si el artículo cumple con los requisitos editoriales de la revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas.

Artículo de revisión:

El artículo de revisión facilita la actualización y revisión de un aspecto científico, realizado por especialistas en el tema: ofrece al lector interesado una información condensada sobre un tema, realiza interpretaciones y adelanta explicaciones en tópicos específicos relacionados al área del Bioanálisis.

El número máximo de autores es cuatro. El artículo requiere de, al menos, 40 referencias con prioridad de los últimos cinco (5) años. En caso de que esto no sea posible, deben especificarse las razones (tópicos muy poco frecuentes o muy poco investigados previamente). El texto deberá expresar con claridad las ideas a ser desarrolladas, y tratará de transmitir un mensaje útil para la comprensión del tema central del artículo de revisión.

Las secciones básicas del artículo de revisión son: página inicial, resumen, (en español y en inglés), introducción, texto, referencias bibliográficas. El cuerpo de las revisiones es libre, aunque es conveniente subdividirlo en secciones.

El autor o los autores de un artículo de revisión deben plasmar su interpretación crítica de los resultados de la revisión bibliográfica con claridad y precisión, y dejar siempre la inquietud sobre aquellos tópicos del tema que requieren una mayor o más profunda investigación. La extensión de los artículos de revisión no debe ser mayor de 6000 palabras, excluyendo las referencias.



Acta Científica

de la Sociedad Venezolana
de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 18 - No 1

2015

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 1

ORIGINAL ARTICLES:

Emergence of extensive-drug-resistant (XDR)

***Acinetobacter baumannii* in a Maracaibo's Hospital, Venezuela**

Liliana Gómez-Gamboá, Jessica Villasmil, Armino Perozo-Mena,

José Luis Bermúdez-González, Irene Zabala..... 2

Prevalence of intestinal parasites and haematological parameters changes in patients of three urban communities. Carabobo State.

Ericka Hernández, Arli Marlinet Guerrero De Abreu, María Triolo, Yasmin Tang..... 6

Gene polymorphisms of apolipoprotein-E associated with hyaline Membrane Disease of the Neonate.

Pedro Michelli, Rosa Ciaccia, Horbelys Guzmán, Marwan Aguilar, Jesuelith Carrillo,

Mariom Di Mauro , María Fátima Garcés, Joseba Celaya..... 14

REVIEW ARTICLE:

Epigenetic I: basics concepts to understand this field of fashion.

Ana Z. Fernandez 23

INFORMATION FOR AUTHORS..... 29

Diseño y diagramación: Ana María Reyes, digivi@gmail.com

Impresión: Operagráfica Publicidad, c.a. , operapublicidad@gmail.com

Soporte Web: Nexus Radical, Altamar Pérez, aperez@estudiopro.com