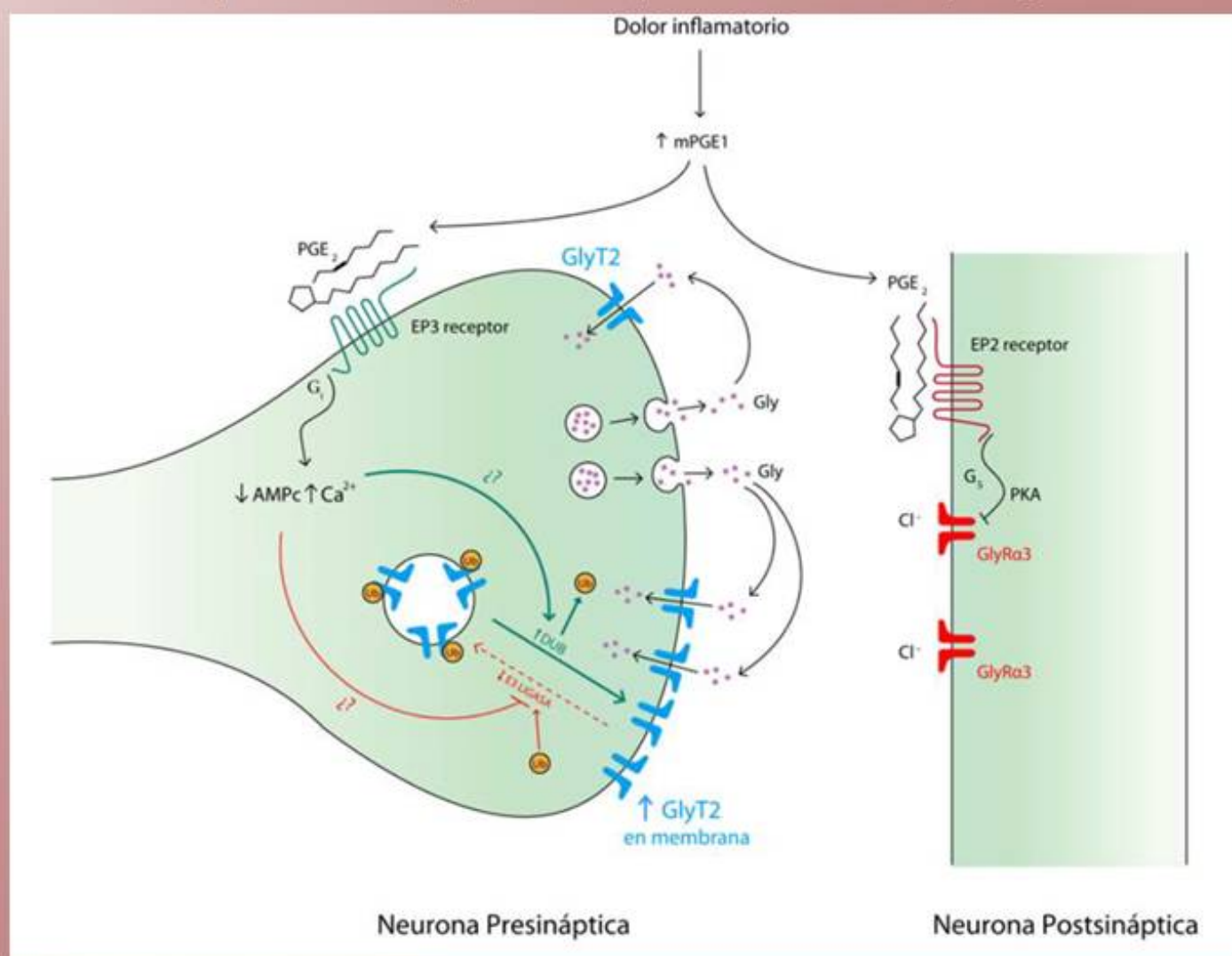


ANALES DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

Volumen 79 | Número 3 | Julio-Septiembre 2013 | Páginas 411-514



www.analesranf.com

ISSN 1697-4271



REAL ACADEMIA
NACIONAL DE
FARMACIA



Instituto
De España



Ministerio de
Educación Cultura
y Deporte

Riesgos sanitarios de la contaminación de suelos

Francisco Díaz-Fierros Vigueira

Catedrático Emérito de la Universidad de Santiago de Compostela Farmacia.
e-mail: francisco.diaz-fierros@usc.es

Recibido el 14 de septiembre de 2013. An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 3 (2013), pag. 388-411

RESUMEN

Se plantea el origen histórico de la contaminación de suelos, así como los conceptos fundamentales implicados en ella. Se formula la importante relación establecida entre las gestión de los suelos contaminados y los métodos de evaluación de riesgos sanitarios. Se presentan los aspectos fundamentales de la evaluación de riesgos de los suelos contaminados a partir de las etapas de identificación y caracterización del peligro para la salud. Se expone la importancia de los estudios de carácter edafológico en los procesos de retención, transformación y transporte de contaminantes en el suelo y se evalúan los distintos aspectos relativos a la exposición de los receptores humanos a los contaminantes. Se presentan los métodos de caracterizar los riesgos, así como la importancia actual de modelos de gestión como los RBCA. Finalmente, se plantean los nuevos objetivos que se presentan para la evaluación de riesgos.

Palabras clave: Suelos contaminados; Riesgos sanitarios; Evaluación de riesgos.

ABSTRACT

Health risks of pollution of soils

The historical origin of soil pollution and the main concepts involved in it are considered. The outstanding relationship between the management of contaminated soils and the assessment methods of health risks is proposed. The main aspects of the assessment of polluted soil risks are presented taking into account the periods of identification and description of health risks. The relevance of soil studies in the processes of retention, transformation of soil pollutants is showed and the different aspects of human exposed to pollutants are assessed. The methods to describe risks, as well as the present relevance of management methods such as the RBCA are introduced. Finally, new challenges for risk assessment are proposed.

Keywords: Contaminated soils; Health risks; risks assessment.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la “Salud Ambiental” (1993) comprende “aquellos aspectos de la salud humana, incluida la calidad de vida, que son determinados por las condiciones físicas, biológicas, sociales y psicológicas del medio ambiente” (Basset, 1999). En consonancia con esta definición, el “Hombre Sano” que es el objetivo de todas las ciencias sanitarias, incluida la farmacéutica, sería aquel que goza de un equilibrio interior (fisiológico y psicológico) y vive en un ambiente sin agresiones (físicas, químicas, biológicas y sociales)

Como factores fundamentales del medio físico que determinan en última instancia las características de esta rama importante de la sanidad, se considerarían la atmósfera, el agua y el suelo. Todos ellos juegan un papel esencial y diferenciado en la recepción, acumulación, atenuación y trasmisión de las sustancias contaminantes hacia el ser humano. Sin embargo, la percepción por la sociedad de su influencia sobre la salud humana tuvo una historia muy diferente, siendo el suelo el último componente del medio físico que fue aceptado como problema ambiental (Petts et al., 1997). Anteriormente, el agua había sido considerada como un problema importante para la salud humana, a finales del siglo XIX, cuando fue demostrada la transmisión hídrica de muchos microorganismos patógenos (cólera, tifus, etc.) (Grosclaude, 1999, Díaz-Fierros, 2010). Después de la Segunda Guerra Mundial, los estudios epidemiológicos que ponían en evidencia la relación entre las enfermedades respiratorias y la contaminación de las atmósferas urbanas (Mc Dermott, 1961) dieron origen a las primeras medidas reguladoras de carácter medio ambiental sobre el aire. Y sería ya en los comienzos de los ochenta, al producirse el desmantelamiento de la industria pesada que tuvo lugar en muchos países avanzados, cuando se descubrió la existencia de amplias superficies de suelos contaminados con productos de probada toxicidad (Petts et al., 1997).

Otros factores que habrían influido en la falta de sensibilidad de la sociedad frente a la contaminación de suelos y que retrasaron las medidas de su evaluación y control, pudieron estar relacionados con alguna de las características propias de la contaminación del medio edáfico. Salvo casos excepcionales (p. ej. la población infantil) no existe una exposición directa del ser humano a los suelos contaminados, las relaciones causa-efecto no son tan evidentes y se aceptaba que el suelo era un medio con una capacidad casi ilimitada para almacenar y retener sustancias contaminantes sin efectos nocivos (Douben, 1998, IGME, 2005).

De todas formas, el interés creciente que se desarrolló sobre los suelos contaminados multiplicó en los últimos años los métodos de identificación y estudio, así como las medidas legislativas de control correspondientes. En Europa,

aunque no hay todavía una cuantificación rigurosa, se estima que existen más de un millón de suelos/terrenos contaminados (Prokop et al., 2000).

El riesgo sanitario ambiental, definido como la probabilidad de que se produzca algún daño sobre la salud humana o animal como consecuencia de la acción de productos emitidos al medio ambiente, comenzó a identificarse como problema importante para las sociedades avanzadas a partir del año 1972 en el que tuvo lugar la Cumbre de Estocolmo, “Una sola Tierra”, convocada por el PNUMA (Díaz-Fierros, 2000). Con esas fechas, la OMS puso en marcha su programa EHC (Environmental Health Criteria) para “evaluar la información sobre las relaciones entre la exposición a contaminantes ambientales y la salud humana”. Al mismo tiempo la National Academy of Engineering y la National Academy of Sciences de USA organiza en 1972 la primera conferencia sobre análisis de riesgos que dio origen a una serie de informes que culminaron con la publicación *Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process* (1983), importante documento que definió por primera vez las cuatro etapas de la evaluación de riesgos: identificación del peligro, caracterización del peligro, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo.

Otras etapas importantes de este proceso fueron la publicación por la CAC (Codex Alimentarius Comisión, 1999) de la metodología adecuada para la evaluación de los riesgos sanitarios de carácter microbiológico. Finalmente, la evaluación del riesgo ecológico (efectos sobre la biota) fue desarrollada fundamentalmente por la Environmental Protection Agency (EPA) de USA con varios documentos (*Framework for Ecological Risk Assessment*, 1992 y *Proposed Guide for Ecological Risk Assessment*, 1996) y la Society of Environment Toxicology and Chemistry (SETAC) a través de varios grupos de trabajo que en 1997 dieron lugar a un importante documento de síntesis (*Ecological Risk Assessment*).

La preocupación por los suelos contaminados y su influencia sobre la salud pública se vincula a una serie de incidentes ocurridos en torno a los años ochenta. El primero de ellos, el del Love Canal (USA), ocurrió cuando durante un episodio de fuertes lluvias, en 1977-78, se puso de manifiesto el elevado grado de contaminación de las aguas subterráneas de un barrio marginal de Niagara Falls construido sobre un antiguo vertedero de residuos. La evidencia de problemas sanitarios en la población originó un estado de emergencia y una toma de conciencia de las autoridades sobre esta problemática que dio origen a la Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act 1980 (CERCLA) conocida popularmente como legislación “Superfund”. Su prórroga en 1986 y 1995 dio origen a toda una larga serie de medidas de identificación y tratamiento de suelos contaminados que, prácticamente, sirvió para situar en la agenda de la política ambiental de todos los países esta problemática. En Europa pueden citarse los incidentes de Lekkerkerk (Holanda) de una urbanización

construida también sobre un vertedero y cuya población tuvo que ser evacuada en 1980 y el de Loscoe (UK) donde, en 1986, una explosión de gas metano, que ocasionó varios muertos, fue atribuida a las emisiones de un vertedero. Como consecuencia de estos incidentes y los estudios e investigaciones que se pusieron en marcha a continuación, la mayor parte de los países europeos realizaron sus particulares inventarios de suelos contaminados, así como la propia UE, y a lo largo de la década de los noventa fueron adaptando sus legislaciones para incluir en ellas la problemática de los suelos contaminados.

En España la Ley Básica de Residuos (1998) destina un epígrafe íntegro, el Título V, a la gestión de los suelos contaminados, que recae básicamente sobre las Comunidades Autónomas. Posteriormente se desarrolla un RD (9/2005) sobre la definición y estándares para la declaración de suelos contaminados y, en el 2011, se redacta una nueva Ley de “Residuos y Suelos Contaminados”, que deroga la de 1998. De las comunidades autónomas fue el País Vasco la primera que desarrolló una legislación sobre suelos contaminados que recogía como técnica fundamental de evaluación la relativa a los riesgos sanitarios y ecológicos (IHOBE, 1998). En la actualidad, la mayoría de las comunidades autónomas, en alguna medida, tienen normas de actuación sobre los suelos contaminados (CONAMA, 2010).

La legislación americana de los Superfund que sirvió, en general, como referencia para los desarrollos legislativos de los diferentes países, consideró desde el primer momento la necesidad de realizar “evaluaciones de riesgo” (ER) para la caracterización de los terrenos contaminados. Por una parte, existía la necesidad de priorizar las costosas medidas de restauración y recuperación de suelos contaminados con medidas de evaluación rigurosas y, por otra, estaban ya muy desarrolladas y acreditadas las medidas de evaluación de riesgos, por lo que fueron estas las que, en general, se adoptaron como criterio fundamental para la gestión de esta problemática. De ahí que el estudio y la gestión de los suelos contaminados se haya desarrollado, prácticamente desde sus comienzos, ligada a la aplicación a los mismos de los nuevos métodos de evaluación de riesgos sanitarios y ecológicos.

En este trabajo de revisión se presentarán los avances actuales y las perspectivas de futuro en los procesos de evaluación de riesgos sanitarios de los suelos contaminados, cuestión indudablemente ligada a las materias propias de la sanidad ambiental, que lo son, a su vez, de las ciencias farmacéuticas.

CONCEPTOS FUNDAMENTALES

“Suelo contaminado” es aquel que presenta sustancias peligrosas en una cantidad o concentración superiores a las que se dan habitualmente en el suelo (Smith, 1985, Fisk, 1990, Bridges, 1991). Y una sustancia peligrosa desde el punto

de vista sanitario es aquella que potencialmente puede producir un efecto negativo, o daño, sobre la salud humana. Esa potencialidad normalmente se evalúa como la probabilidad de producir ese efecto dañino por lo que, en última instancia, será siempre considerado como un proceso estocástico.

Identificado el peligro, derivado de la presencia de sustancias contaminantes del suelo, es fundamental para obtener una correcta evaluación del daño, el considerar las características de los seres humanos receptores, que pueden ser más o menos sensibles a él, p. ej. según la edad o el tipo de actividad. Por otra parte, en la importancia del daño causado, influye también el grado de exposición a la sustancia contaminante, que a su vez es dependiente del medio por el que se pone en contacto con el receptor y del camino que haya seguido desde el suelo.

El riesgo, en definitiva, sería la probabilidad de que una determinada sustancia contaminante del suelo llegara a ponerse en contacto un cierto tiempo con un receptor humano después de haber recorrido una ruta en particular. Sospechada la existencia de un riesgo, los diferentes métodos de evaluación del mismo se descomponen en una serie de etapas desarrolladas en cadena. De acuerdo con la Directiva que primero tuvo en cuenta esta metodología para la Unión Europea (UE 2000) estas etapas serían:

- 1) Identificación del peligro.
- 2) Caracterización del peligro.
- 3) Evaluación de la exposición.
- 4) Caracterización del riesgo.

1. Identificación del peligro

Esta etapa inicial que, en la normativa USA derivada de las acciones Superfund se denominaría como la de “Definición del problema”, supondría una serie de actividades encaminadas a identificar, en primer lugar, los factores causantes del posible daño sobre la salud humana, que podrían ser de tipo químico (p. ej. un determinado componente tóxico), físico (p. ej. una radiación ionizante) o biológico (p. ej. un microorganismo patógeno). A continuación se trataría de localizar la fuente generadora del problema que dependería normalmente de un determinado tipo de actividad. Un listado de las actividades contaminantes del suelo más importantes se recoge en la Tabla 1. En muchos casos, la existencia de una actividad particularmente contaminante, en virtud del principio de precaución, puede ser el primer paso en la identificación del peligro, aún antes de que pudiera ser demostrada su incidencia sobre el ser humano.

Tabla 1.- Sectores de actividad industrial y/o comercial y posible contaminación puntual de suelos relacionada (Díaz-Fierros, 1992)

ACTIVIDAD INDUSTRIAL Y/O COMERCIAL	POSIBLE CONTAMINACIÓN
Industria de batería y pilas	Metales pesados (Cd, Pb, Cr, Ni, Hg)
Minería	Cd, Pb, Cr, Cu, Zn, As, Ni, Se, CN-
Industria del vidrio	F, Pb
Industrias gráficas e impresión	Hidrocarburos clorados y aromáticos, Mg, As
Pinturas, barnices y tintas	Hidrocarburos, (Pb, Cd, Ba, Cr) Alcoholes
Industria maderera	Hidroc. aromáticos, fenoles, metales pesados
Industria protección de la madera	Hidrocarburos, metales (Cu, Cr, As)
Industria textil	Hidroc., pesticidas, metales, ácidos/álcalis, etc.
Lavanderías químicas	Hidrocarburos
Industria insecticida	Hidrocarburos, fenoles, Hg, Ti, As
Empresas de gas	Hidrocarburos aromáticos y policíclicos, CN-
Industria petroquímica	Hidr. arom. y polic., Alifáticos, Pb, Zn, Cu, Ni, Cd
Refinerías	Hidrocarburos, ácidos/álcalis, asbesto
Industria metalúrgica/galvánica	Hidroc. aromáticos, metales pesados, CN-
Metales férricos y acerías	Metales, ácidos, disolventes, hidroc. lodos
Talleres	Hidrocarburos, ácidos, Pb
Curtidos y tenerías	Hidroc., ácidos, metales, disolv., colorantes
Plásticos	Hidroc., metales, CN-, aminas, monómeros
Goma y caucho	Hidroc., metales, ácidos, comp.S, monómeros
Industria de transformación	Hidroc., metales, Sb, ácidos
Astilleros e Industria Naval	Hidroc., fenoles, metales, disolventes
Microelectrónica	Hidroc., metales, ácidos
Papeleras	Materia orgánica, Hg, deriv. S
Tabacos	Cd
Industria vinícola	CN-, fenoles
Vertederos controlados de RSU	Compuestos orgánicos, metales
Laboratorios fotográficos y de film	Compuestos orgánicos, Ag

Las actividades contaminadoras pueden subdividirse en “difusas” y “puntuales”. Dentro de las primeras son de especial importancia las que se transmiten por el aire y llegan al suelo por deposición “seca” en forma de partículas o aerosoles o por deposición “húmeda” mediante precipitaciones: son de destacar, por su extensión y su carácter transnacional, las “lluvias ácidas”, provocadas en general por la contaminación industrial y las “lluvias radiactivas”, por los accidentes nucleares. Otro tipo de contaminación difusa de suelos es la derivada de las prácticas agrarias (fertilizantes, plaguicidas, productos farmacéuticos veterinarios, etc.) y los asentamientos poblacionales dispersos. En el caso de las contaminaciones puntuales o localizadas, donde normalmente se alcanzan concentraciones mayores de los contaminantes, se tendrían antiguas localizaciones industriales, vertederos de todo tipo (municipales, mineros, etc.) y será a ellas a las que se dedicarán fundamentalmente los procesos de ER.

La contaminación difusa del suelo, aunque puede ser también susceptible de evaluaciones de riesgo, utiliza otro tipo de medidas de gestión que se centran más en controles sobre la “fuente” de los contaminantes que en actuaciones sobre el punto de acumulación sobre el suelo, como ocurre con los casos de contaminación puntual o localizada. En estos casos, la ER actúa como una guía fundamental para detectar el riesgo y decidir el alcance de las medidas de corrección. A este tipo de contaminación será a la que se dedicará esta revisión.

La investigación del suelo problema y, sobre todo, de las diferentes vías por las que puede emigrar el contaminante (Figura 1) sería otro de los objetivos de esta etapa. En ella habría que considerar también los posibles procesos de interacción del contaminante con el suelo o con los diferentes medios que realizan su transporte hacia el receptor, con todo lo cual se elaboraría un modelo conceptual que daría cuenta de los cambios y evolución del contaminante antes de ponerse en contacto con el ser humano. En este modelo se tendría en cuenta también las características de la exposición y sus repercusiones sobre la salud humana.

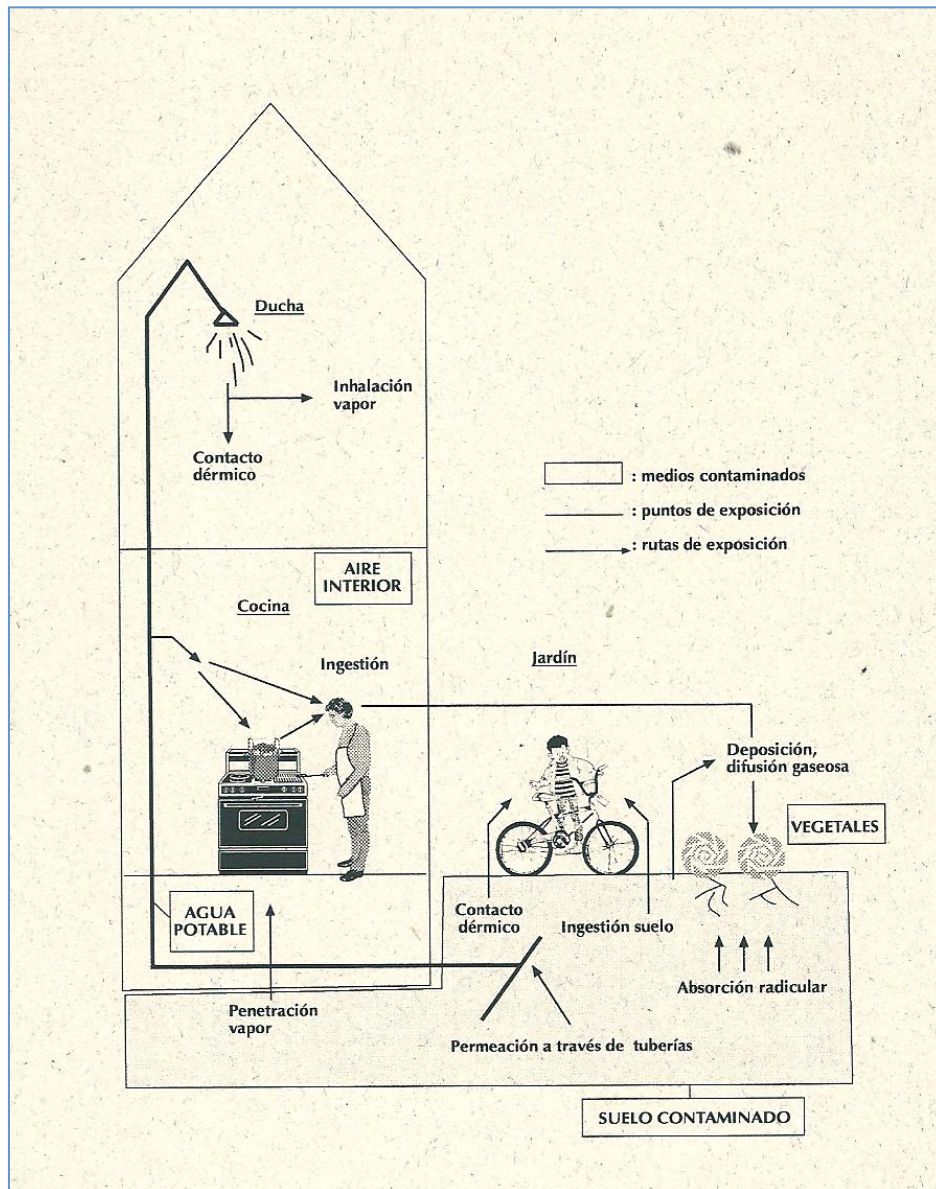


Figura 1.- Lugares de exposición y rutas posibles para los contaminantes de un suelo (IHOBE, 1998)

2. Caracterización del peligro

Es un proceso claramente ligado a la toxicología pues, en definitiva, trata de definir las relaciones dosis-respuesta del contaminante en cuestión. Tradicionalmente se consideran dos tipos de procesos: el de aquellas sustancias que tienen un tramo donde las dosis no originan respuesta toxicológica (las denominadas de tipo NOAEL) y el de aquellas que se supone que actúan negativamente sobre el organismo desde la presencia de las primeras moléculas del contaminante, como sería el caso de las sustancias cancerígenas con respuesta genotóxica. Otro caso serían los microorganismos, cuyos procesos dosis-respuesta tienen una especial complejidad, dando origen a numerosos modelos (exponencial, poisson-beta, con umbral sin respuesta, etc. – Haas, Rose, Gerba,

1999 -), por lo que su aplicación al ER precisaría todavía un mayor número de estudios y datos para obtener resultados útiles para la gestión de los riesgos.

En el caso de las sustancias NOAEL la dosis diaria de referencia DdR (nivel de entrada diaria en el organismo que no produce un daño apreciable en poblaciones humanas) es el índice más utilizado en los estudios de ER, existiendo diferentes bases de datos en el mundo que pueden aportar esta información. En general, en estos índices se tiene en cuenta el tiempo de exposición, existiendo DdR crónicas (DrRc) calculadas para períodos mayores de los 7 años (10% de la esperanza de vida), subcrónicas (DrRc) para períodos entre dos semanas y siete años e incluso para períodos menores, índices HA1 y AH10 – Peña, Carter, Ayala-Fierro, 2001). Para sustancias sin umbral de respuesta, como es el caso de los cancerígenos, existen dos tipos de índices: el peso de la evidencia según estén clasificados por la EPA como A (cancerígeno para humanos), B (probable cancerígeno humano), C (posible cancerígeno humano), D y E (no hay evidencia de que sea cancerígeno humano), y el factor de pendiente correspondiente a la curva dosis-respuesta genotóxica que relaciona la probabilidad de que se produzca cáncer y la dosis aplicada. Se admite, en general, como incremento de la probabilidad admisible la inferior a un caso de cáncer por cada 105 individuos, aun cuando, últimamente, para determinadas sustancias y circunstancias, tiende a emplearse el nivel más exigente de 106.

3. Evaluación de la exposición

En esta etapa se tienen en cuenta las diferentes interacciones de las sustancias contaminantes con el suelo y/o con los diferentes medios que pueden ser agentes de su transporte hacia los receptores. Es un campo de estudio propio de edafólogos, geólogos, hidrólogos, etc.

Cuando un producto contaminante llega al suelo, lo primero que hay que tener en cuenta es ese concepto tan clásico de la Edafología que considera al suelo como un “sistema disperso” trifásico: es decir, un medio compuesto por una fase sólida rígida, o matriz, que define a su vez un espacio donde se pueden desplazar las fases fluidas del aire y del agua (Díaz-Fierros, 2011). Con relación a esas tres fases se produce un proceso inicial de “reparto” del contaminante entre ellas, determinado tanto por las propiedades del producto contaminante como de las fases correspondientes. Las cantidades del contaminante que se localizarían en cada una de las fases pueden calcularse fácilmente, si se asume que hay un equilibrio entre ellas, a partir de los coeficientes de reparto octanol-agua Kow, el producto de solubilidad y la constante de Henry H, relativa a los procesos de difusión en el aire. De una forma sencilla, podría señalarse que los compuestos que tienen una presión de vapor o una constante de Henry altas (p. ej. benceno) tienden a concentrarse en el aire, mientras que en al agua lo hacen los muy

solubles y con valores de Kow relativamente bajos (p. ej. fenol) y en el suelo los que presentan Kow altos (p. ej. DDT).

El concepto de “fugacidad” introducido por Lewis, GN en 1901 y aplicado por Mackay, D. (2001) a la difusión de contaminantes en el medio ambiente es otra alternativa utilizada ampliamente en la actualidad para la modelización de estos procesos de reparto (<http://www.trentu.ca/cemec/models/models.html>). La fugacidad, que significa la tendencia a emigrar desde una determinada fase, tiene unidades de presión y puede ser considerada como la presión parcial que un determinado producto químico ejerce para desplazarse de una fase a otra. En muchos aspectos, la fugacidad juega el mismo papel que la temperatura para describir, en condiciones de equilibrio térmico entre las fases, la dirección del flujo de calor (CEMN, 2005).

El proceso de reparto puede dar origen a un equilibrio estacionario (modelos de evolución de los contaminantes de nivel I, II y III – CEMN, 2005) o puede variar con el tiempo, nivel IV. En cualquier caso, es el punto de partida de otro conjunto de procesos que afectan: a) a su transformación mediante una serie de reacciones y b) al transporte de estos productos o de sus diferentes subproductos de degradación.

Procesos de transformación.

Consisten en una serie de reacciones (hidrolíticas, oxidativas, biodegradativas, etc.) que alteran las características químicas del producto contaminante. En muchos casos, estos procesos reducen su actividad tóxica, por lo que estos mecanismos pueden considerarse como atenuadores o depuradores de la contaminación del suelo. De todas formas, existen muchas evidencias (todavía no suficientemente bien estudiadas) de que en la cadena degradativa de muchos productos pueden aparecer subproductos con actividades tóxicas similares o incluso superiores a la del término inicial (Eijsackers,H y Doelman,P. 1987).

Retención en el suelo

Para que los mecanismos degradativos, en las diferentes fases del suelo, actúen con una cierta eficiencia se necesita que exista un tiempo mínimo de contacto entre el producto y la fase en cuestión, por lo que el tiempo de retención del contaminante en el suelo es un proceso complejo que debe ser considerado previamente para comprender adecuadamente los procesos de transformación. Estos mecanismos de retención de los productos contaminantes al suelo pueden interferir con los mecanismos de transporte y así, p. ej., la vaporización o disolución en agua puede verse disminuida si la retención es muy intensa o irreversible. De una forma aproximada los coeficientes de reparto suelo-agua y suelo-aire pueden dar cuenta de la importancia de estos procesos.

Dentro de la complejidad de los procesos de retención de contaminantes se podría establecer una división según su constitución, en a) inorgánicos, b) orgánicos y c) particulados. En relación con los materiales inorgánicos, los de carácter catiónico tienen una especial afinidad por el suelo debido a la carga negativa predominante en las superficies activas del suelo. De todas formas se podrían establecer diferencias con las uniones de los cationes al suelo, según sean “fácilmente intercambiables” con las superficies activas del suelo, “complejados” con la materia orgánica y “ocuidos” o “coprecipitados” con óxidos metálicos, carbonatos, fosfatos, etc. Los materiales inorgánicos aniónicos se unen con mayor dificultad al suelo. Solo en los casos donde este puede llegar a desarrollar en sus superficies activas cargas positivas (presencia de óxidos de hierro a bajos pH, etc.) o se pueden establecer “puentes catiónicos”, estas uniones pueden llegar a tener cierta importancia.

En el caso de los materiales orgánicos de elevado peso molecular, las uniones que se establecen con el suelo pueden ser de índole muy variada (fuerzas London-Van der Waals, electrostáticas, enlaces de hidrógeno, enlaces coordinados, etc.) y alcanzar intensidades de muy diversa magnitud.

En el caso de los materiales particulados son de gran interés los mecanismos de retención que afectan a bacterias y virus. Para las primeras, habría que tener en cuenta, en primer lugar, como consecuencia de su mayor tamaño, la retención mecánica por el espacio poroso del suelo. Por otra parte, existe la posibilidad de que se produzcan uniones de tipo electrostático dependiendo de la carga de la membrana celular que, a su vez, por su carácter afótero estaría regulada por el pH del suelo. De todas formas cualquier tipo de unión que puede tener lugar con las moléculas orgánicas (Van der Waals, puentes de H, puentes catiónicos, etc.) puede ser posible, dando origen a lo que Marshall, K.S. (1980) define como uniones “reversibles”, puesto que se destruyen con relativa facilidad. Frente a ellas estarían las “permanentes” donde una serie de sustancias, como polímeros orgánicos y otras sustancias coloidales, “anclarían” firmemente la célula al suelo.

En el caso de los virus las interacciones físico-químicas con la matriz edáfica tendrían especial relevancia en los procesos de retención, pues, como consecuencia de su menor tamaño (de 0,5 a 0,02 micras), la retención mecánica tendría mucha menos importancia. El cápsido proteico de los virus se comporta como un coloide afotérico (Bitton, G. 1980) con cargas dependientes del pH, de tal forma que un incremento del pH tiende a incrementar el comportamiento aniónico de los virus, lo que conllevaría una menor retención por las superficies activas del suelo. Por otra parte, la presencia de cationes en la solución del suelo tiende a incrementar la retención, mientras que la materia orgánica disuelta tiene el efecto contrario.

Reactividad en los ambientes edáficos

Los procesos de transformación de los productos contaminantes van a tener diferentes características e intensidades de acuerdo con su localización en los diferentes ambientes edáficos:

- a) Superficie del suelo. En ella lo característico y diferencial es la presencia de la radiación UV como reactivo fundamental. Su acción sobre los contaminantes precisa, en general, para que sea completa, del concurso de otros procesos de carácter biótico y abiótico, por lo que su papel se considera limitado y reducido a las primeras etapas de la degradación (Haan,F. y Zwerman,P. 1986)
- b) Atmósfera del suelo. Se localiza en los espacios porosos cuando están vacíos o parcialmente ocupados por agua. Su reactivo fundamental es el oxígeno, por lo que las reacciones más específicas serán las de oxidación. Y, aunque en este medio se localizan sobre todo los productos más volátiles, en las proximidades de las interfases gas-líquido y gas-sólido se pueden activar y extender este tipo de reacciones a todo clase de productos retenidos en el suelo.
- c) Agua del suelo. La reacción fundamental es la hidrólisis y, dependiendo de la presencia o no de oxígeno disuelto, las de carácter red-ox se podrán desarrollar en un sentido o en otro. Por otra parte, el carácter soluble de muchos contaminantes determina que sea en este medio donde se localicen la mayor parte de sus reacciones de transformación.
- d) Matriz del suelo. En sentido estricto, las interacciones con la matriz solo se producirían cuando ninguna molécula de agua permaneciese adsorbida sobre su superficie. La realidad es que esta situación solo se daría en condiciones de sequedad extrema, y afectando sobre todo a las fracciones más gruesas del suelo que son las menos reactivas. Lo habitual es que existe una capa de mayor o menor espesor de moléculas de agua y que será en esta interfase suelo-agua donde se localicen las reacciones más importantes.
- e) Microhábitats. La localización de los organismos en el suelo está determinada por la existencia de agua, de nutrientes y, en la mayor parte de los casos, de oxígeno lo que, en general, da origen a una distribución heterogénea de los mismos. En estos ambientes, además de que existe la posibilidad de que actúen cualquiera de los reactivos anteriores, existe como carácter diferencial la presencia de enzimas que son de especial interés en la activación de muchas reacciones.

Reacciones de transformación

- a) Hidrólisis. Es uno de los procesos más frecuentes con los que se inicia la degradación de los productos orgánicos. Su velocidad de reacción es muy variable aunque, en general, en aquellos que presentan una mayor solubilidad en el agua son más rápidas, mientras que otros, como los éteres y ésteres, lo hacen más

lentamente. Hay casos, muy importantes, p. ej. en la desactivación de los organoclorados, en los que la hidrólisis va acompañada de un proceso de deshalogenación.

b) Procesos red-ox. Hay elementos como los hidrolizatos (Al, Fe y Mn) en los que los cambios en su estado de oxidación suponen variaciones muy importantes en su solubilidad, influyendo por este medio en su toxicidad. En otros casos, las oxidaciones son mecanismos importantes en la apertura de anillos, que representan un mecanismo básico de atenuación de su toxicidad (Manaham, S. 1990).

c) Catálisis inorgánica. Muchas de estas reacciones pueden activarse de forma especial en contacto con las fracciones inorgánicas coloidales del suelo, que Miselgrin, U. y Prost, A. (1989) las definen como catálisis heterogéneas, porque las consideran específicas de la interfase suelo-agua. Fueron especialmente estudiadas con los plaguicidas para los que se demostró un incremento en su degradación cuando se encontraban en contacto con arcillas, óxidos metálicos o cationes adsorbidos.

d) Interacciones con la materia orgánica. La materia orgánica coloidal puede actuar como catalizador en reacciones heterogéneas similares a las descritas en el apartado anterior. Los procesos de complejación con metales pesados tienen habitualmente una importante función de atenuación de su toxicidad, no solo por su papel en la disminución de su solubilidad, y su consiguiente biodisponibilidad, sino también por otras reacciones como pueden ser su competencia con los cationes precipitantes de proteínas (Hardgrove, W. y Thomas, G. 1981). Otro tipo de uniones que se pueden establecer entre la materia orgánica del suelo y las moléculas orgánicas contaminantes puede dar lugar al bloqueo o sustitución de radicales responsables de la toxicidad. De todas formas, cuando la materia orgánica que interviene en estas reacciones es de bajo peso molecular o con una proporción importante de grupos hidrófilos, el efecto sobre la movilidad del producto contaminante puede ser estimulante, como p. ej. en el caso del DDT en contacto con ácidos húmicos (Senesi, N. y Chen, Y. 1989).

e) Biodegradación. Es, posiblemente, el mecanismo más importante de desactivación de los productos orgánicos contaminantes y, aunque en su detalle se puede referir a muchos de los procesos anteriores (hidrólisis, oxidaciones, etc.), la activación específica que generan los organismos del suelo a partir de los procesos enzimáticos que inducen les confiere una intensidad y extensión que no alcanzarían de otra manera. Las condiciones del suelo que favorecen este tipo de reacciones son todas las que son estimulantes de los fenómenos vitales: agua, aire y nutrientes. Sin embargo, es fundamental distinguir en el suelo los procesos en régimen aerobio de los anaerobios, ya que los primeros son, normalmente, más efectivos por el hecho de que la degradación oxidativa de los productos orgánicos

es mucho más directa y eficiente que las complejas vías que siguen las degradaciones en condiciones anóxicas o anaerobias.

Procesos de transporte

El transporte de los contaminantes o de los subproductos de su degradación puede realizarse desde la matriz del suelo unido a las partículas del suelo cuando este se moviliza por los procesos de erosión eólica y/o hídrica y con el desplazamiento de las fases móviles del agua y el aire del suelo.

a) Transporte con la matriz del suelo. Los procesos de erosión del suelo se inician siempre con el mecanismo de desagregación de las partículas del suelo como consecuencia de la destrucción de las sustancias cementantes (materia orgánica, óxidos de hierro, etc.) que mantienen estable la estructura del suelo. Los agentes desagregantes más frecuentes son la lluvia, las escorrentías y la mecanización. Una vez liberadas, las partículas pueden ser desplazadas por el viento, sobre todo en medios áridos, y recorrer grandes distancias originando auténticas nubes contaminantes (p. ej. el conocido episodio del Dust Blow americano, de los años treinta del pasado siglo). Más extendidos están los procesos de erosión hídrica, que pueden alcanzar valores tan elevados como las 100 Tm. Ha-1. año y se localizan de forma preferente en los climas subtropicales y mediterráneos. Los procesos erosivos afectan al desplazamiento de los contaminantes localizados en la capa más superficial del suelo y con un Kow elevado.

b) Transporte con la fase líquida del suelo y subsuelo. Puede afectar a tres situaciones distintas de los contaminantes (disueltos, inmiscibles y particulados). Los materiales disueltos, que son normalmente los que presentan un producto de solubilidad más alto, se desplazan de acuerdo con la dinámica particular de los flujos de agua que puede ser de carácter “difusivo”, cuando lo hace frente a un gradiente de potenciales de retención de agua en condiciones de no saturación, o “adventivo”, cuando se realiza en régimen de saturación. Este último suele ser el responsable de los principales procesos de desplazamiento de contaminantes por el agua del suelo. Normalmente se distinguen en el suelo, según su localización, los flujos de agua “superficiales”, “subsuperficiales” y “subterráneos”. Con estos últimos se establece un *continuum* con los acuíferos subterráneos, por lo que los desplazamientos de los contaminantes por el agua se enmarcan, más que en los límites estrictos de lo que se entiende por suelo, en el ámbito más amplio que comprende lo que se denomina actualmente como Zona Crítica de la Tierra (atmósfera, litosfera, hidrosfera) (Lin, 2010).

Los materiales inmiscibles, como los derivados del petróleo, que pueden dar origen a graves episodios de contaminación, tienen normalmente un comportamiento muy complejo. Por una parte, existe una fracción “oleosa” que puede quedar retenida en los intersticios del suelo mientras que otra “móvil”

puede desplazarse con los movimientos del agua, distinguiéndose en este caso las fracciones menos densas del agua, que “flotan” en la capa límite de saturación, de las más densas, que emigrarían hacia el fondo de los acuíferos. También podría existir una fracción volátil que emigraría en forma de vapor hacia las capas más superficiales del suelo (Mackay y Cherny, 1989).

Los materiales particulados pueden movilizarse con el agua del suelo con los flujos subsuperficiales rápidos, desplazamientos que tienen en general poca importancia. Más importante, aunque menos conocido, es el desplazamiento de los virus y bacterias con el agua el suelo y que tienen un comportamiento hidrodinámico similar a las partículas de suelo. En el caso de las bacterias sus desplazamientos pueden quedar muy limitados por su tamaño (Crane et al., 1983). Lo que se entiende como poder depurador del suelo frente a los desplazamientos de bacterias (concepto ampliamente utilizado en la gestión de las fosas sépticas con vertido al suelo) dependería de esta relación de tamaños. Lógicamente, este poder depurador del suelo sería mucho menor frente a los virus que presentan tamaños muy inferiores y de los que se constatan desplazamientos superiores a 1 Km. (Rao y Melvick, 1987).

c) Transporte en la fase gaseosa. Los compuestos con presión de vapor alta tienden a concentrarse en la fase gaseosa del suelo y, a través de esta, a ponerse en contacto con la atmósfera exterior. Los tres tipos fundamentales de flujo gaseoso del suelo son: convectivo, que está controlado por los movimientos y cambios de presión de la baja atmósfera; difusivo, que está gobernado por los gradientes de concentración; y termodifusivo, que implica además a los gradientes de temperatura. Todos ellos generan un flujo continuo de salida de la atmósfera del suelo hacia el aire exterior que será tanto más intenso cuanto mayor sea la concentración y presión de vapor del producto contaminante, mayor la turbulencia y ventilación en la superficie del suelo y más intenso el gradiente de temperaturas. Además, existe otro factor importante en la salida de contaminantes a la atmósfera exterior que es la presencia de agua en fase de vapor, de tal manera que aquellos productos que unen a una presión de vapor alta un coeficiente de reparto agua-suelo bajo, pueden ver estimulada de forma importante su salida hacia el exterior en condiciones de una intensa dinámica evaporante del agua (Jury et al., 1987). En conclusión, se podría resumir que los suelos secos, compactos y fríos ofrecen mayores resistencias para que los contaminantes volátiles entren en contacto con la atmósfera.

Exposición de los receptores a los productos contaminantes

La condición en la que un determinado producto entra en contacto con los límites externos de un ser humano es lo que se conoce como exposición (EPA, 1992). Esta se produce después de que el contaminante que llega al suelo experimentó complejos procesos de transformación y transporte por lo que las

concentraciones con las que se produce el contacto pueden ser muy diferentes de las iniciales y, asimismo, los productos resultantes pueden ser mucho más variados que el término inicial, como resultado de la aparición de subproductos derivados de las reacciones de degradación.

Las rutas mediante las que se produce el contacto del contaminante con el receptor pueden ser muy variadas. Como ejemplo se pueden señalar las que utiliza el modelo CSOIL2000 holandés (RIVM, 2007):

A partir del suelo:

Ingestión de partículas de suelo.

Contacto dérmico con el suelo.

Inhalación de partículas de suelo.

A partir del agua:

Inhalación de vapores en espacios interiores (p. ej. ducha).

Inhalación de vapores en espacios exteriores.

Ingestión con el agua de bebida.

Contacto dérmico con la ducha y/o el baño.

A partir de los alimentos vegetales:

Ingestión por el consumo de cultivos locales.

Pueden existir más vías de entrada del contaminante, como p. ej. los alimentos animales (leche, carne, etc.), pero realmente, en la mayoría de los casos, solo unas pocas rutas suelen dar cuenta de la mayor parte de la exposición de un determinado producto. Los autores anteriores, a partir de la experiencia europea, llegan a la conclusión de que solo tres rutas (ingestión de partículas de suelo, inhalación de vapores en atmósferas interiores y consumo de alimentos vegetales) bastarían para dar cuenta en la mayoría de los productos del 90% de la exposición. Las demás tendrían una incidencia muy baja (p. ej., 1-7%, el contacto dérmico con el suelo, 1-5% el contacto dérmico con el agua). De todas formas, como principio básico, para la ER derivada de una determinada exposición se deben de tener en cuenta todas las rutas conocidas.

Para evaluar la exposición se debe considerar no solo la concentración del contaminante sino también el tiempo de contacto con el receptor. Puede representarse por una curva de concentraciones dependiente del tiempo, de tal manera que el área bajo esta curva define la magnitud de la exposición en unidades de tiempo-concentración:

$$E = \int_{t_1}^{t_2} C(t) dt$$

Este tiempo de contacto puede ser evaluado directamente, pero también a efectos de modelización y cuando no es posible realizar esa medida, existen tablas que calculan por defecto el tiempo de contacto estimado para las diferentes rutas.

Para poder evaluar las consecuencias sanitarias de una determinada exposición a un contaminante es importante tener en cuenta la concentración que alcanza realmente en el interior del organismo. Y de forma más concreta en aquellos órganos donde su efecto puede ser más dañino. Para ello es necesario conocer los cambios en la concentración, y también en su constitución que se pueden producir en el proceso de transferencia desde la superficie del cuerpo humano al interior de un órgano determinado. Estos procesos de transferencia pueden tener dos modalidades: la denominada “intake” por la EPA, o entrada en el organismo por las aberturas naturales (boca, nariz, etc.), y la que se produce a través de las barreras naturales (piel, mucosas, etc.) o “uptake”. En el primer caso, la concentración en los medios de transporte fluidos como el aire y el agua se transmite mediante los mecanismos clásicos de flujo (advención, difusión, etc.), y en los medios de transporte sólidos, como el bolo alimenticio, según el mecanismo fisiológico de progresión por el tránsito digestivo. En el caso de tener que atravesar barreras naturales, se produce un proceso fisiológico relativamente complejo de absorción y transporte que normalmente supone una alteración importante tanto del carácter como de la concentración del contaminante.

La “dosis aplicada” del contaminante es la cantidad de producto localizada en la barrera de absorción (piel, pulmón, tracto gastrointestinal) y que está disponible para su absorción. Normalmente es muy difícil de medir. De todas maneras, una aproximación a este valor se puede conseguir con el término “dosis potencial” que es simplemente la cantidad de producto ingerido, inhalado o localizado sobre la barrera natural. La dosis aplicada frecuentemente puede ser menor que la dosis potencial si el material es solo parcialmente biodisponible. Donde estos datos de biodisponibilidad son conocidos, es posible ajustar la dosis potencial a la dosis aplicada.

La cantidad de producto que es absorbida y está disponible en los fluidos internos para interactuar con receptores biológicos significativos se denomina “dosis interna”. Finalmente, la cantidad transportada a un órgano, tejido o fluido concreto se la denomina “dosis de descarga”, que puede ser solo una pequeña parte de la dosis interna. La dosis “biológicamente efectiva”, o la cantidad que realmente alcanzan las células, sitios o membranas donde realmente ocurren los efectos adversos puede ser solo una parte de la dosis de descarga, aunque obviamente, es la fracción crucial (EPA, 1992).

Normalmente, la mayor parte de las ER actúan sobre relaciones dosis-respuesta basadas en la dosis potencial o en la dosis interna, ya que la mayoría de los estudios farmacocinéticos necesarios para establecer las dosis de descarga o biológicamente activas no están disponibles para una buena parte de los productos contaminantes. Esta situación podría cambiar en el futuro ya que cada vez más se está profundizando en los estudios farmacocinéticos de los productos contaminantes.

En la actualidad existen diferentes métodos, de carácter directo o indirecto, para poder evaluar estos procesos que relacionan la exposición con la denominada “dosis interna” del contaminante (Nieuwenhuijsen, M. et al., 2006). Uno de los más interesantes es el que utiliza los modelos farmacocinéticos, o modelado PBPK, desarrollados inicialmente para el estudio del comportamiento de los medicamentos, pero que hoy tienen amplia vigencia en los estudios de sanidad ambiental (Lipscomb, et al., 2012). En cualquier caso, en la actualidad existen ya una serie de coeficientes, obtenidos por métodos cada vez más rigurosos y sofisticados y de una razonable seguridad, que nos permiten de una forma sencilla relacionar la concentración del contaminante en el punto de contacto con la dosis interna.

Desde un punto de vista práctico, la evaluación de la exposición se realiza a partir de una serie de ecuaciones desarrolladas según las diferentes rutas de entrada y el tipo de receptores. La forma genérica de estas ecuaciones (USEPA, 1989, IHOBE, 1998) sería la siguiente:

$$IDE = (C \times TC \times FE \times DE) / (PC \times TM)$$

Siendo IDE, (Cantidad del producto en la capa límite de intercambio, disponible para la absorción), C (concentración en el medio considerado), TC (tasa de contacto), FE (frecuencia de exposición), DE (duración de la exposición), PC (peso corporal) y TM (tiempo promedio de exposición). De esta ecuación genérica se pueden derivar otras correspondientes a diferentes rutas y receptores (Asante-Duah, 1996) expresadas en ICD (ingesta crónica diaria, en mg.Kg-1.día-1) que es el término que habitualmente se emplea en las ER.

Las concentraciones de los contaminantes son normalmente el resultado de varias medidas, por lo que debe utilizarse un determinado parámetro estadístico para su representación. En lugar del promedio, en la mayoría de los casos se emplea o el valor máximo del conjunto de medidas o, más habitualmente, el correspondiente al 95 %. De esta forma se trabaja con un mayor margen de seguridad en relación a la prevención del riesgo.

4. Caracterización del riesgo

La estimación del riesgo para sustancias no cancerígenas se realiza comparando la ICD con un nivel de referencia, que normalmente se encuentra

tabulado por las más importantes organizaciones sanitarias, que p. ej. para la USEPA americana, sería la DdR, y para el RIVM holandés, la MPR (expresados, ambos, en mg.Kg-1.día-1). La relación entre la ICD y p. ej. la Drd, se denomina “coeficiente de peligro” y, si el valor es inferior a 1, el riesgo se considera irrelevante y, si es superior, apreciable. Existiendo a partir de este nivel una serie de tramos donde los niveles de gestión de los suelos contaminados se hacen cada vez más intensos y costosos. Para cada contaminante se deben evaluar los diferentes aportes que pueden llegar al receptor por las diferentes rutas posibles por lo que el total a considerar como dosis de exposición es el sumatorio aportado por cada ruta en particular.

Como la evaluación del riesgo se realiza para cada contaminante en particular, para caracterizar el riesgo de un suelo contaminado determinado, donde es frecuente que existan diferentes contaminantes, lo más habitual es calcular para cada uno su coeficiente de peligro, deduciendo, finalmente, por la suma de los coeficientes particulares, un coeficiente de peligro general del suelo en cuestión.

En las sustancias cancerígenas se calcula un “exceso de probabilidad” de un caso de cáncer sobre los valores normales de una población determinada, multiplicando el factor de pendiente (que está expresado en mg.Kg-1.día-1) por la dosis de exposición (p. ej. la ICD). Según las diferentes legislaciones y circunstancias particulares del contaminante o de la población estos valores pueden oscilar entre 10^{-4} a 10^{-7} . Como en el caso de las sustancias no cancerígenas, los riesgos individuales de que se produzca un caso de cáncer para cada sustancia contaminante se suman para obtener un índice general en el caso de que existan diferentes sustancias cancerígenas en el suelo.

En los sistemas de ER utilizados habitualmente no se tienen en cuenta las posibilidades de que entre las sustancias contaminantes puedan existir efectos aditivos o sinérgicos, como está demostrado que ocurre p. ej. con mezclas de varios plaguicidas (Arnold et al., 1996). Esta deficiencia, que es bien conocida, sin embargo, ante la dificultad de su evaluación por falta de datos suficientes, no está considerada en la mayoría de las guías propuestas para la realización de las ER.

Una vez caracterizado el riesgo por una ER, viene la etapa de actuación sobre el suelo problema que puede ir desde unas simples recomendaciones sobre cambios de hábitos en la población hasta el sellado e impermeabilización de los suelos problema. En determinadas guías existen árboles de decisión adaptados a los diferentes tipos de actuaciones que se pueden llevar a cabo con los suelos contaminados.

Finalmente, existe cada vez más la tendencia de incorporar a las decisiones a representantes de las propias poblaciones afectadas, para que dentro de las

acciones a realizar se encuentre también la de la “aceptación” del riesgo. Como existe la evidencia de que el riesgo “cero” en muchos casos es muy difícil de alcanzar (Crews, D. y Gore, A.C., 2011), se trata, en estas situaciones, de poner en marcha una acción educativa para conseguir que la población aprenda a convivir con determinados niveles de riesgo compatibles con la salud pública.

Modelos RBCA para análisis de riesgos

Una de las cuestiones fundamentales en relación con los suelos contaminados es la de poder hacer frente a las costosas medidas de corrección con criterios de rentabilidad económica y sanitaria. En el año 1995 la ASTM desarrolló una Guía (E-1739-95) basada en el análisis de riesgos para las acciones correctivas de las zonas afectadas por vertidos de hidrocarburos. Poco después, en el 2000, amplió la Guía a todo tipo de terrenos contaminados (E-2081-00, Guía Standard ASTM para Acciones Correctivas Basadas en el Riesgo), que pasó a ser la metodología de elección para la toma de decisiones en materia de restauración y corrección de suelos contaminados en la mayor parte de los países. En España, en los últimos años, se desarrollaron un conjunto de acciones formativas (IUSC, 2012) encaminadas a la preparación de técnicos con capacidad para la aplicación de estas metodologías RBCA.

En esencia, la metodología propuesta en la Guía E-2081 consta de tres etapas que pueden desarrollarse total o parcialmente:

I) Una evaluación de riesgos cualitativa que identifica los impactos sanitarios (si los hubiese), los receptores potenciales más sensibles (escuelas, hogares, masas de agua, etc.) y las rutas más significativas. La comparación de los niveles de contaminación existentes con los Niveles Guía (que son de carácter general) añadida a los datos anteriores podría servir para establecer una jerarquía en cuanto a la urgencia y oportunidad de la intervención. Para conseguir objetivos de intervención más específicos del sitio se pasaría a la etapa siguiente.

II) Se utilizan nuevos datos adaptados a las condiciones particulares del sitio investigado (sobre todo condiciones edafológicas, hidrológicas y geológicas locales) y se investigan cambios en las concentraciones de los contaminantes que pueden evolucionar con el tiempo. Se determinan cuantitativamente valores de riesgo para receptores específicos a partir de niveles de referencia adaptados al sitio. Se proponen objetivos de corrección adaptados a las condiciones de riesgo del sitio. Si estos no fueran suficientes, se pasaría a la etapa siguiente.

III) Se utiliza información estadística compleja y modelos de transporte más sofisticados y se desarrollan niveles de referencia específicos para el sitio (SSTL) en el área fuente y los puntos de exposición. Debido al coste de esta etapa solo se utiliza para extensiones de terrenos contaminados de gran amplitud o con un fuerte impacto sobre la salud pública.

Existe en el mercado una amplia variedad de software bien adaptado a la aplicación de esta metodología con módulos específicos para la evaluación de las rutas de exposición, de los procesos de transformación y de transporte, tanto en condiciones estacionarias como transitorias, bases de datos de compuestos químicos, etc. (p. ej. RBCA Tool Kit for Chemical Releases, versión 2.6 E, 2012).

En general se acepta a priori que con la metodología RBCA se pueden realizar las operaciones de corrección con objetivos menos exigentes y, por lo tanto, a un menor coste económico. De todas formas, la experiencia indica que esta metodología puede fijar objetivos que pueden ser tanto más como menos exigentes que las metodologías clásicas que utilizan solo niveles de referencia de “intervención” como guía de la corrección (Poggio, F. 2006)

Nuevos objetivos en la evaluación de riesgos sanitarios

En la actualidad se utilizan más de 100.000 productos químicos con un incremento anual del orden del 1% (EPA, 2009) de los cuales solo el 25% está estudiado desde el punto de vista de su toxicidad. En consecuencia, una de las prioridades en la ER es mejorar este conocimiento mediante programas ambiciosos de selección y estudio de los productos con un mayor riesgo sanitario potencial. En Europa el programa REACH (UE, 2007, 2011) se propone para el año 2018 tener registradas todas las sustancias (existentes o nuevas) con datos fisicoquímicos y de toxicidad, y para aquellas con unos movimientos superiores a las 10 MT. año⁻¹, con información sobre su ciclo de vida, escenarios de exposición y riesgos derivados. En USA se puso en marcha el programa Tox21 (EPA, 2012) desarrollado a partir de un consorcio de instituciones públicas y privadas y que se propone aplicar a unos 10.000 productos los avances más recientes en análisis toxicológico, fundamentalmente los derivados de las tecnologías “omic”.

Para incorporar toda esta nueva fuente de datos las tecnologías de evaluación de riesgos deben realizar un esfuerzo paralelo para integrar los nuevos progresos en biología de sistemas y molecular a partir de los métodos y datos proporcionados por la genómica, epigenómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica (Cote et al., 2012). Avances que en el futuro deberían poder integrarse en sistema de gestión accesibles al personal técnico que habitualmente realiza las ER. De todas formas, existen toda una serie de cuestiones a las que se debe dar una respuesta adecuada y suficiente en las próximas décadas:

¿Cómo puede la biología molecular y de sistemas aportar nueva información sobre los potenciales efectos adversos, o su falta de efectos, sobre los humanos?

¿Cómo pueden estos datos informar sobre las relaciones exposición/dosis-respuesta esperadas in vivo en el ser humano?

¿Cuál es el papel de los modelos farmacocinéticos sobre los datos in vitro?

¿Pueden estos datos informar sobre la variabilidad y susceptibilidad de las poblaciones?

¿Cómo se incorporan a los nuevos modelos de gestión los efectos aditivos o sinérgicos de una mezcla de contaminantes?

¿Cómo puede caracterizarse las probabilidades de un daño a la salud pública y cómo pueden caracterizarse la incertidumbre y la variabilidad?

¿Cuáles son las fortalezas y debilidades de estos nuevos planteamientos?
(Cote et al., 2012)

Estos nuevos retos representarían un cambio en los métodos en uso para las ER, basados en los presupuestos mecanicistas de las décadas de los ochenta y noventa, hacia estos nuevos planteamientos conceptuales. Cambio, que, en último extremo, supondría la substitución de un paradigma clásico por otro con una proyección de futuro todavía no muy fácil de definir.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arnold,S.F. et al., 1996. Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science*, 272 (7 June): 1489-92.
2. Asante-Duah, D.K. *Managing Contaminated Sites: Problem Diagnosis and Development of Site Restoration*. Wiley&Sons. Chichester. 1996
3. Basset, W.H. *Clay's Handbook of Environmental Health*. E&FN SPON. London, 1999
4. Bitton,G. Adsorption of Viruses to Surfaces: Technological and Ecological Implications. En *Adsorption of Microorganisms to Surfaces*. Eds., Bitton-Marshall. Wiley-Sons. New York. 1980
5. Bridges, *Polluted and contaminated soils*. Annual Rep. ISRIC. Wageningen, 1991
6. CEMN. *Development and Application of Models of Chemical fate in Canada*. Rep. No. 200501. Canadian Env. Modell. Network- Trent University. Ont. 2005.
7. CONAMA, *Estado de la gestión de suelos contaminados en España y necesidad de mejoras*. X Congr. Nac. Medio Ambiente. Madrid (22.11.2010)
8. Cote et al., 2012. Advancing the Next Generation of health Risk Assessment. *Env. Health Perspectives*, 120, 11: 1499-1502.
9. Crane, S.R. et al., 1983. Bacterial Pollution from Agricultural Sources: A review. *Trans. A.S.A.E.*, 26,3 : 858-866.
10. Crews,D. y Gore,A.C., 2011. Life Imprints: Living in a Contaminated World. *Env. Health Perspectives*,119, 9 : 1208-1210.
11. Díaz-Fierros, F. 1992. Contaminación de suelos. En *IV Simposio Nacional sobre Nutrición Mineral de las Plantas*. Alicante.
12. Díaz-Fierros,F. *O Medio Ambiente: Do control de emissions á incerteza do risco..* Real Academia de Farmacia. Sección Galicia. Santiago, 2000.
13. Díaz-Fierros, F. *A auga. Un paraíso perdido?*. En *Cultura e paisaxe*. Eds. Pérez Moreira,R. y López González,J.. Serv. Pub. Univ. Santiago de Compostela. Santiago, 2010
14. Díaz-Fierros,F. *La ciencia del suelo. Historia, concepto y método*. Serv. Pub. Univ. Santiago Compostela. Santiago. 2011
15. Douben, P.E. *Pollution Risk Assessment and Management*. Wiley&Sons. Chichester, 1998

16. Eijsackers, H y Doelman,P. Persistent Chemicals in Soil Ecosystems and optimisation of biological degradation processes. En *Ecological Assessment of Environmental Degradation, Pollution and Recovery*. Elsevier. Amsterdam. 1987.
17. EPA, Guidelines for Exposure Assessment. EPA7600/Z-92001 (1992)
18. European Commission. Harmonisation of risk assessment procedures (First Report). Oct. 2000
19. European Commission. REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical Substances). March, 2007
20. European Commission, Towards the Replacement of "in vivo" Repeated Dose Systemic Toxicity Testing, 2011
21. Fisk, D.J. Evidence given to the Environment Committee of the House of Commons. First Report, "Contaminated Land". HMSO. Londres, 1990
22. Grosclaude, G. (Coord.) L'eau, I, Milieu naturel et maîtrise. INRA. París, 1999
23. Haas,Ch. N., Rose,J.B., Gerba,Ch. P. Quantitative Microbial Risk Assessment. Wiley&Sons. Chichester, 1999
24. Hann,F y Zwermer,P. Pollution of Soil. En *Soil Chemistry*, vol I. Ed. Bolt, G.H. Elsevier. Amsterdam. 1976
25. Hardgrove,W. y Thomas,G. Effect of organic matter on Exchangeable Aluminium and Plant Growth in Acid Soils. En *Chemistry in the Soil Environment*. ASA. SSSA. Spec. Pub. 40. Madison, 1981
26. IGME, 2005, La investigación de suelos contaminados en el IGME (<http://www.igme.es>)
27. IHOBE, Investigación de la contaminación de suelos. Gobierno Vasco. Bilbao, 1998
28. IUSC, Análisis de riesgos de suelos contaminados RBCA (Curso, abril 2012)
29. Jury et al., 1987. Transport and transformations of organic chemicals in the soil-air-water ecosystems. *Rev. Environm.Contam.Tox.* vol 99: 119-164.
30. Lin, H. 2010. Earth's Critical Zone and hydrogeology: concepts, characteristics, and advances. *Hydrol. Earth System Sci.*, 14: 25-45.
31. Lipscomb, J.C. et al., 2012. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models in toxicity testing and risk assessment. *Adv. Exp. Med. Biol.* 745: 76-95.
32. Mackay y Cherny, 1989. Groundwater contamination: Pump-and-treat remediation. *Env. Sci. Technol.*23,6 : 630-636.
33. Mackay, D. Multimedia Environmental Models. The Fugacity Approach. 2nd. Ed. Lewis Pub. London, 2001.
34. Manahan,S. Environmental Chemistry. Lewis Pub. London.1990
35. Marshall,K.S. Adsorption of Microorganisms to Soil and Sediments. En *Adsorption of Microorganisms to Surfaces* (Eds. Bitton-Marshall) Wiley-Sons. New York. 1980
36. McDermott, W. Contaminación del aire y salud pública. En *El hombre y la Ecosfera* (Selecc. Sci. American)Ed. Blume. Madrid, 1961
37. Mingelgrin,U. y Prost, A. Surface Interactions of Organic Wastes and Waste Waters. En *Toxic Organic Chemicals in Porous Media*. Ed. Gerstl, Z. Springer verlag. Berlin, 1989
38. Nieuwenhuijsen,M., Paustenbach,D. y Duarte-Davidson, R. 2006. New developments in exposure assessment: The impact on the practice of health risk assessment and epidemiological studies. *Env. Int.* Dec, 32 (8): 996-1009
39. Peña,C.E., Carter,D.E., Ayala-Fierro,F. *Toxicología Ambiental*. Superfund Basic Res, and Train. Progr. College of Pharmacy. Univ. Arizona, 2001
40. Petts, J., Cairney,T., y Smith,M. Risk-Based Contaminated Land Investigation and Assessment. Wiley & Sons. Chichester. 1997

41. Poggio,F. 2006. El análisis de riesgo RBCA en el desarrollo de objetivos de remediación. *Petrotecnica*, febrero (2006):56-58
42. Prokop,G. et al., 2000. Management of contaminated sites in Western Europe. European Env. Agency. Topic Report 123/1999.
43. Rao,V. Ch. y Melvick, J.L. Human viruses in Sediments. CRC Press. Boca Raton. Fl. 1987
44. RIVM, CSOIL 2000: an exposure model for human risk assessment of soil contamination. (Brand,E., Otte, P.F y Lijzen,J.P)BA Bilthoven, 2007
45. Senesi,N. y Chen,Y., Interactions of Toxic Organic Chemicals with Humic Substances. En Toxic Organic Chemicals in Porous Media. (Ed. Gerstl, Z.) Springer Verlag. Berlin.1989
46. Smith, M.A. Background, En Contaminated Land: Reclamation and Treatment. Plenum Pub. New York. 1985
47. U.S. EPA, Risk Assessment Guidance for Superfund. Washington, D.C. 1989
48. U.S.EPA,The U.S. Environmental Protection Agency's Startegic Plan for Evaluating the Toxicity of Chemicals. EPA/100/K-09/001. 2009
49. U.S.EPA, Safety for Sustainability Research. Washington, DC. 2012

Lípidos y diabetes tipo 2. Desarrollo de nuevas terapias basadas en el metabolismo lipídico

José Carlos Rodríguez Rey

Departamento de Biología Molecular. Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria. Avda. Cardenal Herrera Oria s/n 39011 Santander.

e-mail: rodriguj@unican.es

Recibido el 27 de agosto de 2013. An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 3 (2013), pag. 412-433.

RESUMEN

La diabetes tipo 2 es una de las principales causas de morbilidad a nivel global. La enfermedad se desarrolla tras una fase más o menos prolongada en la que los tejidos presentan resistencia a insulina. En el músculo, la resistencia a insulina se manifiesta como un bloqueo a la entrada de glucosa, mientras que en el hígado da lugar a un aumento de la gluconeogénesis y de la síntesis de lípidos. En ambos tejidos la propia acumulación de lípidos es la principal causa de la resistencia, que se produce por un aumento de la cantidad de diacilgliceroles intracelulares. Estos activan diversas proteínas quinasas de la familia PKC que a su vez interfieren con el proceso de señalización por insulina. En el hígado esta interferencia afecta parcialmente a la señalización. La insulina produce un aumento de la síntesis de lípidos, sin ser capaz de bloquear la gluconeogénesis. El resultado es una progresiva acumulación de lípidos que agrava el fenómeno de resistencia y que, de no revertirse, progresará hasta una diabetes tipo 2. La regulación a largo plazo de la síntesis de lípidos por insulina está mediada por el factor de transcripción SREBP-1c. La síntesis de éste está regulada por numerosos receptores nucleares, y la utilización de ligandos de estos últimos está proporcionando una nueva vía para la prevención y el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Palabras clave: Diabetes tipo 2; Quinasas; Hígado.

ABSTRACT

Lipid metabolism in type 2 diabetes and development of new lipid-based therapies

Type 2 diabetes is one of the major causes of global morbidity. The disease develops after a period of insulin resistance of variable length. In skeletal muscle, insulin resistance is characterized by an impairment of glucose transport whereas in liver

there are increases in both gluconeogenesis and lipid synthesis. In both tissues lipid accumulation is responsible for insulin resistance because of increases in intracellular diacylglycerols. These activate several members of the PKC family of protein kinases, which, in turn, impair the insulin-signaling pathway. Insulin signaling is only partially affected in the resistant liver and thus insulin induces an increase in lipid synthesis without being able to block gluconeogenesis. As a consequence, lipids progressively accumulate and worsen insulin resistance, in a process, which, if not reversed, will result in an overt, type 2 diabetes. The transcription factor SREBP-1c is the major effector of long-term regulation of lipid synthesis by insulin. The synthesis of SREBP-1c is regulated by several nuclear receptors and the utilization of their ligands is opening a new therapeutic approach for the prevention and treatment of type 2 diabetes.

Keywords: Type 2 diabetes; Kinases; Liver.

INTRODUCCIÓN

La diabetes tipo 2 es una de las principales causas de morbilidad en todo el mundo. Relativamente rara a principios de siglo XX, el aumento de su frecuencia está ligado al aumento de la obesidad y el sedentarismo. De cumplirse las proyecciones de la Organización Mundial de la Salud, en el año 2025 podría haber más de 350 millones de afectados por la enfermedad, por lo que no es exagerado considerarla como una de las epidemias del s. XXI (1). A diferencia de su homónima de tipo 1, de naturaleza autoinmune, la diabetes tipo 2 aparece tras un largo proceso. En el estado que puede denominarse pre-diabético, las células β del páncreas secretan un exceso de insulina para compensar una menor respuesta de los tejidos, y los niveles de glucosa se mantienen dentro de la normalidad. Cuando finalmente el páncreas no puede producir suficiente insulina para compensar la resistencia, los niveles de azúcar aumentan y la diabetes se manifiesta de forma franca (2).

El aumento de los niveles de azúcar en sangre es una de las características más llamativas de la diabetes y por esta razón la enfermedad ha sido asociada casi de forma exclusiva al metabolismo glucídico. El propio nombre de la enfermedad, *diabetes mellitus*, atribuido al médico griego Areteo (80-138) hace referencia al sabor dulce de la orina de los pacientes. Unos siglos antes (s. VI a.C.) los médicos indios ya la habían denominado *Madhumeha*, que significa literalmente orina-miel, y era frecuente la utilización de pruebas diagnósticas basadas en la atracción que las hormigas sentían por la orina dulce de los pacientes. Nombres similares pueden encontrarse en los ideogramas de los coreanos, chinos y japoneses. El sabor dulce de la orina se atribuye definitivamente a la presencia de cantidades elevadas de glucosa en 1776, cuando Matthew Dobson desarrolla un método para su cuantificación (3).

En opinión de algunos científicos la insistencia en el carácter glucídico de la enfermedad podría haber desviado la atención del importante papel de los lípidos en el desarrollo de la patología. En un artículo publicado en 1992 en la revista *Science* titulado “*Si Minkowski hubiera sido agésico. Una visión alternativa de la diabetes*”, J. Denis McGarry especula con la posibilidad de que Minkowski, hubiera perdido la capacidad de distinguir el sabor dulce de la orina de los perros a los que previamente había convertido en diabéticos tras una pancreatectomía. En ausencia del sentido del gusto, razona McGarry, tal vez habría sido capaz de detectar el olor de los cuerpos cetónicos, algo que sin duda habría dirigido a la comunidad científica hacia el estudio del metabolismo de los lípidos (4).

EL CICLO DE RANDLE Y EL MODELO LIPOGÉNICO DE LA DIABETES

A pesar del énfasis en el metabolismo de la glucosa, la relación entre los lípidos y la resistencia a insulina se conoce desde hace tiempo. Estudios llevados a cabo en músculos humanos han determinado que la presencia de lípidos en el interior de la célula muscular constituye el mejor predictor de la resistencia a insulina en ese tejido (5). De la misma forma, la resistencia a insulina hepática está muy relacionada con el contenido de lípido intrahepático, siendo este un mejor indicador que la propia adiposidad visceral (6)

Las primeras observaciones experimentales sobre las conexiones entre un aumento de los niveles de lípidos y la ralentización del metabolismo de la glucosa fueron publicadas por Randle, quien incubando preparaciones de músculo con ácidos grasos observó un incremento de los niveles de glucosa y glucosa 6-fosfato, así como un aumento de los depósitos de glucógeno intracelular. Basándose en estos resultados propuso un mecanismo de regulación alostérico consistente en la inhibición de la piruvato deshidrogenasa a causa del aumento de los cocientes acetil CoA/CoA y NADH/NAD⁺ en el interior de la mitocondria. El consiguiente incremento de citrato inhibiría dos pasos de la glucólisis: la conversión de glucosa a glucosa 6-fosfato, catalizada por las hexoquinasas y la formación de fructosa 1,6-bisfosfato, la reacción clave en la regulación de la glucólisis. Por su parte la glucosa 6-fosfato acumulada en ausencia de glucólisis sería derivada a la formación de glucógeno (Figura 1) (7, 8). Este mecanismo pudo ser demostrado en animales en los que infusiones de elevadas cantidades de lípidos en cortos períodos de tiempo producían un aumento de glucosa 6 –fosfato (9) y, así, la hipótesis de Randle se mantuvo como paradigma de la diabetes a lo largo de varias décadas.

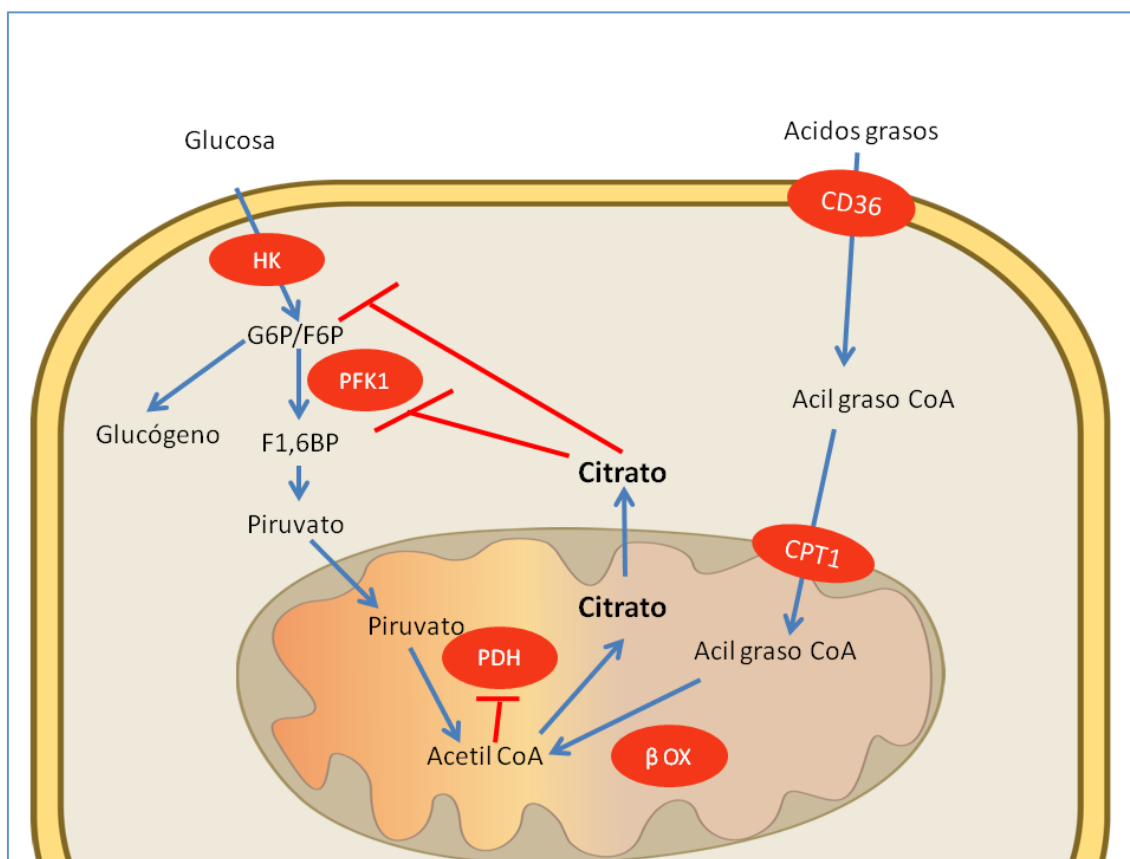


Figura 1.- Modelo alostérico de Randle para explicar la resistencia a insulina muscular tras la acumulación intracelular de ácidos grasos. Los ácidos grasos que entran a la célula a través de CD36 son transportados al interior de la célula por la lanzadera de carnitina. La producción de grandes cantidades de acetil CoA por la beta oxidación y la síntesis de citrato dan lugar a la inhibición de PFK1 y HK, y al bloqueo de la glucólisis. La G6P acumulada se deriva hacia la síntesis de glucógeno. Abreviaturas: CPT1 carnitina palmitil transferasa I; HK- hexoquinasa; PFK1, fosfofructoquinasa 1; PDH, piruvato deshidrogenasa; transportador de ácidos grasos; β -ox, beta oxidación de ácidos grasos. Figura adaptada de la referencia (8).

Casi treinta años después de la propuesta de Randle, McGarry completa el modelo postulando que la desregulación de las rutas del metabolismo lipídico es probablemente el suceso inicial en el desarrollo de la diabetes (4). De acuerdo con McGarry, puesto que los niveles de lípidos del músculo son los causantes de la resistencia del mismo, la causa de la diabetes debería buscarse en las modificaciones del metabolismo que dan lugar a aumentos de los niveles de lípidos sanguíneos.

La síntesis y degradación de ácidos grasos se regula de forma recíproca gracias al papel de un metabolito clave, el malonilCoA, precursor de la síntesis de ácidos grasos. Producido por la acción de la acetil CoA carboxilasa, es a su vez un regulador de CPT-1, enzima clave del transporte de ácidos grasos al interior de la mitocondria para su degradación. Sobre la pareja Acetil CoA carboxilasa/CPT1 recaería por lo tanto todo el peso de la regulación (Figura 2). En el músculo, en el que la síntesis de ácidos grasos carece de importancia, el malonil CoA se produce por acción de un isoenzima específico asociado a la membrana externa de la

mitocondria, en donde también se sitúa CPT-1, por lo que los cambios de su actividad serían rápidamente trasladables a la actividad del transportador. En el músculo resistente a insulina los niveles de malonil CoA están aumentados (10) lo que estaría de acuerdo con la importancia del isoenzima muscular, codificado por el gen *ACACB* y cuyas variantes se han asociado recientemente con la obesidad y la diabetes (11).

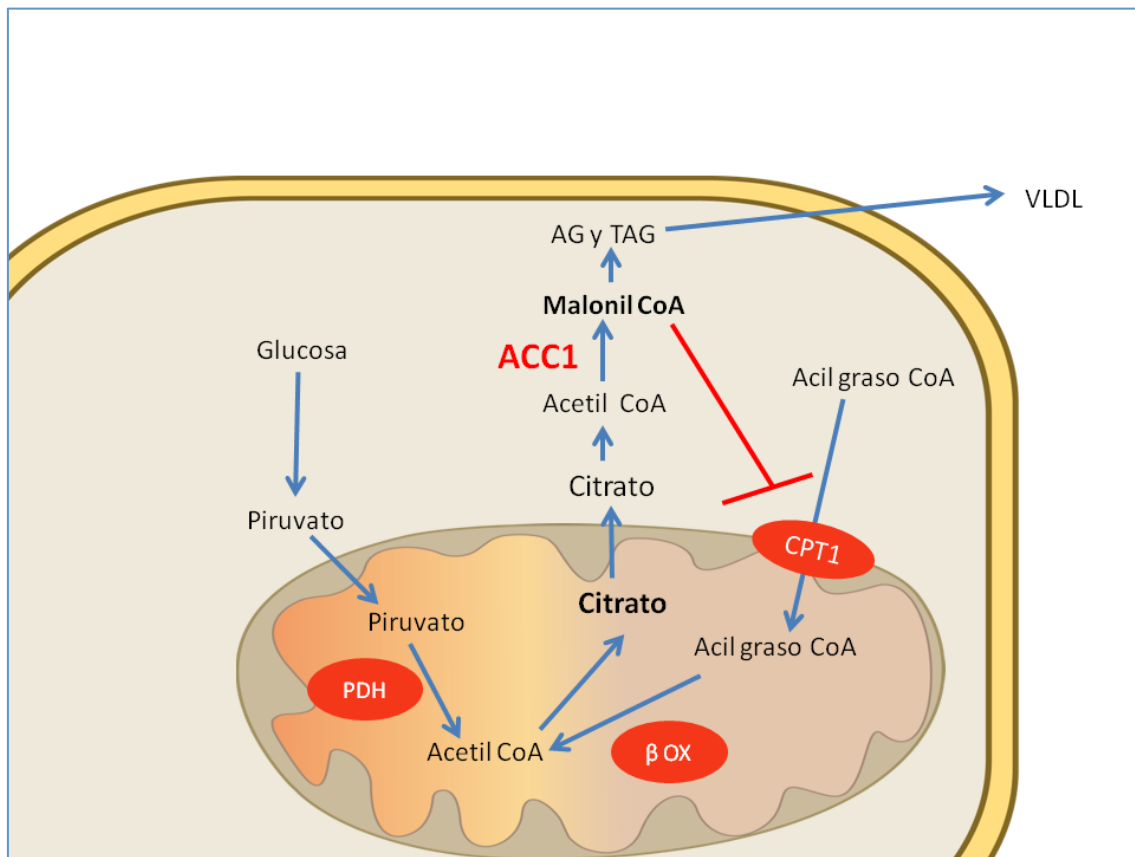


Figura 2.- Regulación recíproca de la síntesis y degradación de ácidos grasos a través de malonil CoA. El malonil CoA producido por acción de la acetil CoA carboxilasa inhibe la entrada de ácidos grasos a la mitocondria y como consecuencia su degradación. AG, ácidos grasos; Abreviaturas: ACC1, acetil coA carboxilasa 1; CPT1 carnitina palmitil transferasa I; PDH, piruvato deshidrogenasa; TAG, triacilgliceroles; VLDL lipoproteínas de muy baja densidad. β -ox, beta oxidación de ácidos grasos. Figura adaptada de la referencia (8).

La hipótesis lipogénica de la diabetes tipo 2 plantea una paradoja. Por una parte, las células musculares no utilizan glucosa por oxidar de preferencia ácidos grasos. Por otra, estas células acumulan ácidos grasos porque su capacidad de oxidarlos de forma eficiente está disminuida. Para resolverla, McGarry propone que el proceso de aparición de la diabetes se produciría en dos fases. En una fase temprana, previa al aumento de los niveles sanguíneos de ácidos grasos y triacilgliceroles, la célula muscular podría tener un defecto muy sutil - tal vez una desregulación del par Acetil CoA carboxilasa/CPT1- que le imposibilitara la degradación completa de los ácidos grasos. La acumulación de lípidos resultante daría lugar a la resistencia a insulina. Más adelante, cuando la secreción de insulina no pueda ya controlar la resistencia se produciría un aumento de los niveles de

lípidos circulantes, cuya concentración sería ahora suficiente para vencer el bloqueo existente para su degradación. En esta fase la inhibición descrita por Randle entraría en juego para bloquear la degradación de glucosa muscular (12).

Considerando el importante papel del hígado y del tejido adiposo en el control de los niveles sanguíneos de lípidos, el proceso podría representarse en forma de un círculo vicioso (Figura 3). La liberación continuada de insulina resultante de una sobrealimentación daría lugar, entre otros efectos, a un aumento de la síntesis y liberación de lípidos por parte del hígado. Como consecuencia se produciría una acumulación de los mismos en hígado (esteatosis), músculo y tejido adiposo. El aumento de los lípidos intracelulares y por tanto de la resistencia a insulina, tanto en el hígado como en los tejidos periféricos, obligaría al páncreas a producir niveles crecientes de insulina de forma continuada. Una vez sobrepasada la capacidad del páncreas de hacer frente a estas demandas, los tejidos serían incapaces de normalizar los niveles de glucosa y se producirían niveles aumentados de glucosa incluso durante el ayuno.

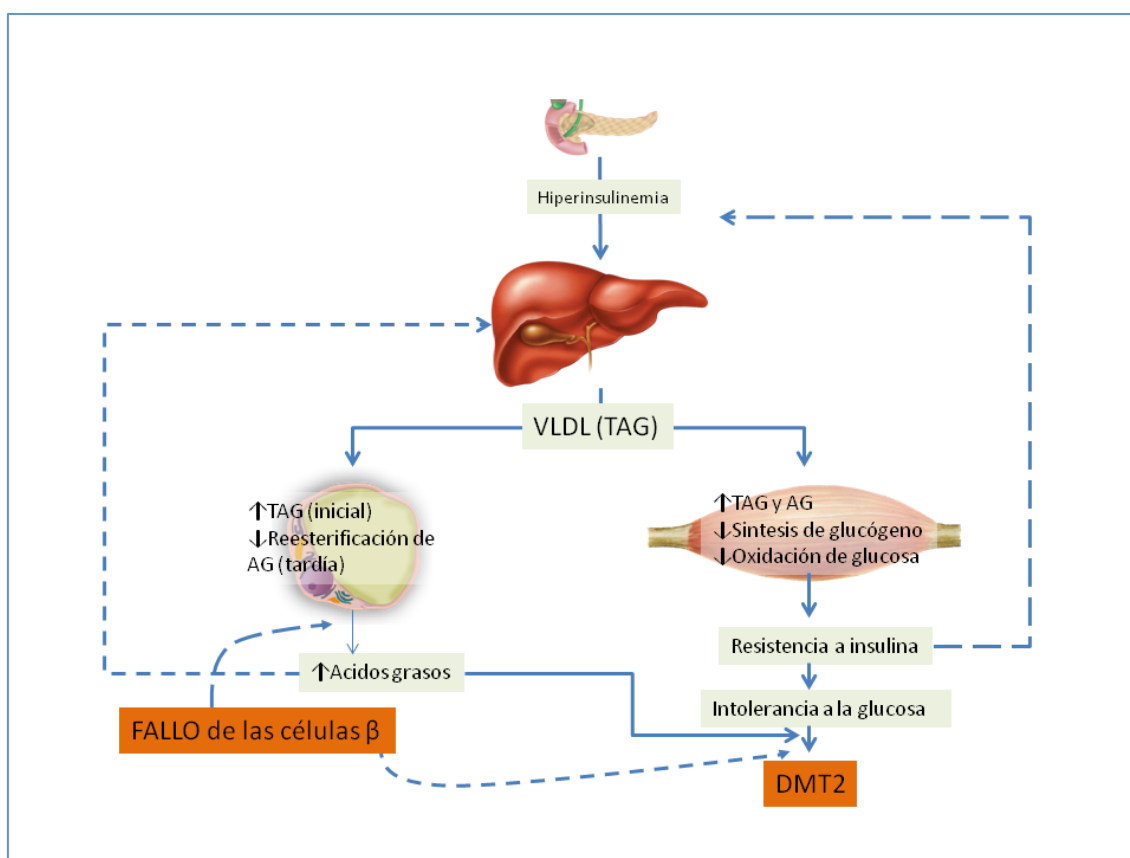


Figura 3.- Modelo lipogénico de la diabetes tipo 2 de McGarry. El aumento de la secreción de insulina producida por la sobrealimentación favorece la acumulación de lípidos en hígado, músculo y tejido adiposo, lo que su vez provocarán una mayor resistencia a insulina. Se produce así un círculo vicioso en el que páncreas compensa esta resistencia mediante la secreción de cantidades crecientes de insulina. Finalmente, el fallo de las células β provoca la rotura del círculo y la diabetes tipo 2 (4,12).

ALTERNATIVAS A LA REGULACIÓN ALOSTÉRICA

Tanto el mecanismo propuesto por Randle como la modificación de McGarry se apoyan en el control alostérico que compuestos como el acetilCoA y malonil CoA ejercen sobre las rutas metabólicas. En el sistema de regulación metabólica de Randle la glucosa, que no se degrada en presencia de ácidos grasos, se acumularía en forma de glucosa 6- fosfato y glucógeno. Sin embargo, con el desarrollo de técnicas de análisis menos invasivas se pudo determinar que en el músculo de pacientes de diabetes hay una menor concentración de glucosa 6- fosfato y una síntesis de glucógeno disminuida a aproximadamente la mitad de la de los individuos sanos. El menor consumo de glucosa en los músculos de estos pacientes parece más el resultado de un menor transporte que de una menor degradación (13-15). Un efecto similar pudo también ser observado en individuos sanos sometidos a una infusión de lípidos y heparina. Esta, al inducir la lipoproteína lipasa, da lugar a una acumulación de lípidos en el interior de las células musculares (16). La resistencia a insulina observada en estos individuos se producía por los mismos mecanismos (disminución del transporte y de fosforilación de glucosa) observados en los pacientes de diabetes tipo 2 y sus familiares (17, 18). Todos estos sugerían que la regulación alostérica de la glucólisis propuesta por Randle, podría explicar los efectos que se producen tras un incremento agudo de los niveles de lípidos, pero no los cambios en el transporte de glucosa al interior de la célula.

El modelo por lo tanto debe ser modificado mediante la introducción de otro tipo de mecanismos que relacionen la presencia de lípidos con una menor entrada de glucosa en la célula muscular. A este respecto, no debería olvidarse que los estudios genómicos recientes han señalado que variantes en los genes que codifican proteínas relacionadas son los que presentan mejor asociación con la diabetes (19). Por lo tanto, un modelo completo de la diabetes que pretenda explicar los cambios en la homeostasis de la glucosa debería tomar en consideración (i) los mecanismos mediante los cuales la acumulación de lípidos afecta al mecanismo de señalización por insulina en células hepáticas, musculares y adipocitos, así como (ii) qué procesos dan lugar a una acumulación de lípidos en el interior de estas células.

PAPEL DE LA INSULINA EN EL TRANSPORTE DE LA GLUCOSA Y EN LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS

La insulina se secreta como respuesta a niveles elevados de glucosa en sangre, siendo el mantenimiento de los niveles sanguíneos de glucosa una de sus funciones. Además del páncreas, el hígado, el músculo y el tejido adiposo, son los principales tejidos involucrados en esta regulación. En presencia de insulina se activa la entrada de glucosa a tejido adiposo y músculo, la síntesis de glucógeno

hepática y muscular, la síntesis hepática de ácidos grasos y triacilglicerol y la acumulación de estos últimos en el tejido adiposo. Por el contrario, el descenso de los niveles de insulina que se produce como consecuencia de una disminución de la glucosa sanguínea da lugar a síntesis y liberación de glucosa por el hígado y la liberación de ácidos grasos por parte del tejido adiposo. Todos estos procesos están afectados en mayor o menor medida en el individuo diabético, pero la entrada de glucosa al músculo y la síntesis hepática de lípidos parecen tener una mayor importancia relativa.

La insulina participa a varios niveles en la regulación metabólica. La regulación de la disponibilidad de sustrato (transportadores), la velocidad de las reacciones enzimáticas alterando bien la modificación covalente de enzimas, o la síntesis de enzimas reguladores del metabolismo, son procesos regulados por insulina y en todos ellos la regulación se establece como consecuencia de la unión de la hormona a su receptor situado en la membrana externa de la célula. El receptor de insulina es un tetrámero compuesto por dos tipos de subunidades de las que uno tiene un dominio citoplasmático con actividad tirosina quinasa. La activación de esta se produce como consecuencia de la interacción de la insulina con su receptor, que transmite un cambio conformacional a estos dominios y ocasiona una autofosforilación de los residuos serina y tirosina de los mismos (20). En los cambios metabólicos relacionados con la resistencia a insulina están involucradas al menos seis proteínas citoplasmáticas que sufren una fosforilación en sus tirosinas, en respuesta a la interacción insulina-receptor. De todas ellas (IRS-1-4, Cbl y APS(21)), las cuatro proteínas de la familia IRS han recibido considerable atención desde el descubrimiento de su primer miembro (22). Los sustratos IRS1 e IRS2 desempeñan funciones esenciales en la retirada de glucosa por el músculo y el tejido adiposo. Aunque los ratones deficientes en cada uno de ellos presentan resistencia a insulina periférica, solamente los ratones IRS2-/- presentan fenotipo diabético (23, 24). Dado que IRS-2 parece desempeñar además un papel importante en la función de las células β , estos resultados apoyan la idea de que la combinación de defectos en los tejidos diana y en la producción de insulina es necesaria para el desarrollo de la enfermedad.

La fosforilación dependiente de insulina de residuos tirosina de las proteínas IRS genera sitios de anclaje para muchas proteínas que contienen dominios SH2, entre las que se encuentra una fosfatidil- inositol- 3- quinasa de tipo 1A, un enzima que ha sido implicado en numerosos procesos biológicos (25). Las fosfatidil- inositol- 3- quinasas de tipo 1A son heterodímeros formados por dos subunidades, p85 y p110 que constituyen las subunidades reguladoras y catalítica respectivamente. p85 tiene dos dominios SH2 que son capaces de unirse a la secuencias que contienen tirosinas fosforiladas en los IRS. La unión provoca así una estimulación alostérica de la subunidad p110 y la consiguiente síntesis de

fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato. Este se acumula y atrae a la membrana moléculas con dominios de homología con plectrina (PH), entre ellas la serina-treonina Akt (PKB), que es activada por otra proteína también atraída a la membrana: la proteína quinasa dependiente de 3-fosfoinosítidos, PDK1. Las diferentes isoformas de Akt son serina-treonina quinasas que ocupan uno de los principales nodos de los sistemas de señalización en células eucarióticas. Por ello interviene en multitud de procesos que incluyen la regulación metabólica, el crecimiento y la proliferación, la apoptosis, etc. (26).

AKT Y ENTRADA DE GLUCOSA AL MÚSCULO

La entrada de glucosa al músculo esquelético se produce por la intervención de Glut4, un transportador independiente de ATP. Una vez en el interior de la célula la glucosa es fosforilada por la hexoquinasa y, en ausencia del enzima Glucosa-6-fosfatasa, la glucosa- 6- fosfato resultante es incapaz de abandonar la célula por lo que la asociación del transportador y la hexoquinasa pueden considerarse una verdadera trampa de glucosa. Hasta ahora y dada las diferentes afinidades por la glucosa del transportador y la hexoquinasa, la entrada de glucosa en la célula mediante el transportador se ha venido considerando el paso limitante en la retirada de glucosa por parte de ambos tejidos, aunque hay autores que cuestionan este modelo (27). Sea cual sea el modelo verdadero, Glut4 desempeña un papel importante en la entrada de glucosa a la célula muscular y adiposa y es una de las principales funciones afectadas por la resistencia a insulina.

La proporción de Glut4 presente en la membrana oscila entre un 1 y un 40% y depende de la cantidad de insulina presente (28, 29). La proteína Glut4 no presente en membranas se reparte entre el aparato de Golgi y un compartimento especializado denominado vesículas de almacenamiento de Glut4 (GSV en sus siglas inglesas) desde donde es transportada a la membrana tras la estimulación de la célula por insulina (30, 31). El transporte se produce mediante un proceso de exocitosis en el que participa un complejo ternario formado por las proteínas VAMP 2, SNAP23 y syntaxina 4 (32).

En el interior de las vesículas Glut4 forma complejos con al menos otras dos proteínas: una amino-peptidasa, regulada por insulina (IRAP), y AS160, que precisamente recibe su nombre por constituir un sustrato de Akt (Akt-substrate of 160 KDa). AS160 tiene 6 sitios de fosforilación por Akt (33) y la eliminación de estos por mutagénesis previenen la traslocación del transportador (34). Asimismo el tratamiento con un RNA de interferencia específico de AS160 produce un aumento de Glut4 en la membrana en el estado basal, aunque se sigue manteniendo la inducibilidad por insulina, por lo que no puede descartarse la existencia de algún otro mecanismo que actúe de forma sinérgica con la anterior (35). El papel de AS160 no se limita a la inducción por insulina, ya que AS160 es un

sustrato de la proteína quinasa dependiente de AMP (AMPK) lo que podría explicar la mayor entrada de glucosa en el músculo que se produce durante el ejercicio.

AKT Y EL METABOLISMO HEPÁTICO

El hígado, cuyo principal transportador, Glut2, es independiente de insulina, modifica los niveles de glucosa mediante su conversión en glucógeno o en ácidos grasos. Se sabe desde hace tiempo que la insulina regula la actividad de los principales enzimas reguladores de estos dos procesos, así como los de la gluconeogénesis mediante modificación covalente. Sin embargo, la principal regulación de los procesos que se desarrollan en un período de tiempo largo, como es el caso de la diabetes tipo 2, se lleva a cabo alterando la síntesis de los propios enzimas. En el metabolismo hepático la insulina participa en esta regulación a través de dos factores de transcripción: FoxO1 y SREBP-1c (Figura 4a).

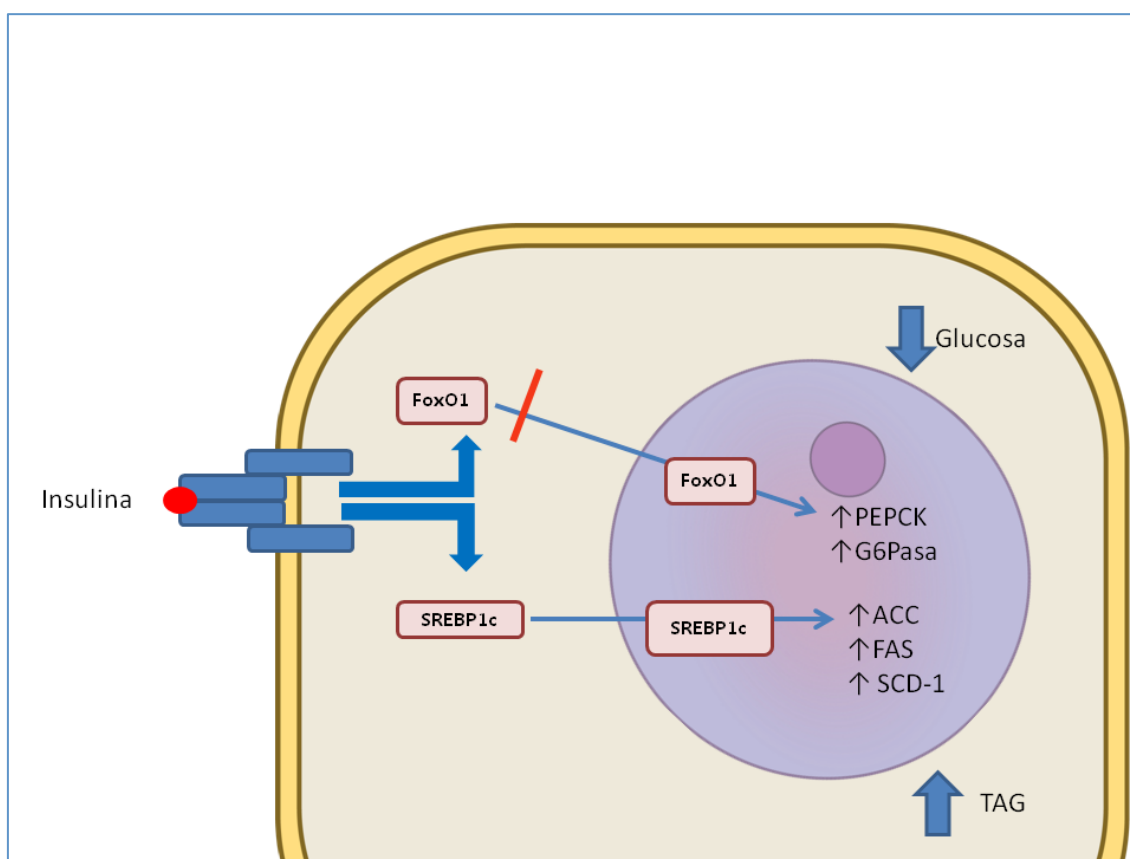


Figura 4a.- Regulación transcripcional de la gluconeogénesis y de la lipogénesis hepáticas por insulina. La interacción de la insulina con su receptor provoca la fosforilación del factor de transcripción FoxO1 y su salida del núcleo y retención en el citoplasma. Se inhibe así la expresión de los genes que codifican los principales enzimas reguladores de la gluconeogénesis, fosfoenol piruvato carboxi quinasa (PEPCK) y glucosa 6- fosfatasa (G6Pasa). La liberación e insulina da lugar también a un aumento de la síntesis y activación del factor de transcripción SREBP-1c, lo que resulta en una expresión aumentada de varios genes que codifican enzimas de la síntesis de ACC, acetil CoA carboxilasa; FAS, Sintasa de ácidos grasos; SCD-1, estearil CoA deshidrogenasa 1.

El factor de transcripción FoxO1 es un miembro de la familia de factores de transcripción Fox (Forkhead box) que interacciona con las secuencias denominadas elementos de respuesta a insulina (IRE) situadas en los promotores de numerosos genes. Entre sus dianas se encuentran los genes que codifican la fosfoenol- piruvato carboxiquinasa, el principal enzima regulador de la gluconeogénesis (36) y la glucosa 6 fosfatasa (G6P-asa). Mediante experimentos de ganancia y pérdida de función se ha podido demostrar que la presencia de FoxO1 aumenta la síntesis de glucosa en el hígado (38, 39). La insulina bloquea el proceso induciendo la fosforilación de FoxO1 en el núcleo, lo que no solamente excluye a FoxO1 de los complejos transcripcionales sino que además dispara los procesos de su envío al citoplasma (26, 40).

El otro factor de transcripción, SREBP-1c, pertenece a una familia de proteínas que comprende tres miembros con funciones muy relacionadas con el metabolismo de colesterol y ácidos grasos. El factor de transcripción inactivo es un dominio de una proteína más grande anclada en la membrana del retículo endoplásmico. SREBP-1c regula positivamente la transcripción de genes que codifican importantes proteínas de la síntesis de ácidos grasos y triacilglicerol: la ya mencionada acetil CoA carboxilasa y la sintasa de ácidos grasos, así como la estearil CoA deshidrogenasa (41, 42). La regulación de SREBP-1c es compleja, puesto que involucra tanto la regulación transcripcional como el procesamiento proteolítico de la proteína anclada a la membrana del retículo, siendo ambos procesos inducidos por insulina (42).

La comparación de los ratones deficientes en el receptor de insulina hepático (LIRKO) con pacientes de diabetes o con los modelos murinos de la enfermedad demostró que, aunque la gluconeogénesis y de la síntesis de lípidos son regulados por insulina, la regulación de ambos es independiente a partir de un cierto punto. En los ratones LIRKO, como consecuencia de la ausencia del receptor, no se produce ni la fosforilación de FoxO1 ni la activación de SREBP-1c. Como resultado la insulina no es capaz ni de inhibir la gluconeogénesis ni de activar la síntesis de triacilglicerol. Así, los ratones presentan hiperglucemia e hiperinsulinemia, pero no triacilglicerol aumentados (43, 44). Por el contrario en los pacientes de diabetes, y en los modelos murinos de la misma, la resistencia a insulina se manifiesta de forma parcial, inactivándose el bloqueo de FoxO1 y de la gluconeogénesis sin modificar la inducción de la síntesis de lípidos por SREBP-1c (Figura 4b) (45). Por tanto, los diabéticos tipo 2 presentan hiperlipidemia, además de la hiperglucemia e hiperinsulinemia característica de los ratones LIRKO. Paradójicamente, este fenómeno de resistencia parcial a la insulina da lugar a un fenotipo mucho más grave que la resistencia total desarrollada por los ratones LIRKO (46).

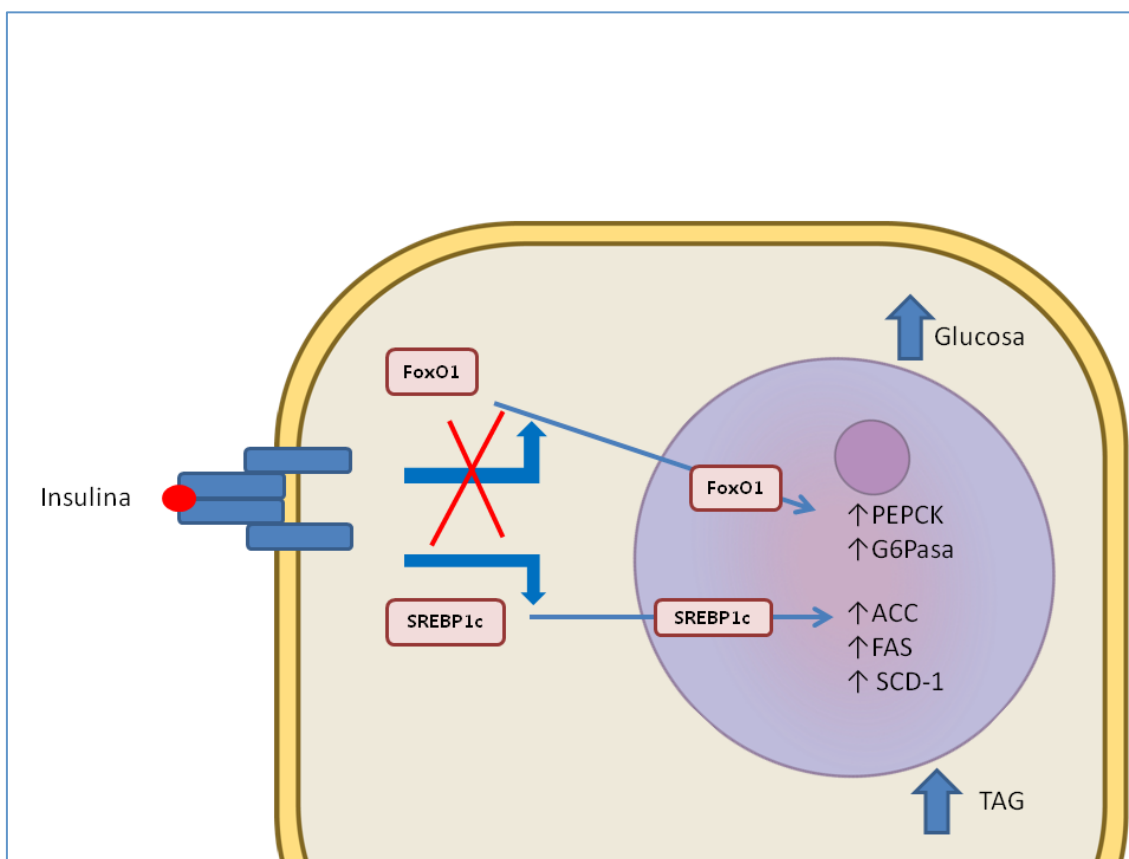


Figura 4b.- En el hígado diabético se produce un bloqueo en el control de la gluconeogénesis por insulina que no afecta a la inducción de la síntesis de ácidos grasos y triacilglicerol. Adaptado de (46).

El punto en donde se produce la bifurcación de la regulación de FoxO1 y SREBP-1c ha sido identificado recientemente. Mientras que FoxO1 es un sustrato directo de Akt (revisado en (47)), la inducción de SREBP-1c por insulina, aunque también dependiente de Akt, requiere asimismo la participación del complejo mTORC1. De hecho, la rapamicina, inhibidor específico del complejo mTORC1- y de quien este recibe su nombre- es capaz de bloquear selectivamente la inducción de SREBP-1c por insulina (48). Este mecanismo proporciona además nexos de unión con otras situaciones metabólicas, puesto que se ha determinado de mTORC1 podría estar ligado a la obesidad a través de un mecanismo de estabilización en el que participa Notch (49). De la misma forma que la entrada de glucosa en el músculo, la actividad de SREBP-1c está sometida a regulación por la proteína quinasa dependiente de AMP, lo que de nuevo podría establecer una relación entre el ejercicio y la disminución de la resistencia hepática a insulina (50).

MECANISMOS DE RESISTENCIA A INSULINA MEDIADA POR LÍPIDOS

La identificación del tipo de lípidos responsables de la resistencia a insulina en el músculo ha sido un objeto de investigación muy activo en los últimos años. El hecho de que constituyan los principales componentes de los depósitos

intracelulares de lípidos, podría señalar a los triacilgliceroles como los principales responsables. Sin embargo, los ratones que sobreexpresan diacilglicerol acil transferasa 1, el enzima que convierte diacilgliceroles en triacilgliceroles, presentan niveles de triacilgliceroles en músculo mucho más elevados sin alterar la sensibilidad a la insulina (51). Por su parte, en humanos es conocida la existencia de grandes depósitos de triacilgliceroles en los músculos de atletas entrenados, que son sujetos caracterizados por poseer una gran sensibilidad a insulina (52).

La utilización de animales modificados genéticamente ha permitido reconocer el papel de muchos de los enzimas del transporte, síntesis y degradación de lípidos en la aparición de la resistencia (para una discusión más detallada ver (53)), lo que ha llevado a identificar a los diacilgliceroles y las ceramidas como principales lípidos responsables de la resistencia, aunque el papel de éstas últimas podría depender de la presencia de grasas saturadas (54).

Los mecanismos de inhibición de la señalización por diacilgliceroles parecen estar mediados por quinasas de la familia PKC. Estudios iniciales demostraron que el acetato de forbol, un conocido activador de PKC, es capaz de producir resistencia a insulina (55). La participación de PKC está apoyada por la existencia de una activación crónica de PKC en modelos murinos de diabetes (56). Sin embargo, la resistencia a insulina no parece ser la consecuencia de la activación de un solo tipo de PKC. En el músculo, la infusión de lípidos con heparina, provoca un aumento de diacilgliceroles intramusculares y un bloqueo de la señalización por insulina asociada a la activación de PKC θ (57). Esto estaría de acuerdo con el hecho de que ratones deficientes en PKC θ están protegidos de la resistencia a insulina muscular inducida por este mismo mecanismo (58). Sin embargo, tras 14 semanas de alimentación rica en grasas, estos ratones presentan acumulación de lípidos en hígado, músculo y tejido adiposo, acompañados de la resistencia correspondiente (59). A la explicación de este fenómeno podría contribuir la existencia de al menos otros dos miembros de la familia PKC involucrados en las interferencias producidas por diacilgliceroles en el hígado. La resistencia a insulina hepática está asociada de forma específica a la activación de PKC ϵ y los ratones deficientes no desarrollan resistencia a insulina como consecuencia de dieta rica en grasa, a pesar de desarrollar esteatosis hepática (60). A este efecto podría sumarse la resistencia hepática mediada por PKC δ . La activación de esta por una infusión de lípidos e insulina va acompañada de la activación de IKK- β , algo que podría conectar la resistencia a insulina con el fondo proinflamatorio que acompaña a la hiperlipidemia crónica (61). Asimismo, el estado proinflamatorio que acompaña a la obesidad podría estar conectado a la resistencia a través de la inducción de PKC ζ por ceramidas, de acuerdo a un mecanismo en que podrían participar los ácidos grasos saturados como posibles ligandos del receptor TLR4 (62). Por otra parte,

las ceramidas podrían activar la proteína fosfatasa PP2A, que interrumpiría la vía desfosforilando Akt (63) (Figura 5).

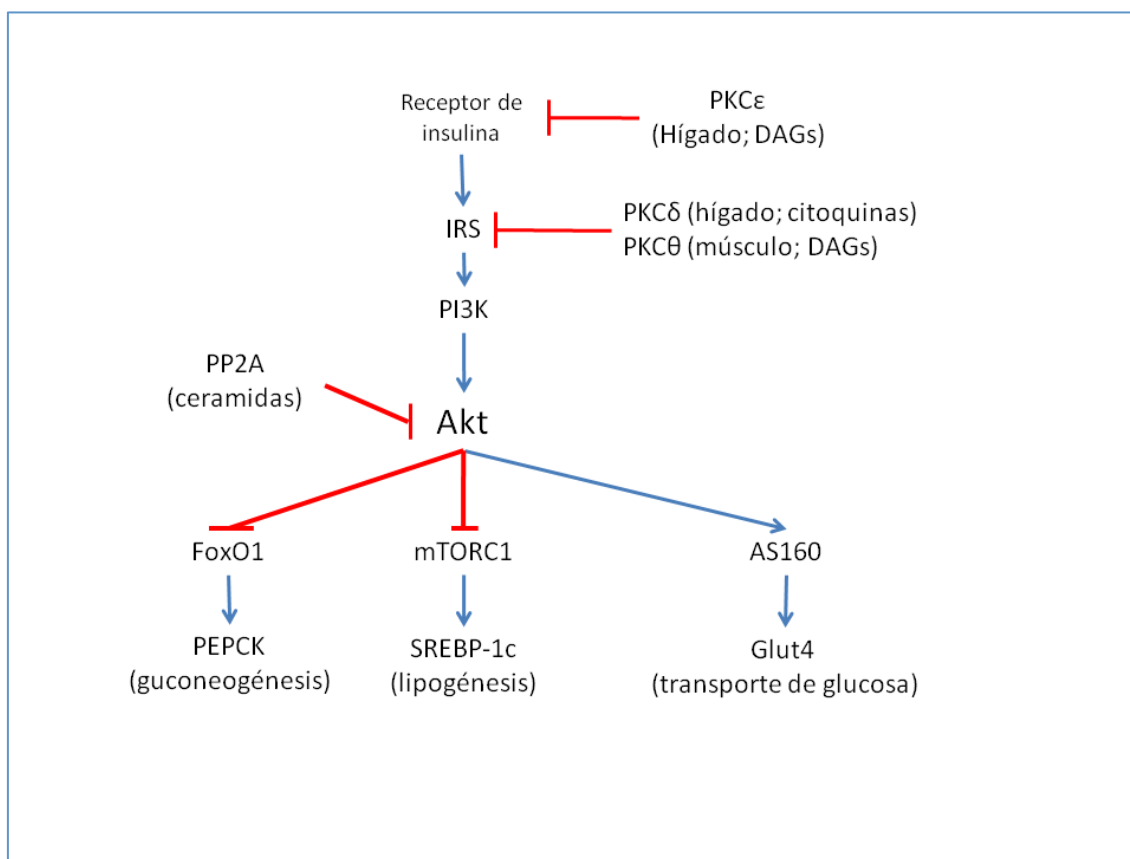


Figura 5.- Esquema de las principales vías de regulación que participan en la resistencia a insulina y principales puntos de inhibición por diacilgliceroles, ceramidas y citoquinas pro-inflamatorias por lípidos. Para una explicación más detallada del mecanismo consultar el texto.

El mecanismo concreto mediante el cual las quinasas de la familia PKC bloquean la señalización por insulina no está totalmente establecido. Existe un consenso en que la fosforilación de componentes de la ruta podría ser la causante del bloqueo, aunque los puntos concretos en que se produce están por determinar. El receptor de insulina, una posible diana, posee varios posibles sitios de fosforilación por PKC, lo que sugiere un mecanismo de bloqueo de la señal. En el hígado de rata, PKCε y el receptor de insulina se encuentran muy próximos y la resistencia podría ser el resultado de su interacción directa. No obstante, el análisis de biopsias de músculo de pacientes diabéticos no ha podido demostrar esta fosforilación *in vivo* (64). Se ha propuesto también que la fosforilación de la Ser 1101 de IRS-1 por parte de PKCθ, podría impedir su fosforilación por el propio receptor (65). En el caso de la inducción de PKCζ por ceramidas, se sabe que PKCζ y la isoforma de Akt más abundante en hígado, Akt2, son capaces de interactuar. Siguiendo un mecanismo parecido a los mencionados para el receptor e IRS-1, la fosforilación de Akt por PKCζ podría impedir su activación por PDK1 (66) (Figura 5).

LA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DE SREBP- 1C COMO DIANA TERAPEÚTICA

De acuerdo con el modelo mostrado en la Figura 3, la diabetes es la consecuencia del círculo vicioso que forman la sobreproducción de lípidos en el hígado y la sobreproducción de insulina por el páncreas. Siguiendo este razonamiento, la reducción de la síntesis hepática de ácidos grasos podría ayudar a revertir el proceso y aumentar la sensibilidad a insulina. Si además se considera la importancia en la síntesis de grasos de la regulación transcripcional por SREBP-1c, tanto la disminución de la síntesis o activación de este podría resultar efectiva en el tratamiento de la diabetes.

Se conocen diversos ejemplos de compuestos que son capaces de inhibir la expresión de SREBP-1c, entre ellos algunos productos naturales presentes en la uva o en el aceite de pescado (72, 73). Algún fármaco antidiabético, como la metformina, posee también este efecto, al igual que AICAR, un inhibidor de la proteína quinasa dependiente de AMP, aunque al poseer ambos este último efecto, es difícil atribuir el efecto antidiabético exclusivamente a la regulación de SREBP-1c (50).

Los receptores nucleares pueden desempeñar un papel importante en la regulación de los procesos que conducen a la resistencia a insulina y, de hecho, algunos de sus ligandos se utilizan para el tratamiento de la diabetes. Desde hace bastante tiempo se conoce el efecto diabetógeno de los glucocorticoides, cuyo receptor disminuye la secreción de insulina por el páncreas, así como la síntesis de componentes esenciales de la cascada de señalización (67). Asimismo, los receptores de oxisteroles (LXR) favorecen la formación de hígado graso no alcohólico, probablemente vía un aumento de la expresión de SREBP-1c (68). Paradójicamente, algunos agonistas sintéticos de LXR pueden tener efecto antidiabético, un efecto que se ha atribuido a un aumento de la expresión de Glut4 en los tejidos periféricos(69). Por el contrario, los fibratos y las tiazolidinodionas, agonistas de PPAR alfa y gamma respectivamente, tienen un efecto beneficioso sobre la sensibilidad a insulina y son ampliamente utilizados en clínica (70, 71). Aunque en muchos casos solamente se conoce el efecto de los receptores nucleares en los modelos murinos, su acción se mantiene en aquellos que ya han sido trasladados a modelos humanos (Tabla 1).

Tabla 1.- Efectos conocidos de receptores nucleares sobre la resistencia a insulina. +, evidencia de efectos antidiabéticos; - evidencia de efectos prodiabéticos. ?. No hay evidencia o la existente no es concluyente. Adaptado de (69).

Receptor nuclear	Modelos murinos	Pruebas en pacientes
GR	-	-
LXR α/β	+/-	?
FXR	+/-	+/?
PPAR $\alpha/\gamma/\delta$	+/+/+	+/+/?
ER β	+	+
CAR	+	+
HNF4- α	+	+
VDR	+	?
TR β	+	?
NR4A1-3	+	?
NR5A2 (LRH-1)	+	?

Aunque el efecto de los receptores nucleares sobre la expresión de SREBP-1c es conocido desde hace tiempo, la utilización terapéutica de ligandos de receptores nucleares con el objetivo específico de disminuirla es relativamente reciente. La disminución de SREBP-1c podría explicar la sensibilización a insulina obtenida tras tratamiento con agonistas de CAR(74) y NR5A2(75). La activación de ambos receptores nucleares reprime la expresión de SREBP-1c, y por lo tanto de sus dianas lipogénicas. Al menos en el caso de CAR, la reducción en la síntesis de ácidos grasos vendría acompañada de un aumento de la degradación de los mismos presumiblemente a través de la disminución de la síntesis de malonil CoA. Algunos de estos compuestos, como el DLPC, un fosfolípido natural ligando de NR5A2, que están siendo ensayados para su aplicación en clínica (76), podrían abrir una nueva vía (Figura 6) para el tratamiento de la resistencia a insulina y la diabetes tipo 2.

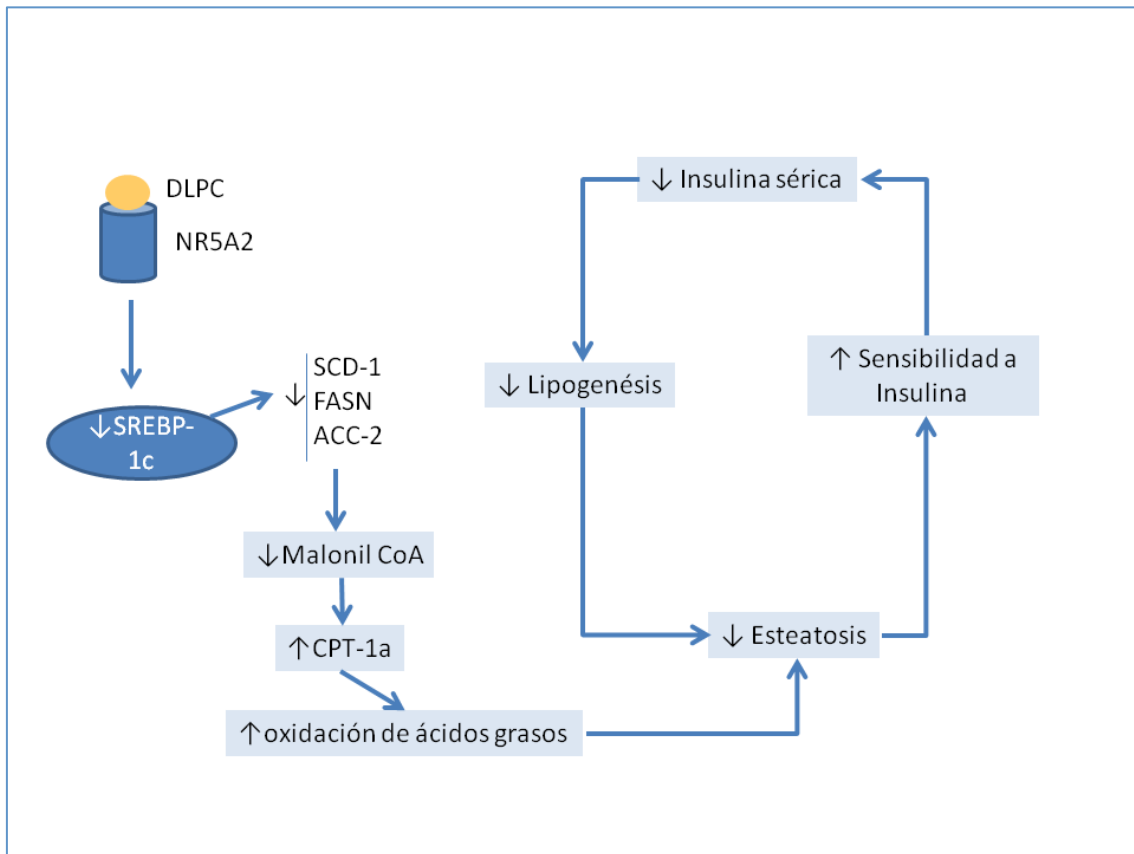


Figura 6.- Ejemplo de posible aplicación de los ligandos de receptores nucleares al tratamiento de la resistencia a insulina y la diabetes tipo 2. El fosfolípido DLPC (dilauroil-fosfatidil colina) funciona como ligando del receptor nuclear NR5A2. Al unirse a su receptor regulará negativamente la expresión del gen que codifica SREBP-1c, lo que producirá a su vez una disminución de la expresión de los genes que codifican los enzimas de la síntesis de lípidos. Al disminuir la expresión de acetil CoA carboxilasa, disminuirá la síntesis de malonil coA y eso permitirá una mayor entrada de ácidos grasos a la mitocondria para su degradación. La conjunción de una menor síntesis y una mayor degradación hará que disminuyan los lípidos intracelulares y como consecuencia la resistencia a insulina. Se revertiría así el círculo vicioso descrito en la figura 3. Adaptado de (69).

REFERENCIAS

1. Hossain, P., Kavar, B., and El Nahas, M. 2007. Obesity and diabetes in the developing world--a growing challenge. *N Engl J Med* 356:213-215.
2. Weyer, C., Bogardus, C., Mott, D.M., and Pratley, R.E. 1999. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 104:787-794.
3. Polonsky, K.S. 2012. The past 200 years in diabetes. *N Engl J Med* 367:1332-1340.
4. McGarry, J.D. 1992. What if Minkowski had been ageusic? An alternative angle on diabetes. *Science* 258:766-770.
5. Krssak, M., Falk Petersen, K., Dresner, A., DiPietro, L., Vogel, S.M., Rothman, D.L., Roden, M., and Shulman, G.I. 1999. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 42:113-116.
6. Fabbrini, E., Magkos, F., Mohammed, B.S., Pietka, T., Abumrad, N.A., Patterson, B.W., Okunade, A., and Klein, S. 2009. Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:15430-15435.

7. Randle, P.J., Garland, P.B., Hales, C.N., and Newsholme, E.A. 1963. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1:785-789.
8. Hue, L., and Taegtmeyer, H. 2009. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 297:E578-591.
9. Jucker, B.M., Rennings, A.J., Cline, G.W., and Shulman, G.I. 1997. ¹³C and ³¹P NMR studies on the effects of increased plasma free fatty acids on intramuscular glucose metabolism in the awake rat. *J Biol Chem* 272:10464-10473.
10. Saha, A.K., Schwarsin, A.J., Roudit, R., Masse, F., Kaushik, V., Tornheim, K., Prentki, M., and Ruderman, N.B. 2000. Activation of malonyl-CoA decarboxylase in rat skeletal muscle by contraction and the AMP-activated protein kinase activator 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta -D-ribofuranoside. *J Biol Chem* 275:24279-24283.
11. Riancho, J.A., Vazquez, L., Garcia-Perez, M.A., Sainz, J., Olmos, J.M., Hernandez, J.L., Perez-Lopez, J., Amado, J.A., Zarrabeitia, M.T., Cano, A., et al. 2011. Association of ACACB polymorphisms with obesity and diabetes. *Mol Genet Metab* 104:670-676.
12. McGarry, J.D. 2002. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 51:7-18.
13. Rothman, D.L., Magnusson, I., Cline, G., Gerard, D., Kahn, C.R., Shulman, R.G., and Shulman, G.I. 1995. Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:983-987.
14. Rothman, D.L., Shulman, R.G., and Shulman, G.I. 1992. ³¹P nuclear magnetic resonance measurements of muscle glucose-6-phosphate. Evidence for reduced insulin-dependent muscle glucose transport or phosphorylation activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 89:1069-1075.
15. Shulman, G.I., Rothman, D.L., Jue, T., Stein, P., DeFronzo, R.A., and Shulman, R.G. 1990. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 322:223-228.
16. Brechtel, K., Dahl, D.B., Machann, J., Bachmann, O.P., Wenzel, I., Maier, T., Claussen, C.D., Haring, H.U., Jacob, S., and Schick, F. 2001. Fast elevation of the intramyocellular lipid content in the presence of circulating free fatty acids and hyperinsulinemia: a dynamic ¹H-MRS study. *Magn Reson Med* 45:179-183.
17. Roden, M., Price, T.B., Perseghin, G., Petersen, K.F., Rothman, D.L., Cline, G.W., and Shulman, G.I. 1996. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest* 97:2859-2865.
18. Cline, G.W., Petersen, K.F., Krssak, M., Shen, J., Hundal, R.S., Trajanoski, Z., Inzucchi, S., Dresner, A., Rothman, D.L., and Shulman, G.I. 1999. Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 341:240-246.
19. McCarthy, M.I. 2010. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N Engl J Med* 363:2339-2350.
20. Watson, R.T., and Pessin, J.E. 2006. Bridging the GAP between insulin signaling and GLUT4 translocation. *Trends Biochem Sci* 31:215-222.
21. Watson, R.T., Kanzaki, M., and Pessin, J.E. 2004. Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes. *Endocr Rev* 25:177-204.
22. Sun, X.J., Rothenberg, P., Kahn, C.R., Backer, J.M., Araki, E., Wilden, P.A., Cahill, D.A., Goldstein, B.J., and White, M.F. 1991. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature* 352:73-77.
23. White, M.F. 2002. IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283:E413-422.

24. Withers, D.J., Gutierrez, J.S., Towery, H., Burks, D.J., Ren, J.M., Previs, S., Zhang, Y., Bernal, D., Pons, S., Shulman, G.I., et al. 1998. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 391:900-904.
25. Cantley, L.C. 2002. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 296:1655-1657.
26. Manning, B.D., and Cantley, L.C. 2007. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 129:1261-1274.
27. Wasserman, D.H., Kang, L., Ayala, J.E., Fueger, P.T., and Lee-Young, R.S. 2011. The physiological regulation of glucose flux into muscle in vivo. *J Exp Biol* 214:254-262.
28. Slot, J.W., Geuze, H.J., Gigengack, S., James, D.E., and Lienhard, G.E. 1991. Translocation of the glucose transporter GLUT4 in cardiac myocytes of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:7815-7819.
29. Slot, J.W., Geuze, H.J., Gigengack, S., Lienhard, G.E., and James, D.E. 1991. Immunolocalization of the insulin regulatable glucose transporter in brown adipose tissue of the rat. *J Cell Biol* 113:123-135.
30. Ramm, G., Slot, J.W., James, D.E., and Stoorvogel, W. 2000. Insulin recruits GLUT4 from specialized VAMP2-carrying vesicles as well as from the dynamic endosomal/trans-Golgi network in rat adipocytes. *Mol Biol Cell* 11:4079-4091.
31. Holman, G.D., Lo Leggio, L., and Cushman, S.W. 1994. Insulin-stimulated GLUT4 glucose transporter recycling. A problem in membrane protein subcellular trafficking through multiple pools. *J Biol Chem* 269:17516-17524.
32. Cain, C.C., Trimble, W.S., and Lienhard, G.E. 1992. Members of the VAMP family of synaptic vesicle proteins are components of glucose transporter-containing vesicles from rat adipocytes. *J Biol Chem* 267:11681-11684.
33. Kane, S., Sano, H., Liu, S.C., Asara, J.M., Lane, W.S., Garner, C.C., and Lienhard, G.E. 2002. A method to identify serine kinase substrates. Akt phosphorylates a novel adipocyte protein with a Rab GTPase-activating protein (GAP) domain. *J Biol Chem* 277:22115-22118.
34. Zeigerer, A., McBrayer, M.K., and McGraw, T.E. 2004. Insulin stimulation of GLUT4 exocytosis, but not its inhibition of endocytosis, is dependent on RabGAP AS160. *Mol Biol Cell* 15:4406-4415.
35. Larance, M., Ramm, G., Stockli, J., van Dam, E.M., Winata, S., Wasinger, V., Simpson, F., Graham, M., Junutula, J.R., Guilhaus, M., et al. 2005. Characterization of the role of the Rab GTPase-activating protein AS160 in insulin-regulated GLUT4 trafficking. *J Biol Chem* 280:37803-37813.
36. Yeagley, D., Guo, S., Unterman, T., and Quinn, P.G. 2001. Gene- and activation-specific mechanisms for insulin inhibition of basal and glucocorticoid-induced insulin-like growth factor binding protein-1 and phosphoenolpyruvate carboxykinase transcription. Roles of forkhead and insulin response sequences. *J Biol Chem* 276:33705-33710.
37. Ayala, J.E., Streeper, R.S., Desgrosellier, J.S., Durham, S.K., Suwanichkul, A., Svitek, C.A., Goldman, J.K., Barr, F.G., Powell, D.R., and O'Brien, R.M. 1999. Conservation of an insulin response unit between mouse and human glucose-6-phosphatase catalytic subunit gene promoters: transcription factor FKHR binds the insulin response sequence. *Diabetes* 48:1885-1889.
38. Nakae, J., Biggs, W.H., 3rd, Kitamura, T., Cavenee, W.K., Wright, C.V., Arden, K.C., and Accili, D. 2002. Regulation of insulin action and pancreatic beta-cell function by mutated alleles of the gene encoding forkhead transcription factor Foxo1. *Nat Genet* 32:245-253.
39. Puigserver, P., Rhee, J., Donovan, J., Walkey, C.J., Yoon, J.C., Oriente, F., Kitamura, Y., Altomonte, J., Dong, H., Accili, D., et al. 2003. Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through FOXO1-PGC-1alpha interaction. *Nature* 423:550-555.
40. Matsumoto, M., Han, S., Kitamura, T., and Accili, D. 2006. Dual role of transcription factor FoxO1 in controlling hepatic insulin sensitivity and lipid metabolism. *J Clin Invest* 116:2464-2472.

41. Brown, M.S., and Goldstein, J.L. 1997. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 89:331-340.
42. Horton, J.D., Goldstein, J.L., and Brown, M.S. 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 109:1125-1131.
43. Biddinger, S.B., Hernandez-Ono, A., Rask-Madsen, C., Haas, J.T., Aleman, J.O., Suzuki, R., Scapa, E.F., Agarwal, C., Carey, M.C., Stephanopoulos, G., et al. 2008. Hepatic insulin resistance is sufficient to produce dyslipidemia and susceptibility to atherosclerosis. *Cell Metab* 7:125-134.
44. Michael, M.D., Kulkarni, R.N., Postic, C., Previs, S.F., Shulman, G.I., Magnuson, M.A., and Kahn, C.R. 2000. Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. *Mol Cell* 6:87-97.
45. Shimomura, I., Matsuda, M., Hammer, R.E., Bashmakov, Y., Brown, M.S., and Goldstein, J.L. 2000. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice. *Mol Cell* 6:77-86.
46. Brown, M.S., and Goldstein, J.L. 2008. Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell Metab* 7:95-96.
47. Tran, H., Brunet, A., Griffith, E.C., and Greenberg, M.E. 2003. The many forks in FOXO's road. *Sci STKE* 2003:RE5.
48. Li, S., Brown, M.S., and Goldstein, J.L. 2010. Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:3441-3446.
49. Pajvani, U.B., Qiang, L., Kangsamaksin, T., Kitajewski, J., Ginsberg, H.N., and Accili, D. 2013. Inhibition of Notch uncouples Akt activation from hepatic lipid accumulation by decreasing mTorc1 stability. *Nat Med* 19:1054-1060.
50. Li, Y., Xu, S., Mihaylova, M.M., Zheng, B., Hou, X., Jiang, B., Park, O., Luo, Z., Lefai, E., Shyy, J.Y., et al. 2011. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metab* 13:376-388.
51. Liu, L., Zhang, Y., Chen, N., Shi, X., Tsang, B., and Yu, Y.H. 2007. Upregulation of myocellular DGAT1 augments triglyceride synthesis in skeletal muscle and protects against fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 117:1679-1689.
52. Goodpaster, B.H., He, J., Watkins, S., and Kelley, D.E. 2001. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5755-5761.
53. Samuel, V.T., and Shulman, G.I. 2012. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 148:852-871.
54. Holland, W.L., Brozinick, J.T., Wang, L.P., Hawkins, E.D., Sargent, K.M., Liu, Y., Narra, K., Hoehn, K.L., Knotts, T.A., Siesky, A., et al. 2007. Inhibition of ceramide synthesis ameliorates glucocorticoid-, saturated-fat-, and obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab* 5:167-179.
55. Haring, H., Kirsch, D., Obermaier, B., Ermel, B., and Machicao, F. 1986. Tumor-promoting phorbol esters increase the Km of the ATP-binding site of the insulin receptor kinase from rat adipocytes. *J Biol Chem* 261:3869-3875.
56. Avignon, A., Yamada, K., Zhou, X., Spencer, B., Cardona, O., Saba-Siddique, S., Galloway, L., Standaert, M.L., and Farese, R.V. 1996. Chronic activation of protein kinase C in soleus muscles and other tissues of insulin-resistant type II diabetic Goto-Kakizaki (GK), obese/aged, and obese/Zucker rats. A mechanism for inhibiting glycogen synthesis. *Diabetes* 45:1396-1404.
57. Griffin, M.E., Marcucci, M.J., Cline, G.W., Bell, K., Barucci, N., Lee, D., Goodyear, L.J., Kraegen, E.W., White, M.F., and Shulman, G.I. 1999. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 48:1270-1274.

58. Kim, J.K., Fillmore, J.J., Sunshine, M.J., Albrecht, B., Higashimori, T., Kim, D.W., Liu, Z.X., Soos, T.J., Cline, G.W., O'Brien, W.R., et al. 2004. PKC-theta knockout mice are protected from fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 114:823-827.
59. Gao, Z., Wang, Z., Zhang, X., Butler, A.A., Zuberi, A., Gawronska-Kozak, B., Lefevre, M., York, D., Ravussin, E., Berthoud, H.R., et al. 2007. Inactivation of PKCtheta leads to increased susceptibility to obesity and dietary insulin resistance in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292:E84-91.
60. Raddatz, K., Turner, N., Frangioudakis, G., Liao, B.M., Pedersen, D.J., Cantley, J., Wilks, D., Preston, E., Hegarty, B.D., Leitges, M., et al. 2011. Time-dependent effects of Prkce deletion on glucose homeostasis and hepatic lipid metabolism on dietary lipid oversupply in mice. *Diabetologia* 54:1447-1456.
61. Boden, G., She, P., Mozzoli, M., Cheung, P., Gumireddy, K., Reddy, P., Xiang, X., Luo, Z., and Ruderman, N. 2005. Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor-kappaB pathway in rat liver. *Diabetes* 54:3458-3465.
62. Shi, H., Kokoeva, M.V., Inouye, K., Tzameli, I., Yin, H., and Flier, J.S. 2006. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 116:3015-3025.
63. Teruel, T., Hernandez, R., and Lorenzo, M. 2001. Ceramide mediates insulin resistance by tumor necrosis factor-alpha in brown adipocytes by maintaining Akt in an inactive dephosphorylated state. *Diabetes* 50:2563-2571.
64. Kellerer, M., Coghlan, M., Capp, E., Muhlhofer, A., Kroder, G., Mosthaf, L., Galante, P., Siddle, K., and Haring, H.U. 1995. Mechanism of insulin receptor kinase inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. Phosphorylation of serine 1327 or threonine 1348 is unaltered. *J Clin Invest* 96:6-11.
65. Li, Y., Soos, T.J., Li, X., Wu, J., Degennaro, M., Sun, X., Littman, D.R., Birnbaum, M.J., and Polakiewicz, R.D. 2004. Protein kinase C Theta inhibits insulin signaling by phosphorylating IRS1 at Ser(1101). *J Biol Chem* 279:45304-45307.
66. Powell, D.J., Hajduch, E., Kular, G., and Hundal, H.S. 2003. Ceramide disables 3-phosphoinositide binding to the pleckstrin homology domain of protein kinase B (PKB)/Akt by a PKCzeta-dependent mechanism. *Mol Cell Biol* 23:7794-7808.
67. Rose, A.J., Vegiopoulos, A., and Herzig, S. 2010. Role of glucocorticoids and the glucocorticoid receptor in metabolism: insights from genetic manipulations. *J Steroid Biochem Mol Biol* 122:10-20.
68. Higuchi, N., Kato, M., Shundo, Y., Tajiri, H., Tanaka, M., Yamashita, N., Kohjima, M., Kotoh, K., Nakamuta, M., Takayanagi, R., et al. 2008. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 38:1122-1129.
69. Moore, D.D. 2012. Nuclear receptors reverse McGarry's vicious cycle to insulin resistance. *Cell Metab* 15:615-622.
70. Lalloyer, F., and Staels, B. 2010. Fibrates, glitazones, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30:894-899.
71. Lehrke, M., and Lazar, M.A. 2005. The many faces of PPARgamma. *Cell* 123:993-999.
72. Del Bas, J.M., Ricketts, M.L., Baiges, I., Quesada, H., Ardevol, A., Salvado, M.J., Pujadas, G., Blay, M., Arola, L., Blade, C., et al. 2008. Dietary procyanidins lower triglyceride levels signaling through the nuclear receptor small heterodimer partner. *Mol Nutr Food Res* 52:1172-1181.
73. Kim, H.J., Takahashi, M., and Ezaki, O. 1999. Fish oil feeding decreases mature sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1) by down-regulation of SREBP-1c mRNA in mouse liver. A possible mechanism for down-regulation of lipogenic enzyme mRNAs. *J Biol Chem* 274:25892-25898.

74. Dong, B., Saha, P.K., Huang, W., Chen, W., Abu-Elheiga, L.A., Wakil, S.J., Stevens, R.D., Ilkayeva, O., Newgard, C.B., Chan, L., et al. 2009. Activation of nuclear receptor CAR ameliorates diabetes and fatty liver disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:18831-18836.
75. Lee, J.M., Lee, Y.K., Mamrosh, J.L., Busby, S.A., Griffin, P.R., Pathak, M.C., Ortlund, E.A., and Moore, D.D. 2011. A nuclear-receptor-dependent phosphatidylcholine pathway with antidiabetic effects. *Nature* 474:506-510.
76. Anstee, Q.M., and Day, C.P. 2012. A lipid to treat non-alcoholic fatty liver disease - the dawn of 'lipo-rehabilitation'? *J Hepatol* 56:987-989.

Regulación de la neurotransmisión glicinérgica en procesos de dolor inflamatorio: una nueva vía de acción de la prostaglandina E2 en médula espinal

Jaime de Juan-Sanz, Enrique Núñez, Beatriz López-Corcuera, Carmen Aragón

Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), ISCIII, Madrid, España. Instituto de investigación Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ), Madrid, España.
e-mail: jdejuan@cbm.uam.es

Premio Abelló del Concurso Científico 2012 de la Real Academia Nacional de Farmacia. An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 3 (2013), pag. 434-449.

RESUMEN

La acción de la glicina como neurotransmisor inhibitor es finalizada por su recaptación del espacio sináptico a través de dos transportadores específicos, GlyT1 (isoforma glial) y GlyT2 (isoforma neuronal). En este trabajo describimos un mecanismo mediante el cual la unión de la prostaglandina E2 (un importante mediador del dolor inflamatorio) a sus receptores EP3 activa la recaptación de glicina llevada a cabo por GlyT2. Esta activación coincide con una disminución de la ubiquitinación del transportador, modificación post-traducciona necesaria para su correcto tráfico intracelular. Una menor ubiquitinación de GlyT2 produce una acumulación del transportador en la superficie neuronal, lo que explica la activación observada. Por tanto, los resultados de este trabajo sugieren que GlyT2 es una interesante diana terapéutica cuya inhibición podría contribuir a la reducción del dolor inflamatorio.

Palabras clave: Neurotransmisión glicinérgica, Prostaglandina E2, Ubiquitinación.

ABSTRACT

Regulation of the glycinergic neurotransmission during inflammatory pain: A new pathway in the action of Prostaglandin E2 in the spinal cord

Glycinergic inhibitory neurotransmission is terminated by reuptake through specific transporters, GlyT1 (glial isoform) and GlyT2 (neuronal isoform). In this work we describe that Prostaglandin E2 (PGE2, an important mediator of inflammatory pain) activates GlyT2-mediated recapture of glycine via interaction with the EP3 receptor. Moreover, in these conditions a diminished ubiquitination of GlyT2 is observed. Ubiquitination is an important modification for the correct trafficking of this transporter. We propose that the reduction of ubiquitination leads to accumulate GlyT2 in the neuronal surface, which could explain the PGE2-mediated activation of GlyT2. Therefore, our results suggest that GlyT2 is an interesting therapeutic target and its inhibition could contribute to reduce inflammatory pain.

Keywords: Glycinergic neurotransmission, Prostaglandin E2, Ubiquitination.

1. INTRODUCCIÓN

Las vías aferentes sensitivas tienen la capacidad de transmitir al cerebro sensación de dolor en respuesta a estímulos que potencialmente pueden producir daños en los tejidos del cuerpo. Estas vías, llamadas vías nociceptivas, se componen de fibras nerviosas que poseen un diámetro reducido, están frecuentemente demielinizadas y conectan los tejidos periféricos con el sistema nervioso central (SNC). En el tejido periférico se encuentran las terminaciones de las neuronas nociceptoras, que se pueden activar al recibir un estímulo potencialmente dañino generando un potencial de membrana que es transmitido a lo largo de la neurona hasta llegar a las astas dorsales de la médula espinal. Ahí se forman contactos sinápticos locales con interneuronas excitadoras e inhibitoras, y con proyecciones neuronales provenientes de las áreas superiores del SNC mediante las cuales se transmite la información al cerebro. Esta red de contactos locales en la médula es un primer punto de control de la transmisión del dolor, pudiendo favorecer o no la propagación de este. Es lo que se ha denominado Compuerta Espinal en la teoría de la Compuerta o Puerta de Entrada propuesta por Melzack y Wall en 1965 (1).

Las interneuronas inhibitoras que forman estos contactos locales en la Compuerta Espinal utilizan dos tipos de neurotransmisores: el ácido gamma-aminobutírico (GABA) y la glicina. De los dos, la glicina se ha propuesto como el principal neurotransmisor inhibitor en áreas caudales del SNC, estando muy implicada en el procesamiento de la información sensorial (2). Así, el mecanismo de acción de la glicina en la médula espinal se lleva a cabo mediante la liberación

del neurotransmisor al espacio sináptico y la posterior unión a su receptor, GlyR, en la postsinapsis, produciendo la entrada de iones cloruro que inhiben la posible excitación de la neurona postsináptica. Esta inhibición es finalizada gracias a la recaptación de la glicina del espacio sináptico por dos transportadores específicos, GlyT1 (isoforma glial) y GlyT2 (isoforma neuronal) (3). GlyT2 tiene además la función de recapturar glicina hacia el terminal presináptico para facilitar su reincorporación de nuevo a vesículas sinápticas, ayudando a preservar su contenido cuántico y permitiendo de este modo su reutilización (4).

Este tipo de neurotransmisión inhibitoria es regulada por procesos de ubiquitinación, un mecanismo por el cual se adiciona una o varias moléculas de ubiquitina a una proteína modificando su endocitosis, compartimentalización o degradación, siendo un proceso que globalmente puede regular importantes funciones celulares (5). De este modo, se ha demostrado que la ubiquitinación puede modificar la neurotransmisión glicinérgica regulando el tráfico del receptor de glicina GlyR (6) y de los transportadores específicos GlyT1 (7) y GlyT2 (8). En estos últimos se ha demostrado que se produce una ubiquitinación específica de la última lisina del extremo carboxilo terminal (posición 619 para GlyT1, posición 791 para GlyT2) tras la activación de proteína kinasa C (PKC) por ésteres de forbol, como es el phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA). Esto induce la endocitosis de ambos transportadores, produciéndose por tanto una disminución de su función.

Otra característica que ha sido relacionada con la neurotransmisión glicinérgica es la transmisión de dolor. En este sentido, se han encontrado durante los últimos 10 años múltiples evidencias que relacionan situaciones de dolor inflamatorio con una disminución en la función de la neurotransmisión glicinérgica. Así, se ha confirmado que durante el dolor inflamatorio: 1) existe una apoptosis específica de interneuronas GABAérgicas y glicinérgicas (9-11); 2) en las neuronas que reciben terminales glicinérgicos se produce un aumento en la concentración intracelular de cloruro por inhibición del canal KCC-2 (mediada por la presencia de BDNF) (12, 13); y 3) existe una disminución de la neurotransmisión glicinérgica por la liberación de la prostaglandina E2 (PGE2) (14).

Las prostaglandinas están ampliamente implicadas en procesos de dolor. Son moléculas derivadas del ácido araquidónico (AA) que es liberado gracias a la activación de la fosfolipasa A2 durante procesos inflamatorios. El AA es transformado en los precursores de prostaglandinas PGG2 y PGH2 por las enzimas ciclooxigenasa 1 (COX-1, expresada constitutivamente) y ciclooxigenasa 2 (COX-2, de expresión inducible). Así, la inhibición farmacológica específica de COX-1 es utilizada a diario (con aspirina y fármacos relacionados) como un método analgésico que limita la producción de prostanoides.

En concreto, la producción y presencia de la Prostaglandina E2 (PGE2), que actúa a través de los receptores EP (EP1-4), se ha demostrado como un efector esencial del dolor inflamatorio mediante la generación de ratones deficientes en la principal enzima responsable de su síntesis, la Prostaglandina E Sintasa I microsomal (mPGE1). Los ratones mPGE1 (-/-) presentan niveles altamente reducidos de PGE2 junto a una menor inflamación y una respuesta claramente reducida en tests de dolor (15-17). PGE2 favorece por tanto la transmisión del dolor inflamatorio, y uno de los principales mecanismos responsables es la inhibición que produce sobre la neurotransmisión glicinérgica inhibitoria a nivel medular. La razón de esta inhibición parece deberse a las modificaciones que la presencia de PGE2 produce sobre el receptor de glicina (GlyR). En concreto, se ha descrito una disminución de la actividad de la subunidad GlyRa3 del receptor de glicina expresada en las capas más superficiales del asta dorsal de la médula espinal (18). Así, la PGE2 producida por mPGE1 activa a los receptores específicos EP2, que están acoplados a proteínas G estimuladoras (Gs) y producen un aumento del AMP cíclico (AMPC) intracelular. Esto desencadena la activación de la proteína quinasa A (PKA) que fosforila los receptores de glicina en la serina 346 de la subunidad GlyRa3, produciendo la inhibición del receptor y por tanto disminuyendo considerablemente la inhibición mediada por glicina (18-20).

En este trabajo proponemos un nuevo mecanismo mediante el cual PGE2 regula la neurotransmisión glicinérgica. Así, nuestros resultados demuestran una activación del transportador presináptico GlyT2 en presencia de PGE2 en sinaptosomas de tallo cerebral y médula espinal de rata de una manera dependiente del tiempo. Además, el uso de agonistas y compuestos farmacológicos selectivos sugiere la implicación de los receptores específicos EP3 en la transducción de esta señal. Así, el transporte de GlyT2 en presencia de Sulprostona (agonista de EP3, y en menor medida de EP1) y Beraprost (agonista de EP3) se activa de una manera similar a la activación producida por PGE2, mientras que Butaprost (agonista de EP2) o TCS250 (agonista de EP4) no producen variaciones. Además, nuestros resultados sugieren una activación de GlyT2 mediada por su desubiquitinación, una modificación implicada en su tráfico intracelular (8), que lo haría más estable en la membrana evitando su endocitosis y degradación, y aumentando el número de moléculas activas presentes en la superficie celular, lo que se traduce en una recaptación acelerada del neurotransmisor, y por tanto una disminución en la neurotransmisión glicinérgica. De esta manera, PGE2 aparece como un regulador que actúa de forma coordinada sobre las neuronas presinápticas y postsinápticas implicadas en la neurotransmisión glicinérgica, produciendo una inhibición de la acción de la glicina en la médula que facilita y promueve la transmisión del dolor hacia áreas superiores del SNC.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Las ratas tipo Wistar fueron mantenidas en condiciones estándar en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, siguiendo las pautas actuales en el uso de animales en la investigación en Neurociencia. La glicina tritiada ([³H]-glicina) se obtuvo en PerkinElmer Life Sciences y NFPS (inhibidor de GlyT1) y ALX-1393 (inhibidor de GlyT2) fueron adquiridos en Sigma-Aldrich. PGE2 y TCS250 se obtuvieron de Tocris Bioscience mientras que Beraprost, Butaprost y Sulprostona se obtuvieron de Cayman Chemical, de donde provienen también los anticuerpos específicos anti-EP1, EP2, EP3 y EP4. El anticuerpo para calnexina fue de Stressgen, anti-multi Ubiquitina unido a agarosa se obtuvo de MBL international y el anticuerpo anti GlyT2 fue producido en el laboratorio (3).

2. 1. Electroforesis y Western Blot

Tras medir la concentración de proteínas en las distintas muestras por el método de Bradford, estas fueron sometidas a electroforesis en un gel de SDS-PAGE utilizando geles concentrador (4%) y separador (7,5%). Las muestras fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa por electrotransferencia semiseca (Life Technologies, Inc.; 1,2 mA.cm⁻² 1 h), se bloquearon con leche 5% en PBS durante 1 h a temperatura ambiente y se incubaron con los distintos anticuerpos de interés a las concentraciones indicadas por los fabricantes, a 4°C durante la noche. Tras varios lavados, los anticuerpos unidos se detectaron con IgGs unidas a peroxidasa, específicas para la detección de la especie en la que se obtuvo el primario. Las bandas se visualizaron por ECL (VWR International, Canada). El análisis cuantitativo de las bandas se realizó por densitometría en un densitómetro GS-800 de BioRad utilizando el software Quantity One 4.6.

2. 2. Obtención de sinaptosomas purificados de médula espinal de rata

Se sacrificaron 6-8 ratas adultas por intoxicación con monóxido de carbono. Se decapitaron y se extrajeron las médulas espinales. Tras un homogeneizado en potter tipo Dounce vidrio-vidrio, se realizaron las siguientes centrifugaciones a 4°C en rotores JA.25.50 de Beckman: a) 4 min, 5500 r.p.m. y se recuperó el sobrenadante, b) 15 min, 14000 r.p.m. se retiró el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en buffer sacarosa 0,32 M pH 7,4. c) 7 min, 17000 r.p.m., tras colocar la muestra en un gradiente discontinuo (25% - 15% - 5%) de Percoll (Sigma) disuelto en buffer sacarosa 0,32 M pH 7,4. Se recuperó la interfase entre 15-25% y se resuspendió en HBM (ClNa 140 mM, ClK 5 mM, Cl₂Ca 1mM, Cl₂Mg 1mM, Na₂HPO₄ 1mM, HNaCO₃, HepesNaOH pH 7,4 20mM, Glucosa 10mM) para realizar dos nuevas centrifugaciones que lavan el sedimento de Percoll d) 15 min, 15000 r.p.m. y e) 10 min 5500 r.p.m. Se resuspendió en HBM, se midió proteína por Bradford y se ajustó a 2 mg/ml.

2. 3. Transporte de glicina tritiada en sinaptosomas

Tras el correspondiente tratamiento de los sinaptosomas con PGE₂ u otro compuesto, se midió la glicina tritiada incorporada en estos. Así, se añaden 40 µg de sinaptosomas por condición (utilizando como mínimo cuadruplicados) a medio HBM atemperado a 37°C que contiene NFPS 10 µM (para inhibir GlyT1) y 2µl/ml de [3H]-glicina, 1.6 TBq/mmol (PerkinElmer Life Sciences), diluida isotópicamente una concentración de 10µM. Tras 10 minutos de incubación en agitación a 37°C, se lavaron con phosphate-buffered saline (PBS) (NaCl 137 mM, 0.9mM CaCl₂, 2.68mM KCl, 1.47 mM KH₂PO₄, 0.49mM MgCl₂, 7.37 mM Na₂HPO₄, pH 7.4) para retirar la [3H]-glicina no incorporada al interior de los sinaptosomas. El transporte de GlyT2 se mide como la diferencia entre la acumulación de [3H]-glicina a 10 µM, restando la acumulación obtenida en presencia del inhibidor específico de GlyT2 (ALX-1393) que correspondería al transporte basal de los sinaptosomas.

2. 4. Inmunoprecipitación anti-multi ubiquitina

Se separaron 200 ug de sinaptosomas por condición, que fueron lisados en buffer de lisis conteniendo NP-40 0,25%, NaCl 150mM, Tris-HCl 25mM y N-Etilmaleimida 50mM. Tras 30 minutos a temperatura ambiente en agitación, se centrifugaron las diferentes muestras para retirar restos celulares no solubilizados y se incubaron una hora a temperatura ambiente en presencia de un anticuerpo anti-multi ubiquitina unido a agarosa (clon FK2). Las proteínas ubiquitinadas se aislaron por precipitación de la agarosa mediante una centrifugación suave (8000 r.p.m., 3 min), se eluyeron a 75°C durante 10 minutos y se cargaron en un gel SDS-PAGE, revelando por western blot la cantidad de GlyT2 ubiquitinado.

2. 5. Análisis estadístico

Los datos se muestran como medias ± error estándar de la media (Standard Error Mean, SEM). Las diferencias estadísticas entre dos grupos se determinaron por una prueba t de Student, mientras que la comparación entre más de dos grupos se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA, ANalysis Of VAriance, según terminología inglesa). P < 0,05 se consideró significativo, y es denotado con *. Otras equivalencias son ** para P < 0,01 y *** para P < 0,001.

3. RESULTADOS

3.1. PGE₂ activa la recaptación de glicina mediada por el transportador GlyT2 a través de la activación de los receptores EP3

Teniendo en cuenta el papel crítico que juega GlyT2 en la neurotransmisión glicinérgica (21) y la regulación que PGE₂ produce sobre la misma (14), nos preguntamos si la actividad de GlyT2 se vería afectada junto a la del receptor de glicina, modulando de manera coordinada el proceso desde las neuronas pre- y postsinápticas. Para ello medimos la actividad específica de GlyT2 en sinaptosomas

de médula espinal de rata en presencia o ausencia de 10 μ M PGE2 durante diferentes tiempos. Estas medidas se realizan midiendo la cantidad de glicina tritiada incorporada en los sinaptosomas por unidad de tiempo, y se realizan en presencia de NFPS (un inhibidor específico de GlyT1) para cuantificar el transporte de glicina radiactiva únicamente debido a la actividad de GlyT2. Como se observa en la Figura 1, fuimos capaces de determinar que efectivamente PGE2 produce variaciones sobre la recaptación llevada a cabo por GlyT2. Así, observamos que la actividad de GlyT2 aumenta de un modo dependiente del tiempo en presencia de PGE2, llegando a alcanzar un aumento del transporte del $66,43 \pm 6,3\%$ a los 60 minutos, pero detectándose a los 30 min con una activación significativa del $32,33 \pm 4,1\%$.

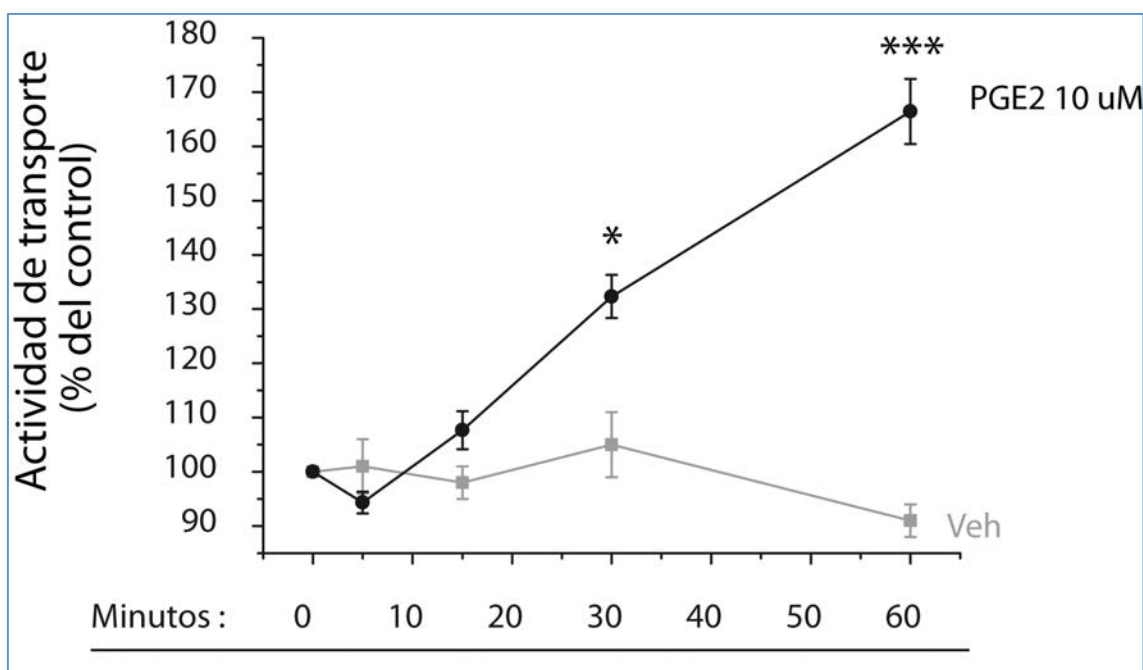


Figura 1.- PGE2 activa el transporte mediado por GlyT2 en sinaptosomas de médula espinal de rata. Los sinaptosomas de médula espinal de rata fueron incubados durante los tiempos indicados en presencia de 10 μ M PGE2. Se determinó la cantidad de glicina tritiada incorporada, midiendo cada tiempo ensayado por cuadruplicado, y se muestra la media resultante de cuatro experimentos \pm SEM (error estándar de la media). La comparación entre los distintos tiempos se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA). Los niveles de significación corresponden a * $p < 0,05$ y *** $p < 0,001$.

La PGE2 es liberada durante eventos de dolor inflamatorio, y puede realizar su efecto a través de cuatro posibles receptores: EP1, EP2, EP3 y EP4. Estos receptores se expresan en una amplia de mayoría tejidos, incluyendo la médula espinal (22, 23) y median su acción a través de diferentes cascadas de señalización (24, 25). Para determinar la implicación de los distintos subtipos de receptores en la activación de GlyT2 por PGE2, quisimos cuantificar la expresión de cada uno en sinaptosomas de médula espinal de rata. De este modo, la expresión del receptor, que está estrechamente ligada a su posible acción, indica la capacidad de transducción de esa vía en concreto en la muestra de interés. Así, mediante la

técnica de Western blot y detección con anticuerpos específicos de cada subtipo de receptor pudimos observar y cuantificar la expresión de cada uno, detectando una mayor expresión de los receptores EP1 y EP3, y una menor expresión de los receptores EP2 y EP4 (Figura 2A-B), lo que sugeriría una mayor implicación de EP1 y EP3 en la activación de GlyT2. Aunque algunos efectos inducidos por PGE2 en distintos tejidos son mediados por la contribución de varios subtipos de receptores EP a la vez (26, 27), lo más común es que únicamente la transducción a través de un solo subtipo resulte determinante para el efecto concreto (19, 28-31). De este modo, para determinar la implicación de cada posible vía de transducción utilizamos agonistas específicos de cada uno de los receptores, intentando determinar la contribución aislada de cada subtipo de receptor sobre la activación de GlyT2 mediada por PGE2. Los agonistas utilizados fueron: sulprostona, beraprost, butaprost y TCS250. La sulprostona activa los receptores EP1 y EP3 con unas constantes de afinidad de 21 nM y 0,6 nM (25), de manera que puede ser utilizada para determinar el efecto de ambos receptores a la vez. beraprost es un agonista para EP2, Butaprost activa selectivamente a EP3 y TCS250 es un compuesto relativamente reciente que activa específicamente a EP4.

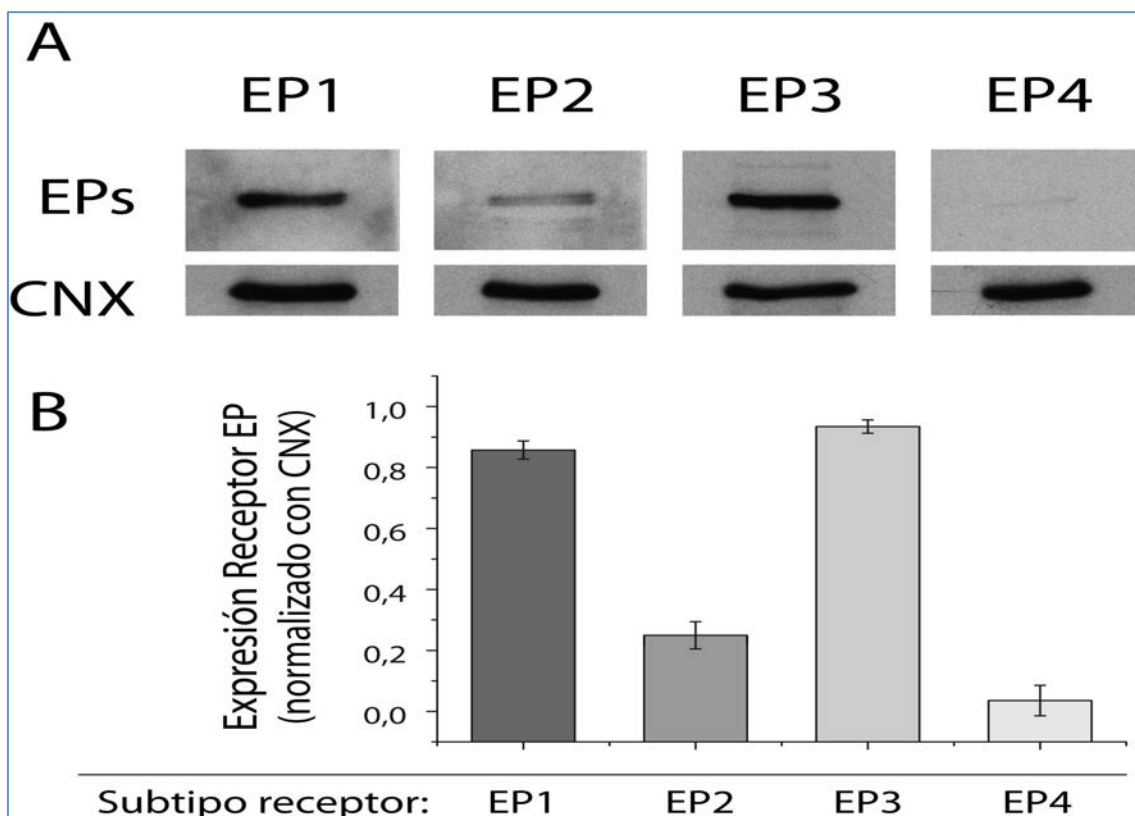


Figura 2.- Los receptores EP3 y EP1 se expresan en mayor medida que los receptores EP2 y EP4 en sinaptosomas de médula espinal de rata. A-B) 20 µg/carril de lisados de sinaptosomas de médula espinal de rata fueron cargados en gel SDS-PAGE. Cada receptor se reveló con su anticuerpo específico, y se reincubó anti-calnexina (CNX) como control de carga. B) La densitometría de cada receptor fue normalizada respecto a la detección de CNX, y se representa con unidades arbitrarias.

El efecto de cada uno de estos compuestos fue ensayado sobre la actividad endógena de GlyT2 en sinaptosomas de médula espinal de rata (Figura 3). Así, se observó que el tratamiento durante una hora a 37°C con estos compuestos producía distintos efectos; mientras que la activación selectiva de EP2 o EP4 no es capaz de emular el efecto de PGE2, la activación de EP1 y EP3, o solamente EP3, producía un fenotipo similar al observado en presencia de la prostaglandina. De estos resultados se desprende que la contribución de la activación de EP2 y EP4 al efecto ejercido por PGE2 sobre GlyT2 es mínima y, por otro lado, mientras que el efecto de la sulprostona podría sugerir la implicación simultánea de los receptores EP1 y EP3, los resultados con butaprost confirman que únicamente la activación de EP3 es capaz de aumentar la actividad de GlyT2, con lo que se podría deducir que la contribución de EP1 es probablemente muy baja. Así, el conjunto de estos resultados implica directamente al subtipo EP3 en la regulación de GlyT2 por PGE2 en la presinapsis.

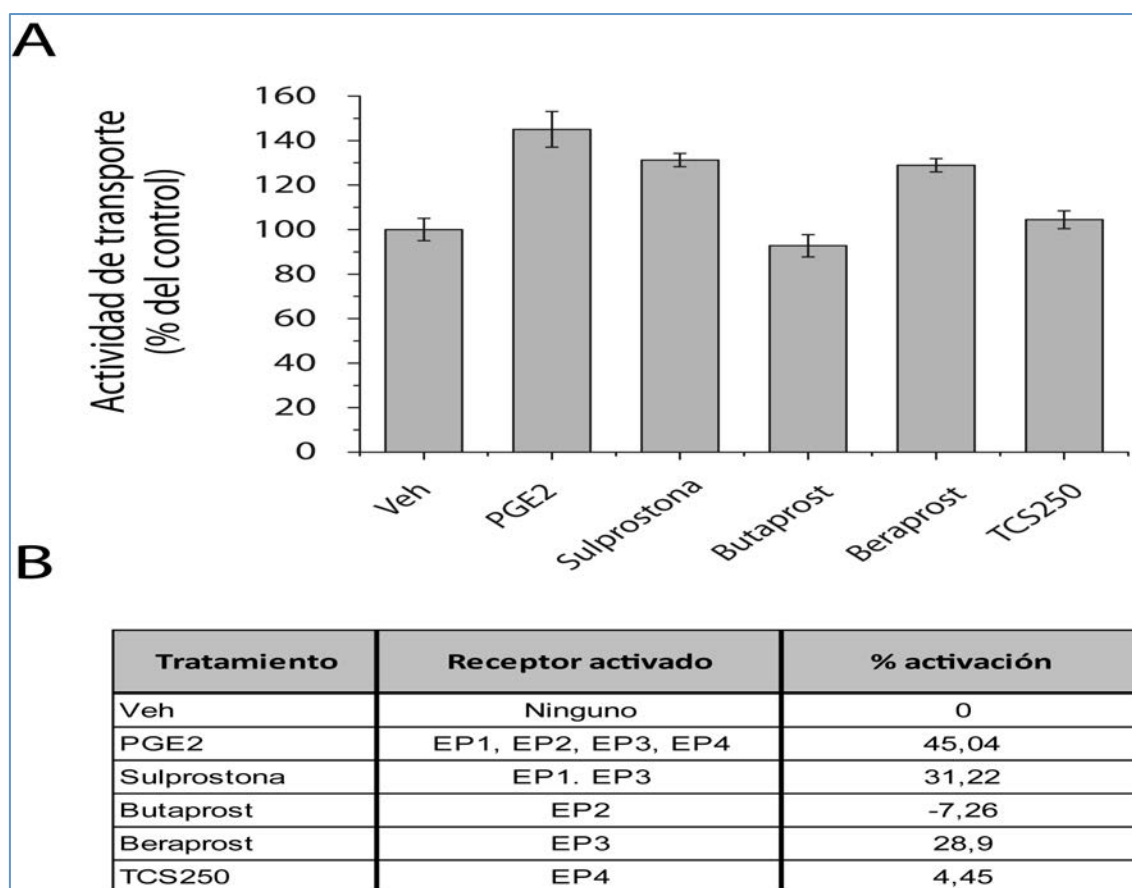


Figura 3.- La activación específica de los receptores EP1 y EP3, o sólo EP3 produce una activación en el transporte de GlyT2. A-B) Los sinaptosomas de médula espinal de rata fueron incubados durante 1 hora a 37°C en presencia de vehículo (Veh), PGE2, sulprostona, beraprost, butaprost y TCS250 (todos ellos a 10 µM). Se determinó la cantidad de glicina tritiada incorporada, midiendo cada tiempo ensayado por cuadruplicado, y se muestra el diagrama de barras correspondiente a la media de tres experimentos independientes ± SEM (error estándar de la media). B) Tabla de correspondencias entre los diferentes agonistas y los receptores que activan específicamente, mostrando en la columna de la derecha el % de activación en cada condición.

3. 2. La presencia de PGE2 reduce la ubiquitinación de GlyT2

En el caso de GlyT2 y otros transportadores de neurotransmisores, la ubiquitinación se ha demostrado como una herramienta eficiente que posee la célula para mantener un control fino del número de moléculas presentes en la membrana plasmática, de tal modo que la imposibilidad de adición de moléculas de ubiquitina a los transportadores se traduce en un aumento del número de moléculas activas en la superficie celular, ya que su endocitosis se encuentra bloqueada (7, 8, 32, 33). Por tanto, quisimos determinar si el aumento de actividad de GlyT2 por PGE2 podría estar relacionado con variaciones en el estado de ubiquitinación del transportador. Para ello realizamos incubaciones de sinaptosomas durante una hora en presencia o ausencia de 10 μ M PGE2, y cuantificamos la cantidad de GlyT2 ubiquitinado. Esto se realiza mediante el uso de un anticuerpo anti-multi ubiquitina unido a agarosa (clon FK2), que reconoce proteínas mono y poliubiquitinadas, pero no ubiquitina libre (34). De este modo, desde un lisado de sinaptosomas previamente tratados con PGE2 o vehículo se pueden inmunoprecipitar y aislar todas las proteínas ubiquitinadas y, mediante Western blot, podemos cuantificar únicamente las variaciones que se han producido sobre GlyT2 y establecer diferencias.

Como se observa en la Figura 4, mientras que la cantidad de proteína total correspondiente a GlyT2 no se ve afectada por la presencia de PGE2, la proporción de transportador ubiquitinado disminuye significativamente hasta un 68,74 \pm 5,6%. Estos resultados sugerirían que la activación del transporte específico de GlyT2 en presencia de PGE2, presumiblemente a través de los receptores EP3, puede deberse a la disminución de la ubiquitinación del transportador. Esto favorecería la proporción de GlyT2 desubiquitinado incapaz de endocitar al interior celular, aumentando por tanto el número de moléculas activas en la superficie celular. Así, se produciría un aumento global de la recaptación de glicina en la sinapsis y por tanto una menor neurotransmisión por falta de neurotransmisor en el espacio sináptico, lo que contribuye y refuerza, desde la presinapsis, a la inhibición de la neurotransmisión glicinérgica debida a la disminución de la actividad del receptor postsináptico (18).

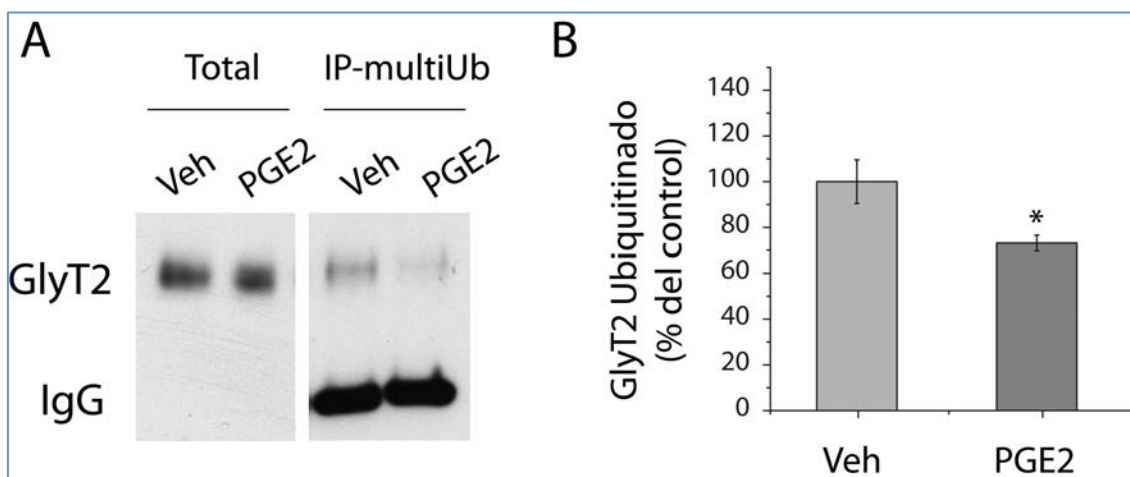


Figura 4.- PGE2 disminuye la ubiquitinación de GlyT2. A-B) 200 μ g de sinaptosomas de médula espinal de rata fueron incubados durante 1 hora a 37°C en presencia de vehículo (Veh) o 10 μ M PGE2. Después de esto se separaron 10 μ g para cuantificar proteína total (A, parte izquierda) y sobre el resto (190 μ g) se inmunoprecipitaron las proteínas ubiquitinadas con un anticuerpo anti-multi ubiquitina unido a agarosa. Tras separar las proteínas en gel SDS-PAGE se determinó la cantidad de GlyT2 total y ubiquitinado (A, parte derecha). Como se observa, la presencia de PGE2 produce una bajada de GlyT2 ubiquitinado, mientras que la proteína total se mantiene constante. B) Cuantificación de tres experimentos independientes como el mostrado en A. Se muestra la cantidad de GlyT2 ubiquitinado como porcentaje del control (Veh). La comparación entre ambas condiciones se realizó mediante una prueba t de Student. $p < 0,05$ se consideró significativo, y se denota con *.

4. DISCUSIÓN

La falta de inhibición mediada por la neurotransmisión glicinérgica en la médula espinal se ha demostrado como una característica claramente implicada en el aumento de la sensación de dolor (14, 35). Uno de los mecanismos descritos que regula este tipo de neurotransmisión se basa en una inhibición específica de la subunidad GlyR α 3 del receptor de glicina en presencia de la prostaglandina E2 (PGE2), uno de los mediadores más importantes de la inflamación (15-17). Esta inhibición ocurre a través de los receptores EP2, que producen un aumento del AMPc intracelular. Esto provoca una activación a la proteína kinasa A (PKA) que fosforila específicamente a la subunidad GlyR α 3 del receptor de glicina en la serina de la posición 346, impidiendo su acción y por tanto reduciendo la neurotransmisión glicinérgica inhibidora (18).

El óptimo funcionamiento de la neurotransmisión glicinérgica requiere por tanto la correcta actividad y localización del receptor de glicina. Sin embargo, otras muchas proteínas son necesarias, y tienen la capacidad de regular este tipo de neurotransmisión. Un ejemplo claro es el transportador neuronal presináptico GlyT2, ya que ratones deficientes en esta proteína tienen completamente alterada la neurotransmisión glicinérgica (21). Sin embargo, hasta la fecha se han realizado muy pocos estudios que profundicen sobre la posible implicación de este transportador en el procesamiento del dolor, a pesar de que recientemente se ha propuesto como una interesante diana analgésica, ya que se ha descrito que su

bloqueo farmacológico específico parece reducir la sensación de dolor en ratas (36, 37).

De este modo, consideramos de interés profundizar en los mecanismos moleculares de la posible implicación de GlyT2 en la acción de PGE2 sobre la inhibición glicinérgica. En este trabajo hemos observado que PGE2 produce una activación de la recaptación presináptica llevada a cabo por GlyT2 y, gracias al uso de agonistas específicos de los receptores EP de la prostaglandina, hemos podido determinar la implicación del subtipo de receptor EP3 en el efecto observado. En consonancia con esto, hemos detectado que la expresión del receptor EP3 en sinaptosomas de médula espinal de rata está muy por encima de la expresión de los subtipos EP2 y EP4, y ligeramente por encima de la expresión de EP1, lo que es coherente con los resultados obtenidos.

En concreto, la activación de los receptores EP3 conlleva usualmente disminuciones notables de AMP cíclico (AMPC) y aumentos en la concentración de calcio (Ca²⁺) intracelular (24). Se ha descrito que aumentos de Ca²⁺ intracelular pueden producir una desubiquitinación de un amplio número de proteínas en la sinapsis (38) por lo que quisimos comprobar si GlyT2 podría sufrir desubiquitinación tras un aumento de Ca²⁺ intracelular llevado a cabo por la activación del receptor EP3. Esto se realizó inmunoprecipitando proteínas ubiquitinadas desde sinaptosomas de médula de rata, y comprobando si PGE2 producía cambios en la cantidad de GlyT2 ubiquitinado. Los resultados mostraron una disminución significativa en la ubiquitinación de GlyT2 tras el tratamiento con PGE2, mientras que la cantidad total de proteína no se vió afectada. La ubiquitinación de GlyT2 ha sido recientemente descrita como una modificación necesaria para la endocitosis del transportador, de tal modo que la incapacidad de ubiquitinar a GlyT2 en la lisina 791 de su carboxilo terminal impide su endocitosis regulada por PKC (8). La imposibilidad de endocitosis por la falta de ubiquitinación produce, por tanto, un acúmulo del transportador en la superficie celular (como ocurre con otras proteínas; 39), lo que conlleva un aumento del número de moléculas activas en membrana plasmática, aumentando por tanto la actividad global de GlyT2. Este aumento de actividad produce una aceleración de la recaptación del neurotransmisor, disminuyendo el tiempo de acción de este en el espacio sináptico y reduciendo la acción sináptica de la glicina.

En conjunto, estos datos muestran que PGE2 disminuye la neurotransmisión glicinérgica mediante dos efectos coordinados en la postsinapsis y en la presinapsis: 1) en la postsinapsis promueve una disminución de la actividad del receptor GlyR α 3 por fosforilación directa dependiente de la transducción por receptores EP2 (18); y 2) en la presinapsis produce un aumento de la recaptación de glicina desde el espacio sináptico mediada por el transportador GlyT2, presumiblemente a través de los receptores EP3 y que probablemente es debida a

un acúmulo de transportador activo desubiquitinado en la superficie neuronal (Figura 5). Así, el transporte mediado por GlyT2 estaría sobreactivado en situaciones de dolor inflamatorio dependientes de PGE2. GlyT2 podría representar una posible diana terapéutica en estas situaciones, ya que su inhibición específica aumentaría la presencia de glicina en el espacio sináptico y por tanto activaría la neurotransmisión glicinérgica reduciendo la transmisión de la señal nociceptiva.

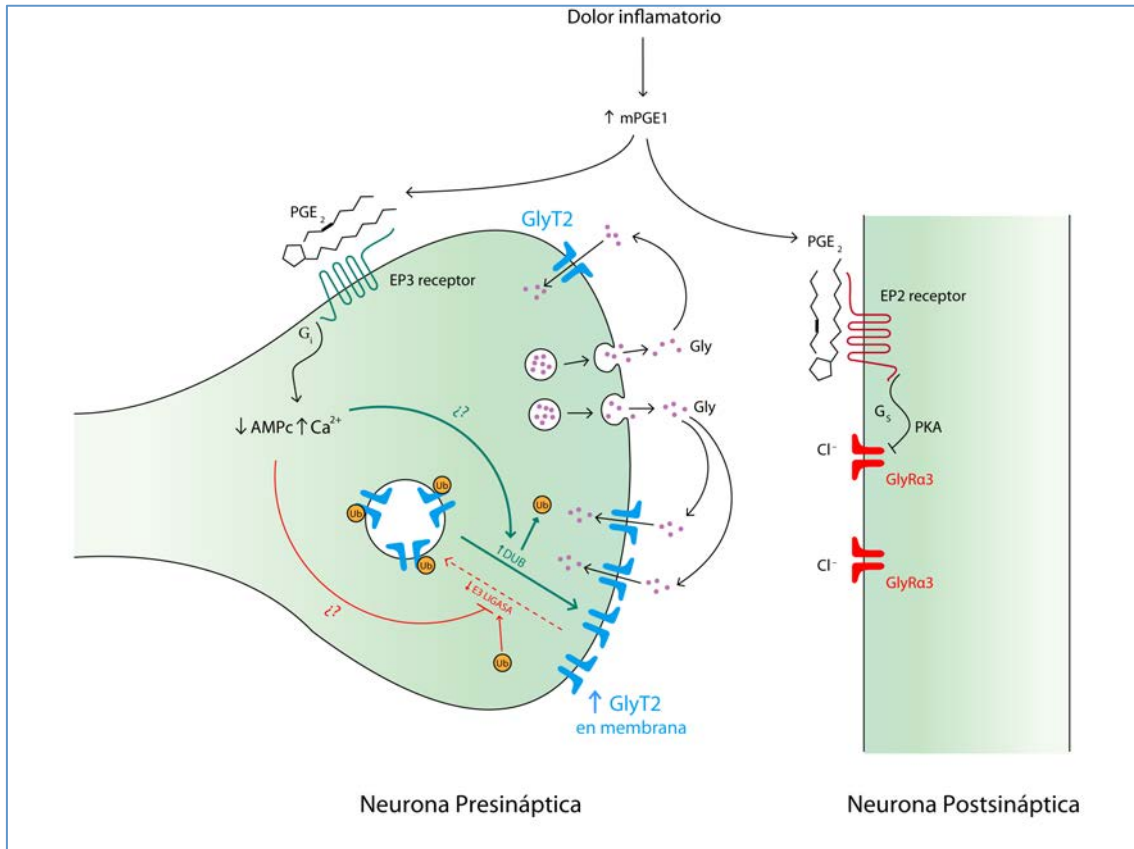


Figura 5.- Esquema-resumen de la acción inhibidora coordinada de PGE2 sobre neuronas presinápticas y postsinápticas en la neurotransmisión glicinérgica. Se muestra en la zona de la derecha un resumen de la acción previamente descrita (18) sobre el receptor GlyR α 3: PGE2 interacciona con el receptor EP2, y este activa a la proteína quinasa A (PKA) mediante la transducción llevada a cabo por proteínas G estimuladoras (Gs). La PKA fosforila a GlyR α 3, bloqueando su acción e impidiendo la entrada de iones cloruro (Cl⁻) en la neurona postsináptica (18). En la zona de la izquierda se muestra la regulación de PGE2 descrita en este artículo sobre la presinapsis: PGE2 interacciona con el receptor EP3, y este produce una bajada de AMPc y un aumento de la concentración de calcio intracelular (Ca²⁺) mediante la transducción llevada a cabo por proteínas G inhibidoras (Gi). Mediante mecanismos aún por determinar (denotados por “¿?”) la bajada de AMPc o el aumento Ca²⁺ producen un desequilibrio del ciclo ubiquitinación/desubiquitinación del transportador de glicina presináptico GlyT2 por dos posibilidades: 1) inactivación de la E3 ligasa correspondiente (en rojo) o 2) activación de la desubiquitinasa correspondiente (DUB; en verde). De este modo, se reduce la ubiquitinación de GlyT2, lo que produce una acumulación del transportador en membrana, y por tanto un aumento de la recaptación de glicina (Gly) liberada. Esto disminuye la concentración efectiva de glicina en el espacio sináptico y limita su acción como neurotransmisor.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con la financiación del Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2008-05436 y SAF2011-28674), la Comunidad Autónoma de Madrid (SSAL-0253/2006) y la Fundación Ramón Areces.

6. REFERENCIAS

1. Melzack R.; Wall P.D. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150, 971-9 (1965).
2. Legendre P. The glycinergic inhibitory synapse. *Cell. Mol. Life. Sci.* 58, 760-93 (2001).
3. Zafra F.; Aragón C.; Olivares L.; Danbolt N.C.; Giménez C.; Storm-Mathisen J. Glycine transporters are differentially expressed among CNS cells. *J. Neurosci.* 15, 3952-69 (1995).
4. Aragón C.; López-Corcuera B. Structure, function and regulation of glycine neurotransporters. *Eur. J. Pharmacol.* 479, 249-62 (2003).
5. Welchman R.L.; Gordon C.; Mayer R.J. Ubiquitin and ubiquitin-like proteins as multifunctional signals. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 6, 599-609 (2005).
6. Büttner C.; Sadtler S.; Leyendecker A.; Laube B.; Griffon N.; Betz H.; Schmalzing G. Ubiquitination precedes internalization and proteolytic cleavage of plasma membrane-bound glycine receptors. *J. Biol. Chem.* 276, 42978-85 (2001).
7. Fernández-Sánchez E.; Martínez-Villarreal J.; Giménez C.; Zafra F. Constitutive and regulated endocytosis of the glycine transporter GLYT1b is controlled by ubiquitination. *J. Biol. Chem.* 284, 19482-92 (2009).
8. de Juan-Sanz J.; Zafra F.; López-Corcuera B.; Aragón C. Endocytosis of the neuronal glycine transporter GLYT2: role of membrane rafts and protein kinase C-dependent ubiquitination. *Traffic.* 12, 1850-67 (2011).
9. Moore K.A.; Kohno T.; Karchewski L.A.; Scholz J.; Baba H.; Woolf C.J. Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *J. Neurosci.* 22, 6724-31 (2002).
10. Scholz J.; Broom D.C.; Youn D.H.; Mills C.D.; Kohno T.; Suter M.R.; Moore K.A.; Decosterd I.; Coggeshall R.E.; Woolf C.J. Blocking caspase activity prevents transsynaptic neuronal apoptosis and the loss of inhibition in lamina II of the dorsal horn after peripheral nerve injury. *J. Neurosci.* 25, 7317-23 (2005).
11. Polgar E.; Hughes D.I.; Riddell J.S.; Maxwell D.J.; Puskar Z.; Todd A.J. Selective loss of spinal GABAergic or glycinergic neurons is not necessary for development of thermal hyperalgesia in the chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Pain.* 104, 229-39 (2003).
12. Coull J.A.; Boudreau D.; Bachand K.; Prescott S.A.; Nault F.; Sik A.; De Koninck P.; De Koninck Y. Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature.* 424, 938-42 (2003).
13. Coull J.A.; Beggs S.; Boudreau D.; Boivin D.; Tsuda M.; Inoue K.; Gravel C.; Salter M.W.; De Koninck Y. BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* 438, 1017-21 (2005).
14. Ahmadi S.; Lippross S.; Neuhuber W. L.; Zeilhofer H. U. PGE2 selectively blocks inhibitory glycinergic neurotransmission onto rat superficial dorsal horn neurons. *Nat. Neurosci.* 5, 34-40 (2002).
15. Trebino C.E.; Stock J.L.; Gibbons C.P.; Naiman B.M.; Wachtmann T.S.; Umland J.P.; Pandher K.; Lapointe J.M.; Saha S.; Roach M.L.; Carter D.; Thomas N.A.; Durtschi B.A.; McNeish J.D.; Hambor J.E.; Jakobsson P.J.; Carty T.J.; Perez J.R.; Audoly L.P. Impaired inflammatory and pain responses in mice lacking an inducible prostaglandin E synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100, 9044-9 (2003).

16. Kamei D.; Yamakawa K.; Takegoshi Y.; Mikami-Nakanishi M.; Nakatani Y.; Oh-Ishi S.; Yasui H.; Azuma Y.; Hirasawa N.; Ohuchi K.; Kawaguchi H.; Ishikawa Y.; Ishii T.; Uematsu S.; Akira S.; Murakami M.; Kudo I. Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin synthase-1. *J. Biol. Chem.* 279, 33684-33695 (2004).
17. Mabuchi T.; Kojima H.; Abe T.; Takagi K.; Sakurai M.; Ohmiya Y.; Uematsu S.; Akira S.; Watanabe K.; Ito S. Membrane-associated prostaglandin synthase-1 is required for neuropathic pain. *Neuroreport* 15, 1395-1398 (2004).
18. Harvey R.J.; Depner U.B.; Wässle H.; Ahmadi S.; Heindl C.; Reinold H.; Smart T.G.; Harvey K.; Schütz B.; Abo-Salem O.M.; Zimmer A.; Poisbeau P.; Welzl H.; Wolfer D.P.; Betz H.; Zeilhofer H.U.; Müller U. GlyR $\alpha 3$: an essential target for spinal PGE₂-mediated inflammatory pain sensitization. *Science*. 304, 884-7 (2004).
19. Reinold H.; Ahmadi S.; Depner U.B.; Layh B.; Heindl C.; Hamza M.; Pahl A.; Brune K.; Narumiya S.; Müller U.; Zeilhofer H.U. Spinal inflammatory hyperalgesia is mediated by prostaglandin E receptors of the EP2 subtype. *J. Clin. Invest.* 115, 673-9 (2005).
20. Malmberg A. B.; Brandon E. P.; Idzerda R. L.; Liu H.; McKnight G. S.; Basbaum A. I. Diminished inflammation and nociceptive pain with preservation of neuropathic pain in mice with a targeted mutation of the type I regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase. *J. Neurosci.* 17, 746-7470 (1997).
21. Gomeza J.; Ohno K.; Hülsmann S.; Armsen W.; Eulenburg V.; Richter D.W.; Laube B.; Betz H. Deletion of the mouse glycine transporter 2 results in a hyperekplexia phenotype and postnatal lethality. *Neuron*. 40, 797-806 (2003).
22. Donaldson L.F.; Humphrey P.S.; Oldfield S.; Giblett S.; Grubb B.D. Expression and regulation of prostaglandin E receptor subtype mRNAs in rat sensory ganglia and spinal cord in response to peripheral inflammation. *Prostaglandins. Other. Lipid. Mediat.* 63, 109-22 (2001).
23. Mebane H.; Turnbach M.E.; Randich A. Spinal EP receptors mediating prostaglandin E₂-induced mechanical hyperalgesia, thermal hyperalgesia, and touch-evoked allodynia in rats. *J. Pain*. 4, 392-9 (2003).
24. Breyer R.M.; Bagdassarian C.K.; Myers S.A.; Breyer M.D. Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 41, 661-90 (2001).
25. Narumiya S.; Sugimoto Y.; Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.* 79, 1193-226 (1999).
26. Singh P.; Hoggatt J.; Hu P.; Speth J.M.; Fukuda S.; Breyer R.M.; Pelus L.M. Blockade of prostaglandin E₂ signaling through EP1 and EP3 receptors attenuates Flt3L-dependent dendritic cell development from hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 119, 1671-82 (2012).
27. Iwanaga K.; Okada M.; Murata T.; Hori M.; Ozaki H. Prostaglandin E₂ promotes wound-induced migration of intestinal subepithelial myofibroblasts via EP2, EP3, and EP4 prostanoid receptor activation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 340, 604-11(2012).
28. Furuyashiki T.; Narumiya S. Stress responses: the contribution of prostaglandin E₂ and its receptors. *Nat. Rev. Endocrinol.* 7, 163-75 (2011).
29. Clasadonte J.; Poulain P.; Hanchate N.K.; Corfas G.; Ojeda S.R.; Prevot V. Prostaglandin E₂ release from astrocytes triggers gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neuron firing via EP2 receptor activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108, 16104-9 (2011).
30. Ushikubi F.; Segi E.; Sugimoto Y.; Murata T.; Matsuoka T.; Kobayashi T.; Hizaki H.; Tuboi K.; Katsuyama M.; Ichikawa A.; Tanaka T.; Yoshida N.; Narumiya S. Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3. *Nature*. 395, 281-4 (1998).
31. Matsuoka Y.; Furuyashiki T.; Yamada K.; Nagai T.; Bito H.; Tanaka Y.; Kitaoka S.; Ushikubi F.; Nabeshima T.; Narumiya S. Prostaglandin E receptor EP1 controls impulsive behavior under stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102, 16066-71 (2005).

32. Sorkina T.; Miranda M.; Dionne K.R.; Hoover B.R.; Zahniser N.R.; Sorkin A. RNA interference screen reveals an essential role of Nedd4-2 in dopamine transporter ubiquitination and endocytosis. *J. Neurosci.* 26, 8195-205 (2006).
33. González-González I.M.; García-Tardón N.; Giménez C.; Zafra F. PKC-dependent endocytosis of the GLT1 glutamate transporter depends on ubiquitylation of lysines located in a C-terminal cluster. *Glia.* 56, 963-74 (2008).
34. Fujimuro M.; Yokosawa H. Production of antipolyubiquitin monoclonal antibodies and their use for characterization and isolation of polyubiquitinated proteins. *Methods Enzymol.* 399, 75-86 (2005).
35. Zeilhofer H.U. The glycinergic control of spinal pain processing. *Cell. Mol. Life. Sci.* 62, 2027-35 (2005).
36. Yoshikawa S.; Oguchi T.; Funahashi Y.; de Groat W.C.; Yoshimura N. Glycine Transporter Type 2 (GlyT2) Inhibitor Ameliorates Bladder Overactivity and Nociceptive Behavior in Rats. *Eur. Urol.* (2012) DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2012.01.044>
37. Haranishi Y.; Hara K.; Terada T.; Nakamura S.; Sata T. The antinociceptive effect of intrathecal administration of glycine transporter-2 inhibitor ALX1393 in a rat acute pain model. *Anesth. Analg.* 110, 615-21 (2010).
38. Chen H.; Polo S.; Di Fiore P.P.; De Camilli P.V. Rapid Ca²⁺-dependent decrease of protein ubiquitination at synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100,14908-13 (2003).
39. Mukhopadhyay D.; Riezman H. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science* 315, 201-5 (2007).

Errores de medicación en quimioterapia antes y después de la implantación de un sistema de prescripción electrónica asistida

Teresa Gramage Caro*¹, Teresa Bermejo Vicedo¹, Juana Benedí González²

¹Servicio de Farmacia, Hospital Ramón y Cajal, Ctra. Colmenar Km. 9,100, 28034 Madrid ²Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

*e-mail: tgramage.hrc@salud.madrid.org

Premio del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid del Concurso Científico de la Real Academia Nacional de Farmacia. An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 3 (2013), pag.450-464.

RESUMEN

Identificar, cuantificar y comparar los errores de medicación (EM) de antineoplásicos que se producen con un sistema de prescripción manual y con un sistema de prescripción electrónica asistida (PEA). Estudio observacional, descriptivo, prospectivo, realizado en pacientes ingresados en una unidad de Hematología. Se analizaron los EM producidos antes y después de la implantación de la PEA. Se detectaron 184 EM y 53 de identificación de pacientes. La RRR fue del 92,03% y la RAR del 40,02%. Las disminuciones de los errores en las categorías de falta de prescripción de un medicamento necesario, dosis mayor, error de preparación/manipulación, vía de administración y velocidad de administración fueron estadísticamente significativas. La PEA de antineoplásicos disminuye el número de EM. Evita errores derivados de la omisión de información y disminuye los relacionados con la dosis y la estabilidad de las mezclas.

Palabras clave: Quimioterapia; Prescripción electrónica asistida; Errores de medicación.

ABSTRACT

Chemotherapy medication errors before and after the implementation of an electronically assisted prescription system

To identify, quantify and compare medication errors (ME) of antineoplastic agents produced with manual prescriptions and with electronically assisted prescriptions (EAP). An observational, descriptive, prospective study in a haematological hospitalisation unit. Antineoplastic agents ME were determined

before and after implementation of EAP. 184 ME and 53 identification errors were detected. A RRR of 92,03% and an AAR of 40,02% were obtained. Non-prescription medication errors, higher dose errors, wrong preparation or handling errors, administration route errors and rate of administration errors were significantly lower with EAP. Antineoplastic agents ME have decreased since computerising the prescription process. The decrease of omission errors, dosage-related errors and those related to the stability of the mixtures stands out.

Keywords: Chemotherapy; Electronically Assisted; Prescription System; Medication Errors.

1. INTRODUCCIÓN

Los citostáticos, tanto orales como parenterales, son considerados medicamentos de alto riesgo, es decir, “aquellos que tienen un riesgo muy elevado de causar daños graves o incluso mortales cuando se produce un error en el curso de su utilización”. Esta definición no indica que los errores asociados a estos medicamentos sean más frecuentes, sino que en caso de producirse un error, las consecuencias para los pacientes suelen ser más graves (1).

Según el National Coordinating Council for Medication Error Reporting and Prevention (NCCMERP), un error de medicación es “cualquier incidente prevenible que puede causar daño al paciente o dar lugar a una utilización inapropiada de los medicamentos”. Estos incidentes pueden estar relacionados con la práctica profesional, productos, procedimientos o sistemas, incluyendo fallos en la prescripción, comunicación, etiquetado, envasado, denominación, preparación, dispensación, distribución, administración, educación, seguimiento y utilización (2).

En diversos estudios internacionales se ha mostrado que la incidencia de efectos adversos en pacientes hospitalizados oscila entre el 4 y el 16,6% y de ellos, aproximadamente el 50% se ha considerado evitable (3-6). La proporción de EM descrita en varios estudios de nuestro país también se sitúa en torno a estas cifras, encontrándose entre el 7 y el 15% (7-10).

Los EM en quimioterapia pueden tener consecuencias graves para los pacientes debido al estrecho margen terapéutico de los antineoplásicos (11). La utilización de este tipo de fármacos es un proceso complejo debido, además, a la variabilidad de dosis y de esquemas quimioterápicos según la patología tumoral a tratar, a las técnicas necesarias para la correcta administración...

Independientemente de la capacitación y de la concentración en el puesto de trabajo, los errores pueden ocurrir en cualquier proceso humano. Lo que es importante, entonces, es crear sistemas que dispongan de elementos de seguridad

en todas y cada una de sus etapas, de manera que el proceso se haga resistente a cualquier posible error humano (12).

En España, el Grupo Español para el desarrollo de la Farmacia Oncológica (GEDEFO) elaboró en el año 2001 un documento de consenso para la prevención de EM en quimioterapia en el que se recogen recomendaciones para evitar estos errores en todas la etapas del proceso: prescripción, validación farmacéutica, preparación y administración (11).

La American Society of Health-System Pharmacists (ASHP) también ha publicado una guía para la prevención de EM con agentes antineoplásicos con el objetivo de mejorar tanto los sistemas de utilización de este tipo de medicamentos como los programas de prevención de EM (13).

Todos estos grupos y asociaciones incluyen la implantación de la prescripción electrónica asistida (PEA) en quimioterapia como un elemento imprescindible para alcanzar mejoras en términos de eficiencia, seguridad y calidad.

El Grupo de Evaluación de Nuevas Tecnologías de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria ha elaborado un documento consensuado que recoge los requisitos que debe cumplir un programa de PEA en quimioterapia. En él se describe la PEA como una nueva tecnología que permite al médico prescribir el tratamiento directamente en un programa informático a través de un dispositivo electrónico (ordenador, PDA, Table-PC) de manera segura y eficaz, evitando la transcripción de las mismas tanto del farmacéutico para su validación, cálculos, elaboración y dispensación de los medicamentos, como la de enfermería para el control y registro de la administración. Estos sistemas disponen, además, de una serie de ayudas orientadas hacia un sistema de soporte a la decisión clínica, que en esencia son bases de datos de medicamentos, las cuales son generalmente mantenidas y actualizadas por los farmacéuticos del Servicio de Farmacia o bien están disponibles en el mercado (14).

El objetivo principal de este estudio es identificar, cuantificar y comparar los EM de antineoplásicos que se producen con un sistema de prescripción manual (PM) frente a los que se producen con un sistema de PEA. El objetivo secundario es analizar los principios activos mayoritariamente implicados en los errores.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo, prospectivo, realizado en dos fases secuenciales: antes y después de la implantación de la PEA en la prescripción de medicamentos antineoplásicos de los pacientes a cargo del servicio de Hematología de un hospital de tercer nivel. Se seleccionó este servicio porque

disponía de PM de antineoplásicos y estaba planificada la implantación de la PEA en un breve periodo de tiempo. Cada fase del estudio tuvo un mes de duración, dejando un periodo de adaptación de un mes desde la implantación de la PEA.

En ambas fases se revisaron todas las prescripciones médicas, la transcripción y validación farmacéutica, y en la fase de PM también la transcripción por el personal de enfermería. Se excluyó del estudio de la terapia de soporte.

En la primera fase (PM) el médico realizaba la PM en una orden de tratamiento específica que disponía de varias copias. Una de ellas era enviada al servicio de Farmacia donde el farmacéutico primero transcribía el tratamiento al programa informático y después lo validaba; otra copia era empleada por enfermería para transcribir a su vez el tratamiento a la hoja de administración. En la segunda fase (PEA) el médico prescribía directamente el tratamiento en el programa informático e imprimía y firmaba la hoja de administración, evitando de esta forma la transcripción del personal de enfermería. El farmacéutico, a través del programa informático (conectado on line con el servicio de Farmacia), validaba el tratamiento, evitando también la transcripción de la prescripción.

El programa de PEA utilizado fue Oncowin®, un módulo exclusivo para la prescripción de quimioterapia integrado en el programa Hospiwin® 2000 (Baxter). Permite al prescriptor trabajar con protocolos de tratamiento on line. Estos están fundamentados en mezclas normalizadas cuya estabilidad, compatibilidad con el disolvente y tiempo de infusión se establecen según la bibliografía disponible. El médico tiene la opción de seleccionar directamente en el programa el protocolo de tratamiento o una mezcla normalizada de cualquier antineoplásico, sin que sea necesario volver a indicar para cada medicamento prescrito el disolvente, el volumen o el tiempo de infusión. El programa también incluye ayudas a la prescripción en tiempo real relativas a las dosis máximas o mínimas establecidas para cada medicamento, las concentraciones por encima o por debajo de las cuales las preparaciones dejan de ser estables, las dosis máximas acumuladas y las alergias registradas para un paciente concreto. Además, permite la comunicación directa del farmacéutico desde el servicio de Farmacia con el médico a través de mensajes.

Para la realización de este estudio, un farmacéutico diferente al que había realizado la transcripción y/o la validación revisó todas las prescripciones, las validaciones y las transcripciones.

Para definir el concepto de EM en quimioterapia, se consideró el establecido por GEDEFO. *“Un error de medicación en quimioterapia es cualquier error potencial o real, en el que la quimioterapia se prescribe, transcribe, prepara, dispensa o administra a una dosis diferente a la apropiada para ese paciente, en una*

fecha incorrecta, por una vía incorrecta y/o con una técnica de administración incorrecta, incluyendo el vehículo, la duración, la velocidad, la concentración, la compatibilidad y estabilidad en solución, el orden de administración o la propia técnica de administración. También se incluye la omisión involuntaria de algún medicamento en la prescripción o transcripción” (11). Nosotros sólo aplicamos esta definición para los procesos de prescripción y transcripción.

Puesto que GEDEFO no ha publicado una clasificación de EM, los tipos de error se catalogaron según la clasificación del grupo Ruiz-Jarabo 2000, de Otero y cols. (5), recogiendo únicamente los datos que figuran en el Anexo 1, y que son motivo de este estudio. Incluyen datos de identificación del paciente, de las características de los errores y de las causas que los originaron.

Se contabilizó el número de pacientes, se registraron sus datos demográficos y se contabilizó el número de líneas de tratamiento. Se definió como línea de tratamiento cada dosis de antineoplásico, tanto oral como parenteral, que hubiera sido prescrito y validado, o cuya prescripción hubiera sido modificada, siempre y cuando la fecha de la administración se encontrara dentro del mes de estudio. Se consideró el total de posibilidades de error como el total de líneas de tratamiento revisadas.

Al examinar los principios activos mayoritariamente implicados en los errores, sólo se analizaron los errores producidos por aquellos que se hubieran prescrito tanto en la fase de PM como en la de PEA.

Para el cálculo estadístico se utilizó el programa “Evaluación de tratamientos”, versión 1.0.1, desarrollado por la unidad de Bioestadística Clínica del Hospital Ramón y Cajal (http://www.hrc.es/investigación/bioest/otras_calculadoras.html). Mediante dicho programa se calculó la tasa de error, la reducción relativa de riesgo (RRR) y la reducción absoluta de riesgo (RAR).

3. RESULTADOS

En la primera fase del estudio se incluyeron un total de 57 pacientes, 50,9% (29) hombres y 49,1% (28) mujeres. La edad media fue de 61 años (18-93). Se revisaron un total de 407 líneas de tratamiento.

En la segunda fase se incluyeron un total de 24 pacientes, 58,3% hombres (14) y 41,3% mujeres (10). La edad media fue de 52 años (22-87). Se obtuvieron un total de 202 líneas de tratamiento.

Los datos relativos al número de pacientes y número de líneas de tratamiento se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1.- Características de los tratamientos analizados y de los errores detectados en las dos fases del estudio. **PM:** prescripción manual, **PEA:** prescripción electrónica asistida.

	PM	PEA	TOTAL
Pacientes totales	57	24	81
• Con error	32	6	38
• Sin error	25	18	43
Líneas de tratamiento	407	202	609
• Con error	118	7	125
• Sin error	289	195	484
Errores totales	177	7	184

Durante las dos fases del estudio se detectaron un total de 53 errores en la identificación de los pacientes (Tabla 2) y de 184 errores relativos a los tratamientos de los mismos (Tabla 3). Ambas tablas muestran sólo las categorías en las que se ha detectado al menos un error en alguna de las dos fases del estudio. Las causas asociadas a los errores detectados se recogen en la Tabla 4 y los principios activos implicados en los errores en la Tabla 5.

Tabla 2.- Errores de identificación del paciente. **PM** prescripción manual, **PEA** prescripción electrónica asistida, **RAR** reducción absoluta del riesgo, **IC** intervalo de confianza, **RRR** reducción relativa del riesgo, **E** errores detectados, **LT** líneas de tratamiento, **NHC** número de historia clínica, **NS** no significativo estadísticamente.

	PM	PEA	RAR	IC	RRR	IC	p
	(E/LT)(%)	(E/LT)(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Omisión de la fecha de prescripción	42/407 (10,3%)	0/202 (0%)	10,32	7,36 a 13,27	100	71,36 a 128,64	<0,05
Omisión de la firma del prescriptor	7/407 (1,7%)	0/202 (0%)	1,72	0,46 a 2,98	100	26,56 a 173,44	<0,05
Omisión del nombre o NHC del paciente	2/407 (0,5%)	0/202 (0%)	0,49	-0,19 a 1,17	100	-38,25 a 238,25	NS
Omisión del servicio de ingreso del paciente	2/407 (0,5%)	0/202 (0%)	0,49	-0,19 a 1,17	100	-38,25 a 238,25	NS
Total de errores	53/407 (13,02%)	0/202 (0%)	13,02	9,75 a 16,29	100	74,89 a 125,11	<0,05

Tabla 3.- Distribución de los errores de medicación. **PM** prescripción manual, **PEA** prescripción electrónica asistida, **RAR** reducción absoluta del riesgo, **IC** intervalo de confianza, **RRR** reducción relativa del riesgo, **E** errores detectados, **LT** líneas de tratamiento, **NS** no significativo estadísticamente

	PM (E/LT)(%)	PEA (E/LT)(%)	RAR (%)	IC (%)	RRR (%)	IC (%)	p
Medicamento innecesario	1/407 (0,2%)	0/202 (0%)	0,25	-0,24 a 0,73	100	-95,76 a 295,76	NS
Falta de prescripción de un medicamento necesario	24/407 (5,9%)	2/202 (1%)	4,91	2,24 a 7,57	83,21	38,02 a 128,40	<0,05
Omisión en la transcripción	1/407 (0,2%)	0/202 (0%)	0,25	-0,24 a 0,73	100	-95,76 a 295,76	NS
Dosis mayor	9/407 (2,2%)	0/202 (0%)	2,21	0,78 a 3,64	100	35,39 a 164,61	<0,05
Dosis menor	3/407 (0,7%)	0/202 (0%)	0,74	-0,09 a 1,57	100	-12,74 a 212,74	NS
Dosis extra	9/407 (2,2%)	1/202 (0,5%)	1,72	-0,01 a 3,44	77,61	-0,42 a 155,65	NS
Frecuencia de administración errónea	9/407 (2,2%)	1/202 (0,5%)	1,72	-0,01 a 3,44	77,61	-0,42 a 155,65	NS
Error de preparación /acondicionamiento	73/407(17,9%)	1/202 (0,5%)	17,44	13,59 a 21,29	97,24	75,77 a 118,71	<0,05
Vía de administración errónea	17/407 (4,2%)	0/202 (0%)	4,18	2,23 a 6,12	100	53,47 a 146,53	<0,05
Velocidad de administración errónea	31/407 (7,6%)	2/202 (1%)	6,63	3,71 a 9,54	87	48,71 a 125,29	<0,05
Total de errores	177/407 (43,5%)	7/202 (3,5%)	40,02	34,59 a 45,46	92,03	79,53 a 104,53	<0,05

Tabla 4.- Causas asociadas a los errores detectados. **PM** prescripción manual, **PEA** prescripción electrónica asistida, **RAR** reducción absoluta del riesgo, **IC** intervalo de confianza, **RRR** reducción relativa del riesgo, **E** errores detectados, **LT** líneas de tratamiento, **NS** no significativo estadísticamente.

	PM (E/LT)(%)	PEA (E/LT)(%)	RAR (%)	IC (%)	RRR (%)	IC (%)	P
Prescripción ambigua/incompleta	123/177 (69,5%)	1/7 (14,3%)	52,21	28,41 a 82,00	79,44	40,88 a 118,00	<0,05
Hoja de administración de enfermería ambigua/incompleta	1/177 (0,5%)	0/7 (0%)	0,56	-0,54 a 1,67	100	-95,45 a 295,45	NS
Escritura de cifras incorrecta	3/177 (1,7%)	0/7 (0%)	1,69	-0,21 a 3,60	100	-12,20 a 212,20	NS
Falta de información relevante o incompleta/incorrecta cumplimentación de datos del paciente	4/177 (2,2%)	0/7 (0%)	2,26	0,07 a 4,45	100	3,11 a 196,89	<0,05
Factores individuales	46/177 (26,0%)	6/7 (85,7%)	- 59,73	-86,44 a -33,01	- 229,81	-332,61 a - 127,02	<0,05

Tabla 5.- Principios activos implicados en los errores. **PM** prescripción manual, **PEA** prescripción electrónica asistida, **RAR** reducción absoluta del riesgo, **IC** intervalo de confianza, **RRR** reducción relativa del riesgo, **E** errores detectados, **LT** líneas de tratamiento, **NS** no significativo estadísticamente, **NC** no calculable.

Principio activo	PM			PEA			RAR	IC	RRR	IC	p
	LT	E	%E (E/LT)(%)	LT	E	%E (E/LT)(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Asparraginasa	1	3	300%	0	0	0%	NC	NC	NC	NC	NC
Metotrexato	18	32	178%	9	1	11%	88,99	68,63 a 109,42	88,99	68,63 a 109,42	<0,05
Vinblastina	4	6	150%	0	0	0%	NC	NC	NC	NC	NC
Bleomicina	3	4	133%	0	0	0%	NC	NC	NC	NC	NC
Rituximab	46	56	122%	8	2	25%	75	44,99 a 105,01	75	44,99 a 105,01	<0,05
Dexametasona	5	5	100%	40	0	0%	100	100	100	100	<0,05
Dacarbazina	2	2	100%	0	0	0%	NC	NC	NC	NC	NC
Etopósido	8	6	75%	11	0	0%	75	44,99 a 105,01	75	44,99 a 105,01	<0,05
Busulfan	12	8	67%	16	0	0%	40	18,53 a 61,47	100	46,32 a 153,68	<0,05
Gemcitabina	3	2	67%	1	0	0%	66,67	13,32 a 120,01	100	19,98 a 180,02	NS
Azacidina	12	7	58%	0	0	0%	NC	NC	NC	NC	NC
Hidrocortisona	4	2	50%	1	0	0%	50	1 a 99	100	2 a 198	NS
Ciclofosfamida	41	18	44%	12	1	8%	35,57	13,77 a 57,37	81,02	31,36 a 130,68	<0,05
Carmustina	3	1	33%	1	0	0%	33,33	-20,01 a 86,68	100	-60,03 a 260,03	NS
Prednisona	75	16	21%	17	0	0%	21,33	12,06 a 30,60	100	56,54 a 143,46	<0,05
Melfalán	11	2	18%	2	0	0%	18,18	-4,61 a 40,97	100	-25,36 a 225,36	NS
Vincristina	18	3	17%	5	0	0%	16,67	-0,55 a 33,88	100	-3,30 a 203,30	NS
Bortezomib	52	5	10%	3	0	0%	9,62	1,60 a 17,63	100	16,67 a 183,33	NS
Citarabina	24	1	4%	35	0	0%	4,17	-3,83 a 12,16	100	-91,87 a 291,87	NS
Fludarabina	8	0	0%	5	2	40%	-40	-82,94 a 2,94	NC	NC	NS
Gentuzumab	0	0	0%	1	1	100%	NC	NC	NC	NC	NC

4. DISCUSIÓN

La implantación de la PEA para la prescripción de quimioterapia en pacientes del servicio de Hematología ha significado una disminución muy importante de los errores, obteniéndose una RRR por encima del 90% y una RAR del 40%.

Numerosas publicaciones evidencian la disminución de los EM en general tras la implantación de la PEA (16-21), y también son abundantes los estudios publicados que analizan los tipos de errores en la prescripción de quimioterapia y el papel de la validación farmacéutica en la prevención de estos (3,22-26) pero existen pocas publicaciones que evidencien la disminución de errores en la prescripción de antineoplásicos cuando estos son prescritos electrónicamente (27).

Resulta difícil comparar de forma global nuestros resultados con los de otros estudios ya publicados, debido a las diferencias en las metodologías aplicadas y en las definiciones de error empleadas. Aún así, estos se asemejan bastante a los obtenidos por otros autores, ya que tras la implantación de un programa de PEA obtienen una disminución de los EM entre un 55 y un 86% (16-18). Estudios realizados en España muestran reducciones entre el 39 y el 98% (19,20), si bien no son estudios exclusivos de quimioterapia. En un estudio de metodología similar, Pueyo y cols. obtienen una RRR del 89,3% tras la implantación de la PEA en la prescripción de tratamientos oncológicos (27), lo que coincide con los resultados que nosotros hemos obtenido.

Nuestros resultados reflejaron que la prescripción del tratamiento de forma manual fue el origen de la mayoría de los errores detectados, y que el uso de la PEA hizo desaparecer determinados tipos de error como los relativos a la identificación de los pacientes (con la PM se obtuvo un porcentaje de error del 13%) y a las omisiones en la transcripción. Los errores asociados a la preparación y a la vía y velocidad de administración, en su mayoría causados por omisión de información, desaparecieron también prácticamente en su totalidad, reduciéndose con la PEA hasta el 0,5%. Ello fue debido a que por defecto son datos aportados en los protocolos de quimioterapia incluidos en el programa informático. También desaparecieron los errores asociados a las dosis mayores o menores de las establecidas, que disminuyeron del 3% con la PM a no ser detectados con la PEA y fue también debido a las características del programa informático que realiza directamente los cálculos de dosificación en función del peso o de la superficie corporal del paciente, partiendo de las dosis establecidas en los protocolos anteriormente citados, evitando así los cálculos manuales. La disminución de errores en un 83,2% en la falta de prescripción de un medicamento necesario se asocia a la prescripción de medicación oral en pacientes ambulatorios, ya que muchas veces en la PM se omite el dato de la fecha y frecuencia de administración.

La duplicación de algunas de las prescripciones manuales fue la causa que originó el 77,6% de errores de prescripción de dosis extras detectados, por lo que tras la implantación de la PEA este tipo de error disminuyó a un 0,5%.

En nuestro estudio, más de un 90% de los errores de la fase de PM estuvieron asociados al proceso de prescripción. León y cols., en su análisis de los errores de medicamentos citostáticos recogidos en un programa de gestión de riesgos, concluyen igualmente que los errores de prescripción son los más frecuentes, si bien obtienen un porcentaje de error significativamente inferior al nuestro (45%) (3). El 70% de los errores que se detectaron con la PM estuvieron causados por una prescripción incompleta o ambigua. Aguirrezábal y cols. obtienen un valor todavía mayor de errores por omisión (87,77%), pero hay que destacar que ellos consideran más categorías a la hora de establecer las posibles omisiones, como los datos antropométricos del paciente o el número de ciclo (25).

Excluyendo los errores causados por omisión o ambigüedad de información, los errores mayoritarios de la PM fueron de prescripción incorrecta de dosis, siendo también los errores más frecuentes para otros autores (3,20-26). Al igual que Pueyo y cols. (27) y Busto y cols. (28), no encontramos ningún error de sobredosificación con la PEA, lo que es importante por las graves repercusiones para la seguridad del paciente.

No obstante, con la implantación de la PEA no se han conseguido evitar todos los errores. Permanece una tasa de error que oscila entre el 0,5 y el 1%, lo que muy probablemente se deba a la falta de entrenamiento y manejo de la herramienta informática por parte del prescriptor. Este resultado es menor que el encontrado por otros autores (1,3-8%) (17,19), si bien no son resultados exclusivos de prescripción de quimioterapia. Koppel y cols., al realizar una encuesta a médicos, identifican dos grupos de EM derivados de la utilización de la PEA, uno de ellos es referente a errores de información generados por fallos en la integración entre los sistemas de información y los programas informáticos de prescripción, y otro debido a la falta de formación o manejo entre los usuarios de estos programas de prescripción (19,29). Algunos autores indican que la PEA podría ocasionar nuevos tipos de errores, aún no conocidos o cuantificados, si bien pueden ser de menos trascendencia y gravedad para el paciente (19,20,29). En el análisis de los factores individuales como causa de error encontramos que la PEA produjo un aumento del RAR con la PEA de aproximadamente un 60%, ya que del 26% de errores en la PM, fundamentados en despistes, errores de cálculos de dosis o falta de conocimiento sobre el medicamento, llegamos hasta un 85,7% en la PEA, ocasionados exclusivamente por errores en el manejo del ordenador.

No se detectó ninguna causa que justificara la mayor posibilidad de aparición de errores de prescripción, validación o transcripción en ningún principio activo en particular sobre los demás. Muchos de los antineoplásicos

analizados no llegaron a prescribirse en alguna de las dos fases del estudio, por lo que fue imposible su comparación.

Como limitación del estudio, indicar que el periodo de adaptación de un mes entre la implantación de la PEA y la medida de los resultados podría ser insuficiente, ya que encontramos que el 85,7% de las causas de error asociadas a la PEA fueron factores individuales, entre los que se incluyen los errores en el manejo del ordenador, si bien otros autores utilizan el mismo periodo de adaptación hasta la observación, pues consideran que es suficiente para estudiar el efecto de la implantación de la PEA a corto plazo (19,20).

La implantación progresiva de la PEA en el servicio de Hematología nos impidió reclutar un número de pacientes equivalente en la fase de PEA y en la de PM, siendo éstos considerablemente inferior en número en la fase de PEA.

La PEA ofrece ventajas incuestionables, como la oportunidad de estandarizar la práctica clínica, mejorar la comunicación interdepartamental y los cálculos de dosificación (30), así como evitar transcripciones de la orden médica, lo que se traduce en una disminución global de los EM, aunque no está exenta de inconvenientes que dificultan su aplicación (31). Como afirman Delgado y cols. en su estudio, es mucho más que tener una prescripción completa y legible y debe ir incorporando y automatizando las áreas del conocimiento para que garantice una prescripción segura y eficiente (20).

5. CONCLUSIONES

La PEA en quimioterapia disminuye el número de EM: evita errores derivados de la omisión de información y disminuye, entre otros, los relacionados con la dosis y la estabilidad de las mezclas. Por tanto, la PEA de medicamentos citostáticos contribuye a mejorar la calidad y la seguridad de la farmacoterapia aplicada a los pacientes.

No se detectó ninguna causa que justificara la mayor posibilidad de aparición de errores de prescripción, validación o transcripción en ningún principio activo en particular sobre los demás.

6. REFERENCIAS

- 1 ISMP-España: Prácticas para mejorar la seguridad de los medicamentos de alto riesgo; **2007** [citado 20 febrero 2009]. Disponible en: <http://www.ismp-espana.org/estaticos/view/39>
- 2 National Coordinating Council on Medication Error Reporting and Prevention: About medication errors [citado 20 febrero 2009]. Disponible en: www.nccmerp.org
- 3 León J, Aranda A, Tobaruela M, Iranzo MD. Errores asociados con la prescripción, validación, preparación y administración de medicamentos citostáticos. *Farm Hosp.* **2008**; 32: 163-9.

- 4 Brennan TA, Leape LL, Laird N, Hebert L, Localio AR, Lawthers AG, et al. Incidence of adverse events and negligence in hospitalised patients : results of the Harvard Medical Practice Study. *N Eng J Med.* **1991**; 324: 370-6.
- 5 Wison RM, Runciman WB, Gibberd RW, Harrison BT, Newby L, Hamilton JD. The Quality in Australian Health-Care Study. *Med J Aust.* **1995**; 163: 458-71.
- 6 Aranaz JM, Aibar C, Gea MT, León MT. Los efectos adversos en la asistencia hospitalaria. Una revisión crítica. *Med Clin (Barc).* **2004**; 123: 21-5.
- 7 Font I, Climent C, Poveda JL. Calidad del proceso farmacoterapéutico a través de errores de medicación en un hospital terciario. *Farm Hosp.* **2008**; 32: 274-9.
- 8 Climent C, Font Noguera I, Poveda Andrés JL, López Bris E, Peiro S. Errores de medicación en un hospital terciario con tres sistemas de distribución diferentes. *Farm Hosp.* **2008**; 32: 18-24.
- 9 Blasco P, Mariño E, Aznar M, Pol E, Alós M, Castells M, et al. Desarrollo de un método observacional prospectivo de estudio de errores de medicación para su aplicación en hospitales. *Farm Hosp.* **2001**; 25: 253-73.
- 10 Tissot E, Cornette C, Limat S, Mourand JL, Becker M, Etievent JP, et al. Observational study of potencial risk factors of medication administration errors. *Pharm World Sci.* **2003**; 25: 264-8.
- 11 Grupo Español para el desarrollo de la Farmacia Oncológica (GEDEFO). Prevención de errores de medicación en quimioterapia; **2001** [citado 20 febrero 2009]. Disponible en: <http://gedefo.sefh.es/documentos/errores/index.html>
- 12 Otero MJ, Martín R, Domínguez-Gil A. Instituto para el uso Seguro de los Medicamentos. En: Lacasa C, Humet C y Cot R. Errores de medicación. Prevención, diagnóstico y tratamiento; **2001** [citado 31 marzo 2009]. Disponible en: <http://www.sefh.es/bibliotecavirtual/erroresmedicacion/008.pdf>
- 13 American Society of Hospital Pharmacists. ASHP Guidelines on Preventing Medication Errors with Antineoplastic Agents. *Am J Health Syst Pharm.* **2002**; 59: 1648-68.
- 14 Grupo de Evaluación de Nuevas Tecnologías de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria: Prescripción electrónica asistida en Quimioterapia; **2006** [citado 21 julio 2009]. Disponible en: <http://www.sefh.es/sefhdescargas/archivos/peacitos.pdf>
- 15 Otero MJ, Castaño B, Pérez M, Codina C, Tamés MJ, Sánchez T. Actualización de la clasificación de errores de medicación del grupo Ruiz-Jarabo 2000. *Farm Hosp.* **2008**; 32: 38-52.
- 16 Bates DW, Leape LL, Cullen DJ, Cooper, Demonaco HJ, Gallivan T, et al. Effect of computerized physician order entry and a team intervention on prevention of serious medication errors. *JAMA* **1998**, 280: 1311-6.
- 17 Bates DW, Teich JM, Lee J, Seger D, Kuperman GJ, Ma'Luf N, et al. The impacto f computerized physician order entry on medication error prevention. *J Am Inform Assoc* **1999**; 6: 313-21.
- 18 Kuperman GJ, Gibson RF. Computer physician order entry: Benefits, costs and sigues. *Ann Intern Med* **2003**; 139: 31-9.
- 19 Delgado Silveira E, Soler Vigil M, Pérez Menéndez-Conde C, Delgado Tellez de Cepeda L, Bermejo Vicedo T. Errores de prescripción tras la implantación de un sistema de prescripción electrónica asistida. *Farm Hosp.* **2007**; 30: 223-230.
- 20 Delgado O, Escrivá A, Vilanova M, Serrano J, Crespí M, Pinteño M, et al. Estudio comparativo de errores con prescripción electrónica versus prescripción manual. *Farm Hosp.* **2005**; 29: 228-35.
- 21 Hidalgo FJ, Bermejo MT, De Juana P, García B. Implantación de un programa de prescripción médica electrónica en un hospital del INSALUD. *Farm Hosp.* **2002**; 26: 327-34.

- 22 Garz as-Martín MC, López-Malo MD, Abell on J, Fernández I, Isla B. Validación farmacéutica y detección de errores de prescripción de antineoplásicos en pacientes oncohematológicos. *Farm Hosp.* **2008**; 32: 286-9.
- 23 Díaz-Carrasco MS, Pareja A, Yachachi A, Cortés F, Espuny A. Errores de prescripción en quimioterapia. *Farm Hosp.* **2007**; 31: 161-4.
- 24 Goyache MP, Vicario MJ, García MP, Cortijo S, Esteban MJ, Herreros A. Errores de prescripción en citostáticos: análisis de sus causas y propuestas para prevenirlos. *Farm Hosp.* **2004**; 28: 361-70.
- 25 Aguirrez abal A,  lvarez M, Yurrebaso MJ, Vilella ML, Elguezabal I, Goicolea FJ, Escobar A. Detección de errores en la prescripción de quimioterapia. *Farm Hosp.* **2003**; 27: 213-23.
- 26 Sánchez E, Fernández LC, Giménez J, Fernández N, Marin I, Ynfante JI. Evaluación de errores en prescripciones antineoplásicas. *Seguim Farmacoter.* **2003**; 1: 105-9.
- 27 Pueyo C, Sánchez M, Bermejo T. Prescripción electrónica de quimioterapia: evaluación de su implantación en un hospital general. *Aten Farm.* **2007**; 9: 95-101.
- 28 Busto Fernández F, Pérez Fernández K, Pedreira Vázquez I, et al. Principales repercusiones de la implantación de un programa informático para la prescripción de medicamentos citotóxicos y terapia de soporte asociada. XLVIII Congreso Nacional de la SEFH, **2003**.
- 29 Koppel R, Metlay JP, Cohen A, Abaluck B, Rusell A, Kimmel SE, et al. Role of computerized physician order entry systems in facilitating medication errors. *JAMA* **2005**; 293: 1197-203.
- 30 Chertow GM, Lee J, Kuperman GJ, Burdick E, Horsky J, Seger DL, et al. Guided medication dosing for inpatients with renal insufficiency. *JAMA* **2001**; 286: 2839-44.
- 31 Gouveia WA, Shane R, Clark T. Computerized prescriber order entry: power, not panacea. *Am J Health Syst Pharm* **2003**; 60: 1838. 7. Costello, I.; Wong, I. C.; Nunn, A. J. A literature review to identify interventions to improve the use of medicines in children. *Child Care Health Dev* 30(6), 647-65 (2004 Nov).

ANEXO 1. HOJA DE RECOGIDA DE ERRORES DE MEDICACIÓN

IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE
Errores por omisión de información ¹
Errores por confusión ²
CARACTERÍSTICAS DEL ERROR
Medicamento erróneo
Prescripción inapropiada
<ul style="list-style-type: none"> • Medicamento no indicado/apropiado para el diagnóstico • Alergia previa o efecto adverso similar • Medicamento inapropiado para el paciente por edad, situación clínica... • Medicamento contraindicado • Interacción medicamento-medicamento • Duplicidad terapéutica • Medicamento innecesario
Transcripción de un medicamento diferente al prescrito

Omisión de dosis o de un medicamento
Falta de prescripción de un medicamento necesario
Omisión en la transcripción
Dosis incorrecta
Dosis mayor
Dosis menor
Dosis extra ³
Frecuencia de administración errónea ⁴
Forma farmacéutica errónea ⁴
Error de preparación/manipulación/acondicionamiento ^{4,5}
Vía de administración errónea ⁴
Velocidad de administración errónea ⁴
Hora de administración errónea ⁴
Paciente equivocado
Duración del tratamiento incorrecta ⁴
Duración mayor
Duración menor
Otros tipos
CAUSAS DEL ERROR
Problemas de comunicación/interpretación
Comunicación verbal incorrecta/incompleta/ambigua
Comunicación escrita incorrecta/incompleta/ambigua
<ul style="list-style-type: none"> • Escritura ilegible • Prescripción ambigua/incompleta • Hoja de administración de enfermería ambigua/incompleta • Escritura de cifras incorrecta • Uso de abreviaturas • Uso de unidades de medida no aceptadas internacionalmente • Falta de identificación/incorrecta identificación del paciente • Falta de información relevante o incompleta/incorrecta cumplimentación de datos del paciente (alergias, diagnóstico...) • Impresión poco clara (calco, fax, escáner...) • Otros
Interpretación incorrecta de la prescripción médica
Errores informáticos
Otros
Confusión en el nombre/apellidos de los pacientes
Confusión en los nombres de los medicamentos ⁶
Problemas en el etiquetado/envasado o información del producto ⁷
Factores individuales ⁸
Otras causas

¹ Omisión del nombre del paciente, número de historia clínica, fecha y firma del prescriptor, cama o servicio de ingreso, datos de alergias medicamentosas, nuevos diagnósticos.

² Error de cumplimentación de los datos incluidos en el apartado 1.

³ Se incluyen en esta categoría de error las prescripciones duplicadas.

⁴ Diferenciar entre omitida/errónea.

⁵ Incluye volumen y vehículo de disolución.

⁶ Se consideran tanto nombres comerciales como principios activos. Incluye similitud fonética u ortográfica y confusión entre prefijos o sufijos, entre formulaciones diferentes (por ejemplo, liposomales o no)...

⁷ Incluye, por ejemplo, problemas en la forma de dosificación por apariencia similar a otros productos en color, forma o tamaño, errores o similitudes en las presentaciones del acondicionamiento primario o del embalaje exterior, envases o acondicionamientos no adecuados para la dosis o vía de administración, problemas de falta de etiquetado de preparados en las unidades asistenciales, problemas en prospecto, ficha técnica, publicaciones impresas, bases de datos o documentos electrónicos por ser incompletos o inducir a error.

⁸ Incluye falta de conocimiento/formación sobre el medicamento o el paciente, despistes, falta de seguimiento de los procedimientos de trabajo, errores en el manejo del ordenador, errores en el cálculo de dosis o velocidad de infusión, estrés, sobrecarga de trabajo, cansancio o falta de sueño...

Estabilidad microbiológica de medicamentos elaborados en cabina de flujo laminar vertical mediante un sistema cerrado de transferencia de fármaco

Javier Sánchez-Rubio Fernández^{*1}, María del Carmen Lozano Iglesias², Irene Iglesias Peinado³

¹Servicio de Farmacia, Hospital Infanta Cristina, Parla, Madrid. ²Universidad Alfonso X el Sabio, Villanueva de la Cañada, Madrid. ³Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid
*e-mail: javier.sanchez@salud.madrid.org

Premio CINFA del Concurso Científico 2012 de la Real Academia Nacional de Farmacia. An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 3 (2013), pag. 465-480.

RESUMEN

El objetivo es evaluar la estabilidad microbiológica de mezclas elaboradas en cabina de seguridad biológica utilizando un sistema cerrado de transferencia, evaluar las fuentes de contaminación y determinar la capacidad del sistema para mantener la esterilidad de los viales. Para ello se simuló el proceso de elaboración de quimioterapia utilizando viales de medio de cultivo y el sistema cerrado PhaSeal®. Las 740 muestras que simularon contener fármaco resultaron negativas, demostrando la resistencia microbiológica del sistema independientemente del operador. Los viales se mantuvieron estériles a pesar de las múltiples manipulaciones. Se identificaron las manos del operador como fuente potencial de contaminación.

Palabras clave: Contaminación de fármacos; Estabilidad microbiológica; Cabinas flujo laminar.

ABSTRACT

Microbiological stability of drugs elaborated in a biological safety cabinet using a closed-system drug transfer device

The objective is to evaluate the microbiological stability of parenteral drugs compounded in biological safety cabinet using a closed-system drug transfer device, to evaluate the sources of contamination and to establish the system's ability to maintain sterility of the vial. We simulated the cytostatic compounding

procedure by using culture medium vials and Phaseal® closed system. The 740 samples were negative demonstrating the “microbiological resistance” of Phaseal® regardless of the operator. Vials maintained sterility despite multiple punctures. We identified the operator's hands as a potential source of contamination.

Keywords: Drug sterility; Safety cabinet; Transfer devine.

1. INTRODUCCIÓN

La elevada incidencia del cáncer en España (1) ha hecho que la elaboración de medicamentos antineoplásicos constituya uno de los campos de mayor relevancia en la práctica actual de la Farmacia Hospitalaria en nuestro país.

El preparado debe presentar una correcta composición, pureza y estabilidad, con un acondicionamiento idóneo y una identificación precisa y apropiada para el paciente según los requisitos establecidos en el Real Decreto 175/2001, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficinales (2).

Todas estas preparaciones deben llevar asignada una fecha de caducidad adecuada que se determina a partir de la información disponible sobre la estabilidad fisicoquímica del fármaco y las consideraciones microbiológicas oportunas. Las fuentes de información incluyen las guías de referencia, recomendaciones de los laboratorios fabricantes y las diferentes investigaciones publicadas cuando están disponibles (3).

En cuanto a la estabilidad microbiológica, en general, los laboratorios fabricantes no establecen plazos, sino que abogan por un uso inmediato del producto, pues la mayoría de formulaciones no contienen agentes bacteriostáticos en su composición y se hace prevalecer el principio de salvaguarda de la esterilidad frente a la estabilidad fisicoquímica. El uso ulterior de los fármacos en solución es, por tanto, una responsabilidad del usuario y queda supeditada a la utilización de una técnica aséptica adecuada y validada.

La manipulación de los citostáticos supone por tanto un reto a nivel técnico, pues es necesario observar una correcta técnica aséptica que impida la contaminación de la preparación y, por otro lado, la exposición del personal debe ser minimizada ya que muchos de estos medicamentos pueden originar efectos adversos (4).

Los profesionales sanitarios relacionados con la elaboración y administración de fármacos citostáticos sufren riesgo de exposición a cantidades variables de estos medicamentos a través de distintas vías (tópica, inhalatoria, percutánea accidental, transmucosa, etc.). Diversos estudios han demostrado la contaminación de las superficies de trabajo y diversos objetos (guantes, parte

externa de los viales, etc.) con fármacos antineoplásicos a pesar de la utilización de cabinas de seguridad biológica y el análisis de la orina de estos trabajadores ha resultado positivo en algunos estudios, reflejando un cierto grado de absorción sistémica de estos medicamentos (5-7). Esta exposición puede derivar en efectos perjudiciales por genotoxicidad (8-12), toxicidad sobre la reproducción (13,14) y potencial carcinogénico (15), así como por el desarrollo de síntomas agudos como náuseas, vómitos, diarrea, tos, irritación, sabor metálico, etc. (16).

En los últimos años se han realizado numerosos avances en la contención de estos riesgos, centrados en la mejor del equipamiento del personal y el control de la contaminación ambiental.

A pesar de estas medidas, como la utilización de cabinas de seguridad biológica, la exposición ocupacional continúa siendo un riesgo.

Uno de los aspectos más relevantes que influye en la probabilidad de exposición es la técnica empleada en el proceso de elaboración. Así, la técnica tradicional que consiste en la utilización de jeringas y agujas se ha relacionado con contaminación debido a la generación de aerosoles por el incremento de presión en el interior del vial, salpicaduras o pérdidas a través del elastómero del vial después de varias punciones (17,18).

Para solucionar este aspecto en los últimos años se han desarrollado los denominados sistemas cerrados que permiten contener el fármaco. Según el National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), un sistema cerrado de transferencia de fármacos se define como un dispositivo que impide de forma mecánica la transferencia de contaminantes ambientales al interior del sistema, a la vez que impide el escape de fármacos perjudiciales y aerosoles al exterior del sistema (19). Además, la ISOPP (*International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*) añade que el sistema debe ser hermético y estanco (18).

PhaSeal® (Becton Dickinson, New Jersey, USA) es un sistema cerrado que cumple con las definiciones previamente expuestas. Su mecanismo de funcionamiento se basa en la existencia de un dispositivo de doble membrana que permite crear una conexión hermética y una cámara de expansión cerrada que crea un sistema estanco capaz de contener todos los aerosoles, partículas y vapores generados en la elaboración.

Este sistema ha demostrado en numerosos estudios disminuir la contaminación de las superficies de trabajo (20-23) y la exposición del personal (24,25).

Sin embargo, son escasos los estudios que exploran la capacidad de este sistema para mantener la esterilidad del preparado, es decir, si es posible

desarrollar una técnica aséptica fiable tras la incorporación de este sistema cerrado al proceso de elaboración en la práctica real.

El objetivo de este estudio es evaluar la estabilidad microbiológica de los preparados parenterales elaborados en cabina de flujo laminar vertical utilizando un sistema cerrado de transferencia de fármacos, así como evaluar las posibles fuentes de contaminación.

Además, se determinará la capacidad de PhaSeal® para mantener la esterilidad de los viales a lo largo del tiempo en diferentes condiciones de almacenamiento y tras múltiples manipulaciones.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se simuló la elaboración de medicamentos citostáticos, llevada a cabo en la práctica clínica, utilizando como producto de partida viales con medio de cultivo tipo caldo triptona soja (TSB: Tryptone Soya Broth).

Se determinó la estabilidad microbiológica de los productos finales en función de la presencia o ausencia de contaminación microbiana a lo largo del estudio.

Se diseñó un procedimiento que reprodujera la elaboración de preparados con riesgo de contaminación medio que se detalla a continuación:

DÍA 0

Se imitó el proceso de reconstitución del vial y la preparación de una bolsa de infusión. Pasos:

1.- Inyectar en el vial de TSB 5 ml. de suero fisiológico estéril e invertir el vial dos veces, simulando la reconstitución de un vial de polvo liofilizado.

2.- Extraer una muestra de 7 ml. del vial con una jeringa de 10 ml. como toma de muestra del vial reconstituido.

3.- Extraer 13 ml. del vial con una jeringa de 20 ml., colocar un dispositivo secundario en una bolsa de perfusión vacía y transferirlo al interior de la bolsa de infusión, simulando la elaboración simple de una bolsa de infusión parenteral.

4.- Incubar las muestras (jeringas y bolsas de infusión) a $20-25^{\circ}\pm 2,5^{\circ}$ durante 14 días según se describe en la Farmacopea Americana (USP capítulo 797) (26).

5.- Almacenar los viales a temperatura ambiente o entre 2 y 8° según corresponda hasta el siguiente día del estudio.

DÍAS 1 y 4

Se simuló de preparación de una bolsa de infusión a partir de los viales almacenados. Pasos:

- 1.- Extraer una muestra de 7 ml. del vial con una jeringa de 10 ml.
- 2.- Colocar un dispositivo secundario en una bolsa de perfusión vacía.
- 3.- Extraer 13 ml. del vial con una jeringa de 20 ml. y transferirlo al interior de la bolsa de infusión.
- 4.- Incubar las muestras (jeringas y bolsas de infusión) a $20-25^{\circ}\pm 2,5^{\circ}$ durante 14 días.
- 6.- Almacenar los viales a temperatura ambiente o entre 2 y 8° según corresponda hasta el siguiente día del estudio.

DÍA 7

Se simuló de preparación de una bolsa de infusión a partir de los viales almacenados. Pasos:

- 1.- Extraer una muestra de 7 ml. del vial con una jeringa de 10 ml.
- 2.- Colocar un dispositivo secundario en una bolsa de perfusión vacía.
- 3.- Extraer 13 ml. del vial con una jeringa de 20 ml. y transferirlo al interior de la bolsa de infusión
- 4.- Incubar las muestras (viales, jeringas y bolsas de infusión) a $20-25^{\circ}\pm 2,5^{\circ}$ durante 14 días.
- 6.- Incubar los viales a $20-25^{\circ}\pm 2,5^{\circ}$ durante 14 días.

Adicionalmente, con el objetivo de determinar las posibles fuentes de contaminación al finalizar cada lote se tomaron muestras de contacto de la superficie de trabajo. Para ello se utilizó una placa Rodac de medio TSB con desinhibidores aplicada mediante presión en tres puntos de la superficie de trabajo seleccionados aleatoriamente (5 segundos cada vez). Igualmente, se tomaron muestras de contacto de los guantes del operador. Para ello se aplicaron mediante presión las yemas de los dedos enguantados de la mano izquierda sobre una placa de medio TSB con desinhibidores (5 segundos).

El procedimiento de elaboración completo se resume en la Figura 1. Este ciclo de preparación se repitió con 10 lotes de 8 viales cada uno. Todos los lotes fueron manipulados con el sistema PhaSeal® (Figura 2).

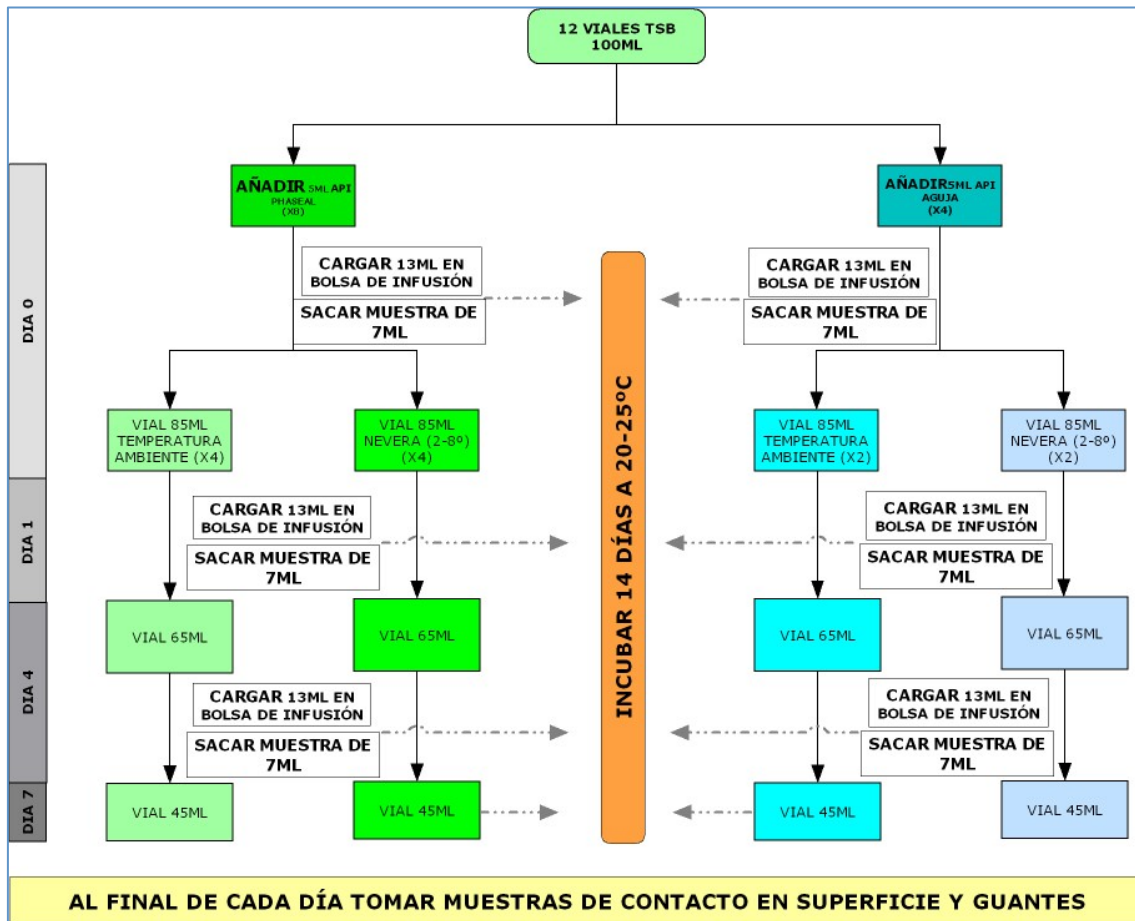


Figura 1.- Esquema metodológico.



Figura 2.- Sistema PhaSeal®.
(cortesía y © de Becton, Dickinson and Company. Reproducido con permiso).

Para cada brazo en cada lote se almacenaron la mitad de los viales a temperatura ambiente o en condiciones de refrigeración (2-8°). En todos los casos los viales se almacenaron en el exterior de la sala limpia.

Mientras que las manipulaciones llevadas a cabo con técnica tradicional con aguja se realizan aplicando la técnica de Wilson y Solimando (27), es decir, generando presión negativa en el interior del vial para minimizar la salida al exterior de aerosoles, esta técnica no se aplicó en la manipulación con PhaSeal®, ya que este sistema dispone de una cámara de expansión que recoge los aerosoles generados.

Todas las muestras fueron etiquetadas de manera correlativa incluyendo nombre del operador, fecha, número de lote y día del estudio manteniendo la trazabilidad de las muestras. Es decir, cada vial se etiquetó de la misma forma que las jeringas y bolsas provenientes del mismo para cada día del estudio, de manera que en caso de contaminación pudiera identificarse fácilmente la parte del proceso afectada.

La temperatura de incubación de las muestras se monitorizó de manera continua mediante sondas con registro por radio (Testo Saveris®) que realizan mediciones cada 3 minutos. Para cada periodo de incubación se determinó la temperatura media, la desviación estándar, así como los valores máximo y mínimo para comprobar que estuvieran dentro de lo especificado previamente.

Entorno de trabajo

Todos los lotes se elaboraron en el interior de una sala limpia, bajo condiciones de presión negativa en el interior de una cabina de seguridad biológica (Telstar Cystostar®) de tipo IIB, diseñada para minimizar los riesgos inherentes al trabajo con agentes biológicos de las Clases 1, 2 y 3 y específicamente para la preparación de citostáticos (Figura 3).



Figura 3.- Cabina de seguridad biológica.

Momento de la elaboración

Todos los lotes fueron elaborados al final de la jornada ordinaria de trabajo, momento en el cual existe una mayor probabilidad de contaminación.

Personal

Los lotes fueron elaborados por un farmacéutico y cuatro técnicos de farmacia con experiencia de al menos dos años en la elaboración de citostáticos. Cada manipulador elaboró dos lotes según el procedimiento descrito anteriormente. Todos los operadores debieron superar previamente a su inclusión en el estudio una prueba de llenado de medios ("*media fill test*"), demostrando su capacidad para desarrollar una técnica aséptica adecuada.

Vestimenta

La vestimenta de todos los operarios cumplió con los siguientes pasos:

En la zona de acondicionamiento, una vez retirados los elementos de joyería, el personal, ataviado con ropa específica hospitalaria, se colocó por orden: gorro desechable, mascarilla y calzas desechables. Se utilizaron mascarillas con alta eficiencia de filtrado de tipo FFP3.

Una vez en la presala y tras el lavado de manos, el operario se vistió con una bata quirúrgica estéril reforzada específica para la elaboración de citostáticos (Foliodress®, Hartmann, Alemania).

Dentro de la sala limpia, en el interior de la cabina de flujo laminar, se realizó la colocación de guantes estériles específicos para la elaboración de citostáticos. Dichos guantes se colocaron por encima de los puños de la bata.

3. RESULTADOS

Se incubaron un total de 740 muestras que simularon los productos finales resultantes del proceso de elaboración de quimioterapia. Las muestras se distribuyeron de la siguiente manera: 80 viales, 320 bolsas y 320 jeringas.

Además, se incubaron 40 placas con muestras de contacto de la superficie de trabajo, así como otras 40 con muestras procedentes del guante utilizado en la mano derecha del operador.

Las temperaturas de incubación de las muestras recogidas diariamente para cada lote de muestras se encontraron dentro del rango especificado previamente y se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1.- Temperaturas de incubación de las muestras.

LOTE	DÍA	MIN	MAX	MED	SD
1	0	23,63	26,94	25,20	0,63
	1	25,12	26,12	25,61	0,20
	4	24,21	26,01	25,10	0,33
	7	24,21	26,00	25,05	0,31
2	0	24,21	26,12	25,13	0,35
	1	24,21	26,12	25,07	0,35
	4	24,21	26,01	25,04	0,31
	7	24,28	26,01	25,15	0,32
3	0	24,37	26,00	25,15	0,34
	1	24,28	26,01	25,15	0,33
	4	24,37	26,01	25,16	0,34
	7	24,37	26,01	25,15	0,34
4	0	21,10	25,96	24,37	0,31
	1	24,27	25,96	25,04	0,32
	4	23,80	25,78	24,85	0,43
	7	23,13	25,78	24,61	0,64
5	0	22,89	25,13	23,77	0,54
	1	22,80	24,86	23,66	0,47
	4	21,07	24,60	23,17	0,73
	7	20,81	24,13	22,84	0,73
6	0	20,81	25,45	23,46	1,26
	1	20,81	25,52	23,56	1,33
	4	20,81	25,53	24,06	1,23
	7	22,63	25,82	24,73	0,61
7	0	24,53	26,77	25,39	0,45
	1	24,64	26,77	25,41	0,44
	4	24,64	26,77	25,54	0,39
	7	24,96	26,77	25,64	0,37
8	0	23,60	25,33	24,54	0,32
	1	24,02	25,37	24,59	0,30
	4	24,02	25,37	24,62	0,29
	7	23,61	25,33	24,54	0,32
9	0	23,39	25,38	24,47	0,51
	1	23,39	25,56	24,50	0,53
	4	23,40	25,62	24,72	0,41
	7	24,10	25,94	24,94	0,40
10	0	24,10	25,94	24,94	0,40
	1	24,10	25,94	24,98	0,42
	4	24,11	26,51	25,15	0,40
	7	24,66	26,72	25,39	0,45

Todas de las muestras que simularon los productos de elaboración fueron negativas al final del periodo de incubación, es decir, no presentaron contaminación microbiológica independientemente del operador, número de manipulaciones, de las condiciones y tiempo de almacenamiento.

En cuanto a las placas que evaluaron la posible contaminación de la superficie de trabajo y de las manos del operador, los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.- Resultados de las muestras de contacto sobre superficie de trabajo y guantes. * Cocos variables muy grandes. Bacilos negativos no tipo enterobacteria.

LOTE	OPERADOR.	DÍA	Resultado	Resultado	UFCs	Gram
1	1	0	-	-	-	
		1	-	-	-	
		4	-	-	-	
		7	-	-	-	
2	1	0	-	-	-	
		1	-	-	-	
		4	-	-	-	
		7	-	-	-	
3	2	0	-	-	-	
		1	-	-	-	
		4	-	-	-	
		7	-	-	-	
4	3	0	-	+	1	Bacilo gram+
		1	-	-	-	
		4	-	+	1	Flora mixta*.
		7	-	-	-	0
5	4	0	-	-	-	0
		1	-	-	-	0
		4	-	-	-	0
		7	-	-	-	0
6	3	0	-	-	-	0
		1	-	-	-	0
		4	-	+	1	Cocos racimo gram+
		7	-	-	-	
7	4	0	-	-	-	
		1	-	-	-	
		4	-	-	-	
		7	-	-	-	
8	2	0	-	-	-	
		1	-	-	-	
		4	-	-	-	
		7	-	-	-	
9	5	0	-	+	1	Cocos racimo gram+
		1	-	-	-	
		4	-	-	-	
		7	-	-	-	
10	5	0	-	+	2	Cocos racimo gram+
		1	-	-	-	
		4	-	-	-	
		7	-	-	-	

4. DISCUSIÓN

Una de las funciones esenciales de los Servicios de Farmacia Hospitalarios es la de proporcionar mezclas intravenosas listas para administrar asegurando, entre otros aspectos, su estabilidad físico-química así como la asepsia del preparado.

Los medicamentos antineoplásicos precisan de una dosificación individualizada para cada paciente en función de características antropométricas y fisiopatológicas y, por otro lado, la exposición a los mismos supone un riesgo para el personal manipulador. Por estos motivos, estos fármacos se elaboran en los Servicios de Farmacia Hospitalaria, que disponen de los equipos, conocimientos y personal necesarios para garantizar la calidad del producto final.

Otro aspecto importante que determina el periodo de validez del fármaco es que el preparado mantenga la asepsia.

Desde el punto de vista microbiológico, en nuestro estudio, ninguna de las muestras que simulaban contener fármaco resultó contaminada. Este hecho indica que la técnica aséptica empleada en la elaboración fue capaz de mantener la esterilidad del producto final.

De especial interés resulta el hecho de que los viales utilizados se mantuvieron estériles a lo largo del periodo de análisis, a pesar de ser sometidos a varias manipulaciones y ser almacenados fuera del área de trabajo estéril en los periodos entre muestreos. Este hecho permite plantear la utilización de las cantidades sobrantes de los viales durante el periodo de estabilidad físico-química de los mismos hasta una semana sin comprometer la seguridad del paciente.

El sistema cerrado utilizado (PhaSeal®) ha demostrado en numerosos estudios su capacidad para evitar el escape de vapores de fármaco citostático y, por tanto, de impedir la contaminación ambiental y la exposición del operador. Sin embargo, pocos son los trabajos realizados para evaluar su capacidad para impedir la entrada de contaminantes externos en el sistema.

De Prijck *et al.* (28) realizaron un primer estudio que comprobó la capacidad de PhaSeal® para impedir la transferencia de contaminación desde la parte externa del elastómero del vial al interior del mismo. De todos los sistemas de transferencia evaluados en su ensayo, PhaSeal® resultó ser el más resistente a la contaminación, aunque no la evitó completamente. Este hecho sin duda se justifica porque el estudio se realizó en condiciones forzadas en las que altas concentraciones de microorganismos se inocularon artificialmente en las superficies de los viales. La posibilidad de encontrar esta carga microbiana en el proceso real de elaboración de un citostático es nula, por lo que este ensayo, aunque permitió evaluar la capacidad del sistema, no refleja la práctica habitual.

Nuestro estudio, sin embargo, se llevó a cabo en condiciones reales de elaboración utilizando el procedimiento habitual del centro, por lo que el resultado del mismo presenta una mayor aplicabilidad práctica.

Recientemente otro estudio de metodología similar al nuestro ha sido publicado. En él, McMichael *et al.* (29) evaluaron 1.328 jeringas obtenidas de viales de medio cultivo a través del sistema PhaSeal®. De estas muestras sólo una resultó visualmente contaminada, siendo el resultado similar al obtenido en nuestro estudio, reforzando la “resistencia microbiológica” del sistema.

Sin embargo, nuestro análisis aporta un aspecto desde nuestro punto de vista fundamental: el proceso de muestreo se realizó tras simular la elaboración de mezclas de medicamentos citostáticos en bolsas de infusión, así como el proceso de reconstitución de los viales, mientras que en el estudio mencionado, el procedimiento fue más sencillo y, por tanto, menos real. De esta manera, el estudio realizado permite en nuestra opinión afirmar con una mayor solidez que PhaSeal® es capaz de mantener la esterilidad de los viales utilizados en el tiempo y después de varias manipulaciones.

Este hecho tiene una gran relevancia en la práctica habitual. A modo de ejemplo, en el caso de bortezomib, fármaco empleado en el tratamiento del mieloma múltiple, se comercializa únicamente en viales de 3,5 mg. cuando la dosis media por paciente es de 2,1 mg., es decir, sobraría de media cerca del 40% del contenido del vial (30). La ficha técnica (31) de este medicamento establece un periodo de validez del vial reconstituido de 8 horas, lo que en general conllevaría el desperdicio del sobrante, de elevado coste. Sin embargo, existen varios estudios bien diseñados que han demostrado la estabilidad durante al menos 5 días, llegando incluso en un uno de ellos hasta 42 días (32-36). Según esto, si se asegura la “resistencia microbiológica” del sistema, se podrían utilizar los viales de bortezomib (Velcade®) durante el periodo de estabilidad fisicoquímica. En un estudio previo demostramos que en la práctica real los viales de bortezomib (Velcade®) mantenían la asepsia durante al menos 5 días (37), hecho refrendado de manera consistente por los datos revelados en el presente trabajo.

En cuanto a otros sistemas cerrados, De Giorgi *et al.* (38) evaluaron la resistencia a la contaminación microbiana de la técnica de elaboración utilizando el sistema Cytosafe® y el sistema tradicional con aguja de manera análoga a nuestro trabajo. Durante un periodo de un mes, todas las muestras estudiadas resultaron negativas de manera coincidente con nuestros resultados.

Sin embargo, cabe señalar como crítica que se utilizaron en algunos casos viales muy pequeños (5 ml.), lo que obligaría a obtener muestras de muy bajo volumen en las que puede resultar más complicado detectar el crecimiento microbiano de manera visual por la aparición de turbidez.

Roy *et al.* (39) estudiaron la esterilidad de viales 25 fármacos antineoplásicos de uso común una vez abierto, concluyendo que en al menos 22 de ellos se podían considerar microbiológicamente estables según el procedimiento empleado.

Todos estos resultados apuntan hacia la utilización de los fármacos reconstituidos o diluidos preparados siempre que se utilice una técnica aséptica de preparación conveniente y validada.

Además, debe tenerse en cuenta que los resultados presentados se han obtenido trabajando en las peores condiciones posibles, tras el transcurso de toda la jornada de trabajo, cuando es mayor la posibilidad de contaminación y utilizando medio de cultivo en vez de fármaco, lo que favorece el crecimiento de microorganismos. El crecimiento microbiano resultaría sin duda más difícil en la práctica real, y en este sentido ha podido comprobarse que determinados fármacos antineoplásicos, como el topotecan, el cisplatino y el 5-fluorouracilo, presentan propiedades antimicrobianas y no constituyen un buen soporte para el crecimiento, lo que reduciría aún más la posibilidad de contaminación (40,41).

Por otro lado, cabe destacar que nuestro ensayo se realizó con personal suficientemente experimentado, y como requisito previo para su participación en el estudio se contrastaron sus conocimientos sobre higiene y los procedimientos de trabajo. Adicionalmente todo operador superó una prueba tipo "media-fill test" demostrando así su capacidad de llevar a cabo una técnica aséptica adecuada. Este método se considera el mejor para la evaluación de un proceso aséptico (42).

Como limitación, nuestros resultados, aunque orientadores, no pueden generalizarse a otros servicios de Farmacia puesto que son altamente dependientes de las instalaciones empleadas y su validación, la técnica de elaboración y el grado de formación del personal implicado. El procedimiento de preparación debe validarse individualmente en cada centro teniendo en cuenta todos estos parámetros.

La evaluación de las posibles fuentes de contaminación apunta a que las manos del operador, a pesar de la utilización de guantes estériles, constituyen la principal fuente de riesgo de contaminación microbiana, por encima de la superficie de trabajo. De manera similar otros estudios han demostrado que la principal fuente de contaminación en la preparación aséptica de medicamentos es el personal manipulador (43).

Una posible explicación causal es que en el interior de la cabina de seguridad biológica existen elementos no estériles, como los contenedores de desecho de agujas, los viales (parte externa), etc., que son tocados irremediablemente por el personal técnico con sus manos enguantadas. Estos componentes antes de introducirse en el área de trabajo son limpiados con alcohol

de 70º, pero esto no asegura la ausencia de microorganismos. Una posible solución a este aspecto, aunque de escasa aplicación en nuestro medio, sería la desinfección repetida de los guantes durante el proceso de elaboración. Así, la implementación de esta práctica utilizando alcohol isopropílico al 70% ha sido recomendada por algunos autores por asegurar bajas tasas de contaminación (44).

En cualquier caso, en ninguno de los lotes se produjo transferencia a la solución de medio de cultivo, lo que indica que una técnica adecuada puede soslayar la presencia de microorganismos incluso en los guantes de trabajo.

5. CONCLUSIONES

La utilización del sistema cerrado PhaSeal® permite el desarrollo de una técnica aséptica adecuada para la elaboración de preparados estériles en cabina de flujo laminar vertical. Los viales manipulados con este sistema mantienen la esterilidad durante al menos una semana tras varias manipulaciones, abriendo la posibilidad de la utilización de sobrantes. Las manos del operador pueden ser una fuente potencial de contaminación, aunque esta puede evitarse con una correcta técnica aséptica.

6. REFERENCIAS

1. Sánchez MJ, et al; CIBERESP Working Group. Cancer incidence and mortality in Spain: estimates and projections for the period 1981-2012. *Ann Oncol.* 2010;21 Suppl 3:iii30-6.
2. Real Decreto 175/2001, de 23 de Febrero, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficinales (BOE núm. 65, de 16 marzo [RCL 2001, 660]).
3. ASHP guidelines on quality assurance for pharmacy-prepared sterile products. American Society of Health System Pharmacists. *Am J Health Syst Pharm.* 2000;57(12):1150-69.
4. Connor TH, et al. Preventing occupational exposures to antineoplastic drugs in health care settings. *CA Cancer J Clin.* 2006;56(6):354-65.
5. Hedmer M, et al. Environmental and biological monitoring of antineoplastic drugs in four workplaces in a Swedish hospital. *Int Arch Occup Environ Health.* 2008;81(7):899-911
6. Sessink PJ, et al. Occupational exposure to antineoplastic agents at several departments in a hospital. Environmental contamination and excretion of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health.* 1992;64(2):105-12.
7. Connor TH, et al. Surface contamination with antineoplastic agents in six cancer centers in Canada and the United States. *Am J Health-System Pharm.* 1999; 56: 1427-1432.
8. Falck K, et al. Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet.* 1979;1(8128):1250-1.
9. Pilger A, et al. Long-term monitoring of sister chromatid exchanges and micronucleus frequencies in pharmacy personnel occupationally exposed to cytostatic drugs. *Int Arch Occup Environ Health.* 2000;73(7):442-8.

10. Hessel H, et al. The genotoxic risk of hospital, pharmacy and medical personnel occupationally exposed to cytostatic drugs--evaluation by the micronucleus assay. *Mutat Res.* 2001;497(1-2):101-9.
11. Roth S, et al. Analysis of chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of pharmacists before and after working with cytostatic drugs. *Mutat Res.* 1994;325(4):157-62.
12. McDiarmid MA, et al. Chromosome 5 and 7 abnormalities in oncology personnel handling anticancer drugs. *J Occup Environ Med.* 2010;52(10):1028-34.
13. Dranitsaris G, et al. Are health care providers who work with cancer drugs at an increased risk for toxic events? A systematic review and meta-analysis of the literature. *J Oncol Pharm Pract.* 2005;11(2):69-78.
14. Sauere-Cubizolles MJ, et al. Ectopic pregnancy and occupational exposure to antineoplastic drugs. *Lancet.* 1993; 341: 1169-71.
15. Hansen J, et al. Cancer morbidity among Danish female pharmacy technicians. *Scand J Work Environ Health.* 1994;20(1):22-6.
16. Valanis BG, et al. Association of antineoplastic drug handling with acute adverse effects in pharmacy personnel. *Am J Hosp Pharm.* 1993;50(3):455-62.
17. Chaffee BW, et al. Guidelines for the safe handling of hazardous drugs: consensus recommendations. *Am J Health Syst Pharm.* 2010;67(18):1545-6.
18. International Society of Oncology Pharmacy Practicioners Standards Committee. ISOPP standards of practice. Safe handling of cytotoxics. *J Oncol Pharm Pract.* 2007;13 Suppl:1-81.
19. National Institute for Occupational Safety and Health. Preventing occupational exposure to antineoplastic and other hazardous drugs in health care settings. NIOSH publication n° 2004-165. www.cdc.gov/niosh/docs/2004-165 (acceso diciembre 2011).
20. Sessink P, et al. Evaluation of the PhaSeal hazardous drug containment system. *Hosp Pharm.* 1999; 34: 1311-7.
21. Connor T, et al. Effectiveness of a closed-system device in containing surface contamination with cyclophosphamide and ifosfamide in an I.V. admixture area. *Am J Health Syst Pharm.* 2002; 59: 68-72.
22. Harrison B, et al. Comparison of surface contamination with cyclophosphamide and fluorouracil using a closed-system drug transfer device versus standard preparation techniques. *Am J Health Syst Pharm.* 2006; 63: 1736-44.
23. Siderov J, et al. Reducing workplace cytotoxic surface contamination using a closed-system drug transfer device. *J Oncol Pharm Pract.* 2010;16(1):19-25.
24. Yoshida J, et al. Use of a closed system device to reduce occupational contamination and exposure to antineoplastic drugs in the hospital work environment. *Ann Occup Hyg.* 2009;53(2):153-60.
25. Vandebroucke J, et al. How to protect environment and employees against cytotoxic agents, the UZ Ghent experience. *J Oncol Pharm Pract.* 2001; 6: 146-152.
26. United States Pharmacopeia, Inc. U.S. Pharmacopeia 27. Chapter <797>: Pharmaceutical Compounding - Sterile Preparations. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, 2004;2461-77.
27. Wilson JP, et al. Aseptic technique as a safety precaution in the preparation of antineoplastic agents. *Hosp Pharm.* 1981;16(11):575-6, 579-81.
28. De Prijck K, et al. Microbiological challenge of four protective devices for the reconstitution of cytotoxic agents. *Lett Appl Microbiol.* 2008;47(6):543-8.
29. McMichael D, et al. Utility of the PhaSeal closed system drug transfer device. *The American Journal of Pharmacy Benefits.* 2011;3(1): 9-16.

30. Clark L, et al. Ideal vial size for bortezomib: real-world data on waste and cost reduction in treatment of multiple myeloma in Brazil. *Value Health*. 2011;(5 Suppl 1):S82-4.
31. Agemed. Ficha Técnica Velcade®. (acceso agosto 2012).
32. André P, et al. Stability of bortezomib 1-mg/mL solution in plastic syringe and glass vial. *Ann Pharmacother*. 2005;39(9):1462-6.
33. Walker SE, et al. Stability of bortezomib reconstituted with 0.9% sodium chloride at 4°C and room temperature (23°C). *Cn J Hosp Pharm* 2008;61(1):14-20.
34. Bolognese A, et al. An NMR Study of the bortezomib degradation under clinical use conditions. *Adv Hematol*. 2009;2009:704928.
35. Vanderloo JP, et al. Stability of unused reconstituted bortezomib in original manufacturer vials. *J Oncol Pharm Pract*. 2011;17(4):400-2.
36. Perissutti M, et al. Etude de la stabilité d'une solution de bortézomib à 1 mg/mL conditionnée en seringue de polypropylène. *Congrès SFPO* 2011.
37. Sánchez-Rubio Ferrández J, et al. Extended stability of bortezomib. *Hospital Pharmacy Europe* 2010; 49:17-8.
38. De Giorgi I, et al. Sterility validity period of vials after multiple sampling under vertical laminar airflow hood. *J Oncol Pharm Pract*. 2005;11(2):57-62.
39. Roy JJ, et al. Study of microbiological safety of 25 oncology drugs after multiple uses in aseptic conditions. *Int J Pharm Compd* 2011;15(5):428-34.
40. Holmes CJ, et al. Viability of microorganisms in fluorouracil and cisplatin small-volume injections. *Am J Hosp Pharm*. 1988; 45:1089-91.
41. Patel K, et al. Microbial inhibitory properties and stability of topotecan hydrochloride injection. *Am J Health Syst Pharm*. 1998;55(15):1584-7.
42. Kawamura K. The media fill (simulation) test is the best method to evaluate aseptic processing. *PDA J Pharm Sci Technol* 2002;56:57-8.
43. Trissel LA, et al. Using a medium-fill simulation to evaluate the microbial contamination rate for USP medium-risk-level compounding. *Am J Health Syst Pharm* 2005;62(3):285-8.
44. Trissel LA, et al. Effect of two work practice changes on the microbial contamination rates of pharmacy-compounded sterile preparations. *Am J Health Syst Pharm*. 2007;64(8):837-41.

Diseño de un modelo de atención farmacéutica infantil para la validación de órdenes médicas en hospitales españoles

Cecilia M. Fernández-Llamazares¹, M. Pozas², Juan Carlos Juárez-Giménez³, Yolanda Hernández-Gago⁴, Begoña Feal⁵, M. Josep Cabañas³, Miquel Villaronga⁶, Esteban Valverde⁷ y Concha Álvarez-del Vayo⁸

¹Servicio de Farmacia, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid. ²Servicio de Farmacia, Hospital Niño Jesús, Madrid. ³Servicio de Farmacia, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona. ⁴Servicio de Farmacia, Hospital Materno-Infantil de Canarias, Las Palmas. ⁵Servicio de Farmacia, Hospital Teresa Herrera CHUAC, La Coruña. ⁶Servicio de Farmacia, Hospital San Joan de Deu, Barcelona. ⁷Servicio de Farmacia, Hospital Carlos Haya, Málaga. ⁸Servicio de Farmacia, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla.

En nombre del Grupo Español de Farmacia Pediátrica.

e-mail: cecilia.martinez@salud.madrid.org

Trabajo premiado con el Premio COFARES del Concurso Científico 2012 de la Real Academia Nacional de Farmacia. An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 3 (2013), pag.481-504.

RESUMEN

El presente proyecto desarrolla un modelo de Atención Farmacéutica Infantil para la validación de órdenes médicas de pacientes pediátricos. Para su desarrollo, se realizó un estudio del perfil de seguridad en la prescripción en 8 hospitales españoles pediátricos. Se registraron 667 intervenciones (49,3%-error dosis; 15,1%-forma farmacéutica errónea; 10,7%-medicamento incorrecto 9,3%-frecuencia errónea, entre otros). Posteriormente se desarrolló dicho modelo siguiendo la metodología Delphi con un panel de 50 expertos. Como resultado se obtiene un modelo con 39 cuestiones dividido en 3 niveles de complejidad: básico, intermedio y avanzado, con sus respectivas herramientas para el chequeo y perfectamente exportable a otros hospitales.

Palabras clave: Atención Farmacéutica; Pediatría; Error de Medicación.

ABSTRACT

Development of a Paediatric Pharmaceutical Care Model for validating prescriptions orders in Spanish Hospitals

This project develops a model for Pharmaceutical Care Child validation of pediatric medical orders. For its development, a study of the safety profile in

prescribing Spanish in 8 pediatric hospitals. There were 667 interventions (49.3%-error dose, 15.1%, wrong dosage form, 10.7%, 9.3% wrong medicine-often erroneous, among others). Subsequently that model was developed by the Delphi methodology with a panel of 50 experts. The result is a model with 39 questions divided into three levels of complexity: basic, intermediate and advanced, with their respective tools for checking and perfectly exportable to other hospitals.

Keywords: Pharmaceutical Care; Paediatrics; Medication Error.

1. INTRODUCCIÓN

La provisión de Atención Farmacéutica en los hospitales nace de la necesidad de concebir la utilización del medicamento como un proceso global que no sólo incluye la elaboración, dispensación y administración del medicamento, sino que también comprende el análisis de la necesidad, eficacia y seguridad que tiene un medicamento en un paciente concreto (1), así como la consideración diferencial que tienen aquellos pacientes que son atendidos por patologías agudas, de aquellos que son tratados por sus enfermedades crónicas, muchas de ellas de aparición congénita. Por ello, los farmacéuticos de hospital han experimentado un cambio en su profesión, desarrollando los aspectos más clínicos de la misma para participar en la toma de decisiones sobre la farmacoterapia del paciente (2) y ser así corresponsables de los resultados en salud de los pacientes (3), involucrándose de forma inequívoca en la garantía de velar por la continuidad asistencial de aquellos pacientes que, al alta, requieren un seguimiento, tratamiento y cuidados posteriores por tratarse de pacientes con patologías crónicas.

A pesar de que son muchos autores los que posicionan la implantación de la figura del farmacéutico clínico (4-7) como estrategia para conseguir una mejora en el uso de los medicamentos en pediatría debido a la aportación de estos profesionales en términos de seguridad y de coste económico desde hace décadas (8-9) hasta nuestros días incluso en nuestro país (10), el desarrollo tardío de la Farmacia Clínica como especialidad en España, comparada con otros países hace que el volumen de farmacéuticos clínicos sea aún pequeño, y más aún aquellos dedicados a la Farmacia Pediátrica, pese a los grandes esfuerzos llevados a cabo para conseguir una formación clínica pediátrica tanto académica como práctica (11-12).

Para la definición de un modelo de Atención Farmacéutica Infantil (AFI) para la validación de órdenes médicas pediátricas debemos pues incluir todos aquellos aspectos que deben revisarse como causas de los diferentes tipos de error descritos, y llegar a un consenso, ya que hay que destacar que, con respecto a la detección de errores de prescripción, no existe una medida estándar, ni un punto

de referencia universal para la definición de lo que se considera un error, especialmente en población pediátrica (13). Esto queda palpable por el hecho de que en los estudios que analizan la prevalencia de los errores de medicación en pediatría, varios autores confirman la falta de uniformidad y la gran heterogeneidad en la definición de los mismos (14-16). Con la intención de abarcar todos los posibles motivos de error de prescripción en pacientes pediátricos se empleará una herramienta de registro de intervenciones y errores previamente validada (17), y que ha sido empleada en estudios similares al nuestro con óptimos resultados (10, 18).

Para la realización del Modelo de Atención Farmacéutica Infantil (AFI) se empleó una prueba Delphi de doble ronda (19). Se eligió este método, por encima de otros métodos de consenso, ya que no es precisa una comunicación directa entre los expertos, si bien permite un cierto grado de interacción entre los mismos, especialmente útil cuando no es posible un contacto cara a cara. De esta manera, el método Delphi modificado solicita la información individual y anónima de cada experto sobre el tema a debate mediante la respuesta en una encuesta estructurada escrita, vehiculizada en este caso por correo electrónico. La repetición individual de una segunda ronda de encuesta sobre las cuestiones no consensuadas en el primer intento, previa información a los participantes de los resultados obtenidos en el primer cuestionario y de sus comentarios individuales. Esto permite la reconsideración y aproximación de posturas divergentes, con lo que se logra el máximo consenso posible. Es una técnica que se ha empleado cada vez más en el desarrollo de guías de práctica clínica y para la obtención de definiciones uniformes de términos ampliamente empleados y como baja homogeneidad (20-22).

2. OBJETIVO

Desarrollar un modelo de Atención Farmacéutica Infantil para la validación de órdenes médicas pediátricas a partir de la descripción del perfil de errores de prescripción en las órdenes médicas de los pacientes pediátricos ingresados en nuestro país detectados y prevenidos por los farmacéuticos clínicos pediátricos, así como las herramientas necesarias para llevar a cabo cada una de las comprobaciones que el modelo, en sus diferentes grados de complejidad, incluye.

3. METODOLOGÍA

Para la construcción del modelo, se siguieron tres pasos: primero, se definieron los niveles de complejidad del mismo. En un segundo paso, se describieron los aspectos mínimos que debe incluir el proceso de validación de cada uno de los niveles de complejidad descritos previamente. Y, por último, en el

último paso, se realizó una prueba de consenso que daría lugar a la definición del modelo final. Se explica a continuación en detalle la metodología seguida en cada uno de estos tres pasos:

Definición de los niveles de complejidad del modelo.

Para el establecimiento de los niveles de complejidad del modelo validación se realizará según el nivel de acceso a la historia clínica y farmacoterapéutica del paciente de que se disponga, del acceso al personal facultativo médico y de enfermería que atienden al paciente y del tiempo disponible del farmacéutico.

Así, se distinguen dos niveles de acceso a la información del paciente a través de la orden médica: parcial: se dispone únicamente de los datos de filiación del paciente, con su nombre y apellidos, edad, peso, cama y unidad en la que se encuentra ingresado. Si además no se dispone de historia clínica electrónica, el acceso a los datos analíticos básicos debe hacerse de forma manual y en ocasiones puede no disponerse en la orden médica de la información relativa al diagnóstico y las alergias del paciente; total: se dispone de acceso a datos informatizados de la historia clínica del paciente, disponiendo asimismo en la prescripción de información completa respecto a la filiación del paciente, su diagnóstico de ingreso y e historial de alergias.

En cuanto al acceso al personal de planta, tanto facultativo médico como de enfermería, este puede ser: no presencial, con disponibilidad telefónica de los mismos para solventar cualquier duda; presencial, con acceso cercano a los demás miembros del equipo multidisciplinar de cuidado al paciente.

Por último, en cuanto al tiempo que el farmacéutico puede invertir en la revisión de las órdenes médicas, podemos distinguir dos casos: el farmacéutico dispone de entre 5-15 minutos por orden médica, denominado como periodo limitado; el farmacéutico puede invertir más de 15 minutos en cada paciente, denominado periodo adecuado.

Definición de los aspectos mínimos que debe incluir el proceso de validación de cada uno de los niveles de complejidad

Para la descripción de los aspectos mínimos que debe incluir el proceso de validación en cada uno de los niveles de complejidad descritos, se analizó el perfil de seguridad de la prescripción en nuestros hospitales pediátricos objetivándose la variedad, tipos de errores de prescripción detectados y prevenidos por los farmacéuticos pediátricos en nuestro país, así como los motivos que los causan, con el fin de redistribuir su posible detección según el nivel de complejidad de validación que se lleve a cabo. Se revisan los tipos de errores de medicación, según la adaptación española de la clasificación de errores de medicación del National Coordinating Council for Medication Error Reporting and Prevention (NCCMERP)

que bajo la coordinación del ISMP-España, realizó el grupo Ruiz-Jarabo (23), y según los motivos descritos la definición de error de medicación en pediatría más uniforme conseguida (21).

Así, a partir del análisis de los distintos tipos de errores, de los motivos que pueden provocar este error, y la significación clínica de ese error se establecen los datos a comprobar. Las labores exigidas son progresivas en todos los aspectos relativos al nivel de complejidad, objetivando que en el nivel de mayor complejidad de validación deben llevarse a cabo las labores mínimas contempladas en los niveles previos, intentando que en el nivel más complejo de validación se pueda llegar a detectar cualquiera de los tipos de errores de medicación descritos, siendo por tanto, la más completa. Configuran así una escala de complejidad creciente ordinal de tipo Likert.

Para la descripción del perfil de seguridad de la prescripción y la actividad de los fármacos pediátricos se realizó un estudio epidemiológico multicéntrico descriptivo prospectivo realizado entre los meses de Julio y Octubre de 2011, en 8 hospitales que tratan pacientes pediátricos. Según un tamaño muestral previamente calculado, se estimó que cada centro debía recoger al menos 100 intervenciones en un periodo de tiempo dentro del margen señalado, y en aquellos en los que la tasa de intervenciones fuera menor, la duración máxima del periodo de recogida sería de 90 días. El conjunto de centros cubría un total de 1565 camas pediátricas. Algunos de ellos disponían de sistemas de prescripción electrónica, mientras que otros empleaban sistema de prescripción manual. En unos casos estaban dotados de armarios automatizados de dispensación, mientras que el resto disponían o bien de sistemas de dispensación en dosis unitarias, y los menos, de botiquín en planta. Las intervenciones realizadas eran sistemáticamente registradas por los farmacéuticos clínicos en una base de datos Access® 2003 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) previamente validada, recogiendo las siguientes variables de medida: centro implicado, datos demográficos del paciente (grupo de edad y edad en años según la clasificación descrita por la Agencia Europea del Medicamento –EMA (24)), sistema de prescripción y de dispensación empleado, motivo de la intervención, significación clínica, tipo de error según la actualización de clasificación descrita por el grupo Ruiz Jarabo y el fármaco implicado, así como su grupo farmacoterapéutico.

En cuanto a los tipos de errores de medicación, se empleará la clasificación del Grupo Ruiz Jarabo (23), que es una adaptación española de la clasificación del NCCMERP, realizándose una distribución de los diferentes motivos de intervención, con los tipos de errores de medicación equivalentes (Tabla 1), obteniéndose por tanto una relación entre los diferentes tipos de errores de medicación, con una severidad clínica asociada. Para la evaluación de la relevancia clínica se utiliza una escala ligeramente modificada de Overhage & col. y se genera

una variable categórica con cinco categorías: potencialmente letal, seria, significativa, menor y ausente de error. Se trata de una escala validada que asocia los posibles motivos de las intervenciones, con la severidad clínica de los errores detectados.

Tabla 1.- Categorías de error asociadas a la fase de prescripción según la nomenclatura Ruiz Jarabo, motivos de intervención que detectan dichos PRMs y significación clínica de las mismas según escala modificada de Overhage previamente validada. *NCCMERP: National Coordinating Council for Medication Error Reporting. EA: efecto adverso; M: medicamento; OM: orden médica

Tipos de errores de medicación Ruiz-Jarabo (adaptación española de la clasificación de errores de medicación del NCCMERP)		Motivo equivalente (en la base de datos utilizada)	Significación clínica
Medicamento incorrecto	Prescripción inapropiada	Medicamento no indicado/apropiado para el diagnóstico a tratar	Serio
		Historia previa de alergia o EA similar con el mismo medicamento o similares	Serio
		Medicamento contraindicado	Serio
		Interacción medicamento-medicamento	Potencialmente letal.
		Interacción medicamento-alimento	Significativa
		Medicamento inapropiado para el paciente por su edad, situación clínica o patología	Serio
		Duplicidad terapéutica	Significativo
	Medicamento innecesario	Serio	
Omisión de dosis o de medicamento	Falta de prescripción de un medicamento necesario	Significativa	
	Omisión en la transcripción (algo comunicado en la sesión, y no prescrito)	Significativa	
Dosis incorrecta	Dosis mayor de la correcta	Error Dosis: resulta en concentraciones potencialmente tóxicas	Serio
		Error Dosis:1,5 a 10 veces > a normal (si medicamento de Rango Terapéutico normal).	Significativa
		Error Dosis:1,5 a 4 veces > a normal (si medicamento de estrecho Rango Terapéutico)	Significativa
		Error Dosis:10 veces > a normal (si medicamento de Rango Terapéutico Normal).	Significativa
		Error Dosis:10 veces > a normal (si medicamento de Estrecho Rango Terapéutico)	Serio
		Error Dosis:4 a 10 veces >a normal (si medicamento de estrecho Rango Terapéutico)	Serio
	Dosis menor de la correcta	Error Dosis: muy baja en medicamentos que potencialmente NO salva vida	Significativa

		Error Dosis: muy baja en medicamentos que potencialmente salva vida	Potencialmente letal.
Frecuencia de administración errónea		Intervalo posológico no adecuado	Significativo
Forma farmacéutica errónea		Forma farmacéutica inadecuada o no disponible	Menor
Vía de administración errónea		Vía administración que puede llevar a toxicidad leve	Menor
		Vía administración que puede llevar a toxicidad severa	Serio
Paciente equivocado		Medicamento sin indicación (indicación no estudiada o sin evidencia de uso)	Serio
Duración del tratamiento incorrecta	Duración mayor de la correcta	Medicamento sin indicación (indicación no estudiada o sin evidencia de uso)	Serio
	Duración menor de la correcta	Omisión de un medicamento en la orden médica (indicación no tratada)	Significativo
Monitorización insuficiente del tratamiento	Falta de revisión clínica	NO APLICABLE	
	Falta de controles analíticos	Omisión pretest en medicamento con posible hipersensibilidad, u omisión de control analítico que puede llevar a toxicidad	Serio
Otros		Ahorro económico	Ausencia de error
		llegible, ambiguo o abreviaturas no comprensibles (en las órdenes de guardia)	Menor
		Información incompleta en la orden médica	Menor
		Medicamento en falta de laboratorio	Menor
		Reacción adversa que amenazan la vida del paciente	Potencialmente letal.
		Terapia secuencial	Menor

Con respecto al fármaco implicado, se registró tanto el nombre del principio activo, como el grupo terapéutico definido por la clasificación Anatómica-Terapéutica-Química (ATC) descrita por el Nordic Council en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS) (25).

Como indicador de actividad farmacéutica se empleó el número de “intervenciones/día-cama” o lo que es parecido, “intervenciones/estancia” que además nos permite comparar centros.

Los resultados fueron analizados posteriormente mediante el paquete estadístico SPSS en su versión 19.0, analizándose las variables descriptivas en forma de porcentajes, medias y desviaciones estándar.

Prueba Delphi de consenso de doble ronda que lleva a la definición final del Modelo AFI para la validación de órdenes médicas de pacientes pediátricos.

A partir de este perfil de prescripción obtenido se elaboró por parte del investigador principal del proyecto, impulsor del mismo, una propuesta inicial de modelo que incluía tres niveles de complejidad de validación de órdenes médicas

pediátricas: básico, de complejidad intermedia y avanzada. Partiendo del modelo propuesto, el investigador principal, con la colaboración de un asesor metodológico independiente, trabajó en la elaboración de un cuestionario inicial. A continuación se constituiría un panel de expertos en Atención Farmacéutica Pediátrica a lo largo de nuestra geografía, que valorarían en 2 rondas consecutivas, la adecuación del modelo inicial propuesto. Se consideraría consensuado cada ítem cuando el 70% del panel coincidiera en lo indicado en su respuesta. Tras la discusión de lo no consensuado, se realiza una segunda ronda tras la cual se define el modelo final consensuado. Una vez alcanzado el mismo, quedó diseñado el modelo global, junto con las herramientas necesarias para llevar a cabo todas las comprobaciones necesarias incluidas en el modelo de validación y las fuentes de información pediátricas.

4. RESULTADOS

Perfil de seguridad de la prescripción en nuestros hospitales pediátricos.

Durante el periodo de estudio se registraron un total de 667 intervenciones en 8 centros. De ellas, fueron excluidas 21. El 41,2% de las intervenciones correspondía a sistemas de prescripción manual, y el 58,8% a sistemas de prescripción electrónica. El 21,6 % de las intervenciones se realizaron en camas con dispensación de medicamentos a través de botiquines en planta, el 44,7% a través de sistemas de distribución de medicamentos en dosis unitaria, y el 33,7% en camas con armarios automatizados de dispensación.

Las intervenciones se realizaron sobre pacientes con una media de edad de 5 años (mediana de 3 años y desviación estándar de 5,43).

Los principales errores de medicación son errores de dosificación (291 casos, 49,3%), forma farmacéutica errónea (89 casos, 15,1%), medicamento incorrecto (63 casos, 10,7%), seguido de la frecuencia de administración errónea (55 casos, 9,3%), entre otros.

En las intervenciones realizadas en presencia de un error de prescripción estaban implicados 212 fármacos diferentes, pertenecientes fundamentalmente al grupo de antiinfecciosos (Grupo J: 30,0%), seguido del grupo del aparato gastrointestinal y metabolismo (Grupo A: 20,0%), de la terapia relacionada con el sistema nervioso (Grupo N: 15,1%) y del aparato cardiovascular (Grupo C: 9,3%).

Respecto a la actividad de los farmacéuticos clínicos pediátricos, esta es muy variable, con una media, durante el periodo de recogida de datos de 0,014 intervenciones/día-cama (mínimo de 0,003 intervenciones/día-cama en uno de los centros, que agotó el periodo establecido de 90 días de recogida, y alcanzó en ese periodo 77 intervenciones –282 camas con 77% de ocupación– , hasta un máximo

de 0.065 intervenciones/día-cama, correspondiente a un centro que realizó 101 intervenciones en 11 días –170 camas, 78% ocupación en el periodo de estudio). Todos los datos pueden consultarse en la Tabla 2.

Tabla 2.-Resumen de datos de actividad por centro. H1: Hospital Gregorio Marañón; H2: Hospital Niño Jesús; H3: Hospital Carlos Haya; H4: Hospital Juan Canalejo; H5: Hospital San Joan de Deu; H6: Hospital Vall'd Hebron; H7: Hospital MI Las Palmas; H8: Hospital Virgen del Rocío.

Centro	Intervenciones	Camas de pediatría	Ocupación	Días reales de recogida de intervenciones	Estancias (camas * ocupación * días)	Nº INTERVENCIONES /DIA-CAMA
H1	130	187	0,65	25	3038,7	0,0427
H2	101	180	0,7823	11	1548,9	0,0652
H3	23	230		66	0	-
H4	66	123	0,538	45	2977,8	0,0221
H5	77	282	0,77	90	19542,6	0,0039
H6	100	173	0,85	43	6323,1	0,01581
H7	100	271	0,30	67	5447,1	0,0186
H7	70	119	0,75	49	4373,2	0,0160

Respecto a los resultados obtenidos en cada uno de los centros participantes, la descripción de las principales variables de estudio pueden observarse en la Tabla 3. Los grupos poblacionales sobre los que se llevan a cabo la mayor parte de las intervenciones farmacéuticas son los lactantes y los niños. El perfil de actividad de los farmacéuticos pediátricos es muy semejante, si exceptuamos el centro 3, el cual centra la actividad del farmacéutico en el área de preparación de citostáticos, y por tanto, más del 70% de los errores que detecta están relacionados con este grupo farmacoterapéutico. Aún así, el perfil del tipo de errores coincide, siendo fundamentalmente la dosis errónea de los fármacos. Quizás en la variable en la que se localizan las mayores diferencias corresponde a la que señala el volumen de actividad, puesto que hay grandes diferencias en el volumen de intervenciones realizadas en unos y otros centros.

Tabla 3.- Descripción de los resultados detallados por hospital. H1: Hospital Gregorio Marañón; H2: Hospital Niño Jesús; H3: Hospital Carlos Haya; H4: Hospital Juan Canalejo; H5: Hospital San Joan de Deu; H6: Hospital Vall'd Hebron; H7: Hospital MI Las Palmas; H8: Hospital Virgen del Rocío.

		H1: n=126	H2: n=70	H3: n=21	H4: n=51	H5: n=75	H6: n=85	H7: n=100	H8: n=62							
Grupos de edad (% respecto total intervenciones por existencia error)	Neonatos	19,0	0,0	0,0	2,0	9,3	4,7	13,0	3,2							
	Lactantes	36,5	18,6	23,8	54,9	20,0	25,9	24,0	27,4							
	Niños	26,2	47,1	71,4	33,3	40,0	49,4	46,0	53,2							
	Adolescentes	18,3	34,3	4,8	9,8	30,7	20,0	17,0	16,1							
Principios activos mayoritarios (% sobre total intervenciones por error)	Ranitidina	14,3	Paracetamol	8,6	Etoposido	19,0	Omeprazol	7,8	Paracetamol	10,7	Aztreonam	4,7	Cefazolina	10,0	Omeprazol	8,1
	Ondansetron	8,7	Ranitidina	8,6	Asparaginasa	14,3	Furosemida	5,9	Amoxi-clavulanico	9,3	Valganciclovir	4,7	Amoxi-clavulanico	9,0	Palivizumab	6,5
	Paracetamol	7,1	Metamizol	7,1	Ciclofosfamida	9,5	Ac. Ursodeoxicólico	5,9	Gentamicina	8,0	Anidulafungina	3,5	Ranitidina	5,0	Voriconazol	6,5
Grupos farmacoterapéuticos mayoritarios	A	32,5	N	30,0	L	71,4	A	21,6	J	40,0	J	37,6	J	52,0	J	24,2
	N	20,6	A	27,1	A	4,8	C	21,6	N	21,3	A	16,5	A	13,0	A	21,0
	J	17,5	J	22,9	B	4,8	J	19,6	A	10,7	H	8,2	N	13,0	L	12,9
Tipos de error Ruiz Jarabo	Dosis	65,9	Dosis	35,7	Dosis	33,3	Forma farmacéutica	35,3	Dosis	53,3	Dosis	50,6	Dosis	60,1	Dosis	32,3
	Otros	13,5	Forma farmacéutica	21,4	Medicamento	33,3	Dosis	25,5	Medicamento	21,3	Forma farmacéutica	23,5	Forma farmacéutica	12,0	Medicamento	25,8
	Frecuencia	6,3	Otros	18,6	Frecuencia	14,3	Frecuencia	9,8	Forma Farmacéutica	8,0	Frecuencia	15,3	Frecuencia	10,0	Forma Farmacéutica	21,0
Severidad clínica errores	Potencialmente letal	0,0	1,4	4,8	0,0	1,3	1,2	4,0	6,5							
	Serio	19,0	12,9	28,6	21,6	16,0	20,0	18,0	32,3							
	Significativo	60,4	44,3	47,6	31,4	68,0	50,6	64,0	24,2							
	Menor	20,6	41,4	19,0	47,0	14,7	28,2	14,0	37,0							

Desarrollo del modelo AFI para la validación de órdenes médicas de pacientes pediátricos

En base a este perfil se definió el modelo inicial, que fue sometido a la prueba de consenso Delphi de doble ronda (Figura 1). Se conformó un panel de 50 expertos, de 20 centros diferentes. En la primera ronda Delphi se realizó el envío de un cuestionario con 27 aspectos a evaluar, a los 50 miembros del panel. Fueron respondidos y devueltos 49 cuestionarios en la primera ronda, alcanzándose consenso en esta ronda en 19 de las cuestiones planteadas. A continuación se distribuyeron los resultados, y tras la discusión y justificación de cada postura, se envió a los 50 miembros del panel un nuevo cuestionario, que partiendo de los 6 aspectos no consensuados en la fase previa, contenía 22 nuevas cuestiones. De los 47 cuestionarios respondidos y devueltos en esta segunda ronda, se alcanzaba consenso en 20 de ellos, que pasaron a formar parte del modelo final, junto a las cuestiones consensuadas en la primera ronda.

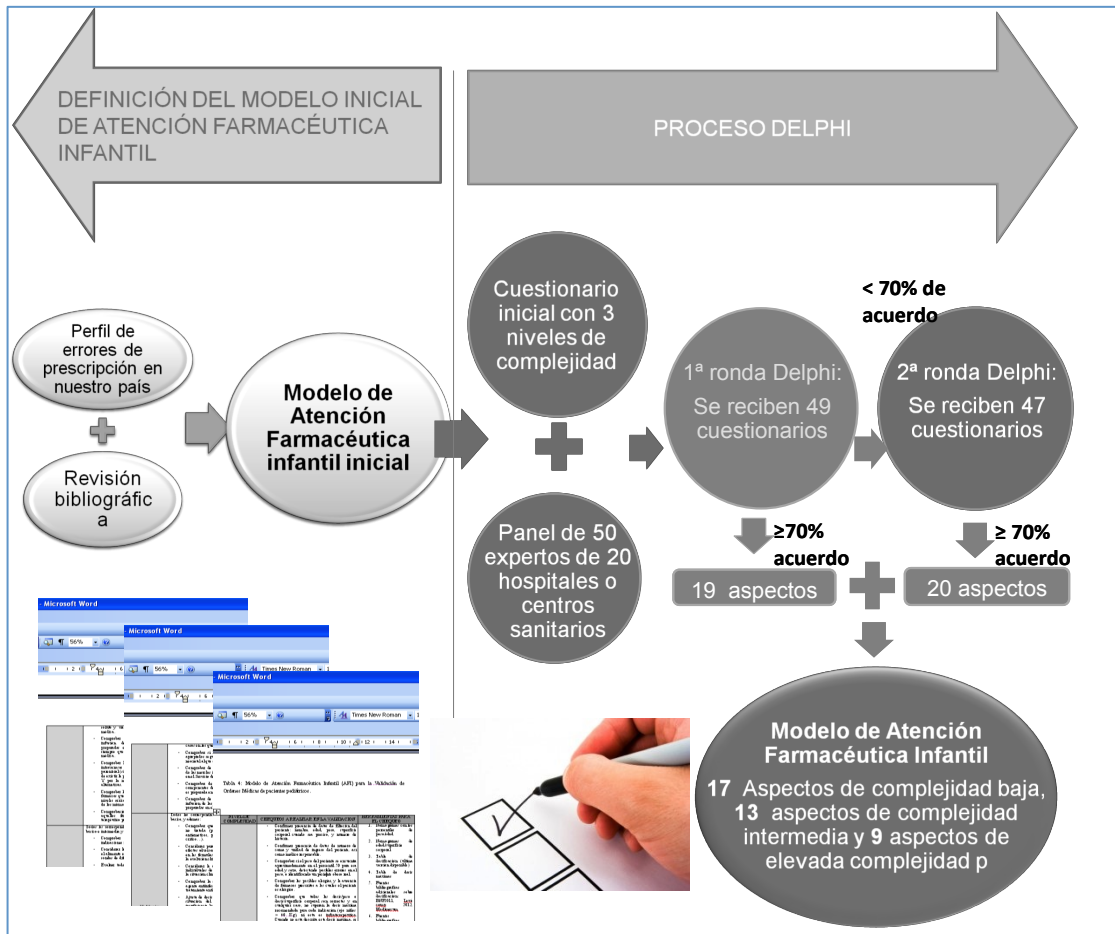


Figura 1.- Resultados prueba Delphi.

El modelo final pues pasó a estar formado por 39 cuestiones a comprobar en la validación de una orden médica pediátrica: 17 de ellas formaban parte de un modelo de complejidad básica, 13 adicionales componían el modelo de complejidad intermedia, y finalmente 9 aspectos extras se incluían en un modelo de complejidad avanzada. El modelo final, junto a las herramientas básicas para implementar el modelo puede consultarse en la Tabla 4. Las herramientas de acceso a fuentes de información pediátricas (incluidas las herramientas web 2.0), junto con los criterios para su selección, se pueden consultar en el Anexo 1.

Tabla 4.-Modelo de Atención Farmacéutica Infantil (AFI) para la Validación de Ordenes Médicas de pacientes pediátricos.

NIVEL DE COMPLEJIDAD	CHEQUEOS A REALIZAR EN LA VALIDACIÓN	HERRAMIENTAS PARA EL CHEQUEO
VALIDACIÓN BÁSICA	<ul style="list-style-type: none"> - Confirmar presencia de datos de filiación del paciente: nombre, edad, peso, superficie corporal cuando sea preciso, y número de historia. - Confirmar presencia de datos de número de cama y unidad de ingreso del paciente, así como médico responsable. - Comprobar si el peso del paciente se encuentra aproximadamente en el percentil 50 para esa edad y sexo, detectando posibles errores en el peso, o identificando un paciente obeso real. - Comprobar las posibles alergias, y la ausencia de fármacos prescritos a los cuales el paciente es alérgico. - Comprobar que todas las dosis/peso o dosis/superficie corporal son correctas y en cualquier caso, no superan la dosis máxima recomendada para cada indicación (ojo niños > 40 Kg), ni esta es infraterapéutica. Cuando no está descrita esta dosis máxima, se considerará como máxima, la del adulto. - Comprobar la relación entre los fármacos prescritos y las indicaciones de los mismos, tanto para el abordaje del diagnóstico principal, como de los secundarios, así como las enfermedades de base que pueda tener el paciente. - Comprobación de la elección de la forma farmacéutica más correcta, de acuerdo a la edad del paciente y a la vía de administración deseada. - Comprobación de la necesidad de elaboración de una formulación magistral, y la comprobación de las cantidades de excipientes no recomendadas en cada grupo de edad. - Comprobación de la vía de administración correcta. - Ausencia de interacciones. - Ausencia de duplicidades. - En el caso de medicamentos 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nomogramas con los percentiles de peso/edad. 2. Nomogramas de edad/superficie corporal. 3. Tabla de dosificación (última versión disponible). 4. Tabla de dosis máximas. 5. Fuentes bibliográficas adicionales sobre dosificación: BNF2011, Lexi-comp 2012, Medimecum. 6. Fuentes bibliográficas adicionales sobre pediatría (y maternidad). 7. Tabla de excipientes no recomendados en pediatría. 8. Tabla de formas farmacéuticas según edad.

	<p>prescritos en condiciones distintas a las autorizadas, o bien no disponibles en nuestro país, así como los fármacos controlados, llevar a cabo las gestiones correspondientes.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Igualmente, en el caso de medicamentos no incluidos en guía, valorar una sustitución en los casos en los que se estime oportuno. - Comprobar si los intervalos posológicos son apropiados según el grupo de edad pediátrica o neonatal al que corresponda el paciente. - Comprobar de las concentraciones adecuadas de las mezclas intravenosas que son preparadas en el Servicio de Farmacia. - Comprobar de las compatibilidades de los componentes de cada mezcla intravenosa que es preparada en el Servicio de Farmacia. - Comprobar de las velocidades adecuadas de infusión de las mezclas intravenosas que son preparadas en el servicio de Farmacia. 	
<p>VALIDACIÓN COMPLEJIDAD INTERMEDIA</p>	<p>Todos los correspondientes a un nivel de validación básico, y además:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Comprobar que no existe ninguna indicación no tratada (profilaxis antibiótica, uso de antieméticos, protección gástrica en paciente crítico...). - Considerar para su posible identificación, los efectos adversos que los excipientes contenidos en las fórmulas magistrales, pudieran tener en la evolución clínica de los pacientes. - Considerar la ausencia de contraindicaciones individuales de cada fármaco dependiendo de la situación clínica del paciente. - Comprobar la adecuación de la elección del agente antiinfeccioso así como la duración del tratamiento antibacteriano/antifúngico. - Ajuste de dosis de fármacos en caso de que la situación del paciente así lo requiera: insuficiencia hepática, sistemas de circulación extracorpórea a través de membrana, en hemodiálisis o hemofiltración. - Comprobar la adecuación del 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fuentes bibliográficas específicas para los ajustes posológicos en insuficiencia renal, hepática, hemodiálisis... 2. Guía de administración parenteral de fármacos en pediatría y neonatología. 3. Guía de administración de medicamentos por vía oral. 4. Guía Recomendaciones /Tabla administración fármacos vía inhalatoria. 5. Tabla de compatibilidades IV. 6. Guía de compatibilidad de administración de fármacos en pediatría por sonda enteral. 7. Tablas de compatibilidad de soluciones IV con NPT. 8. Guía de dosificación

	<p>abordaje farmacoterapéutico en el periodo perioperatorio</p> <ul style="list-style-type: none"> - Comprobar la compatibilidad de los fármacos para administración por vía oral con los alimentos (sólido, leche, bebidas e incluso nutrición enteral). - Comprobar las concentraciones adecuadas de las mezclas intravenosas que son preparadas por el personal de enfermería en la unidad clínica, cuando aparece su completa prescripción (diluyente y soluto) en la orden médica. - Comprobar las compatibilidades de los componentes de cada mezcla intravenosa que pueden ser administradas por vías coincidentes en aquellas que son preparadas por el personal de enfermería de la unidad clínica, cuando aparece su completa prescripción (diluyente, soluto y vía de administración) en la orden médica. - Comprobar las velocidades adecuadas de infusión de las mezclas intravenosas preparadas en la unidad de hospitalización, siempre que aparezca indicado en la orden médica. - Comprobar la compatibilidad de las mezclas intravenosas prescritas con la nutrición parenteral (si el paciente la precisa), en el caso de existir la posibilidad de ser administrados en Y por la misma vía, en ausencia de vías alternativas. - Comprobar la presencia en la prescripción de fármacos que potencialmente puedan alterar los niveles séricos de creatinina, y monitorización de los mismos. - Comprobación de la petición de niveles de aquellos fármacos con estrecho margen terapéutico presentes en la prescripción. 	<p>de fármacos que alteran niveles séricos de Creatinina.</p> <ol style="list-style-type: none"> 9. Tabla con los niveles de los fármacos monitorizables. 10. Guía Antiinfecciosos.
<p>VALIDACIÓN ELEVADA COMPLEJIDAD</p>	<p>Todos los correspondientes a los niveles de validación básico e intermedio, y además:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Comprobar la cobertura de las posibles indicaciones no tratadas. - Considerar la compatibilidad del fármaco con el alimento en el caso de ser administrado por sondas de diferente ubicación. - Evaluar todos los parámetros 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tablas con valores normales de laboratorio/ grupo de edad. 2. Antibiogramas (MICRO) 3. Guía práctica de nutrición enteral (parenteral de acuerdo con las situaciones clínicas)

	<p>bioquímicos y hematológicos, para detectar cualquier alteración que nos induzca a pensar en un problema de salud cuyo abordaje terapéutico todavía no haya sido prescrito.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Consejo farmacocinético de acuerdo a los niveles de fármacos. - Comprobar el seguimiento antiinfeccioso (seguimiento de cultivos y parámetros analíticos) alterados en la infección. - Adecuación del soporte nutricional (enteral y/o parenteral) prescrito, o bien prescripción propia por parte del farmacéutico. - Comprobar la adecuación del abordaje quimioterapéutico para un paciente pediátrico, con el seguimiento de los parámetros de eficacia y seguridad del mismo. - Evaluar el abordaje general del paciente según las guías de práctica clínica de mayor evidencia científica. - Conciliación alta de pacientes incluidos en grupos de riesgo (Calendario Vacunación en inmunosuprimidos...). 	<ol style="list-style-type: none"> 4. Guías de práctica clínica/vías clínicas de los procesos más prevalentes en cada especialidad pediátrica 5. Protocolos terapéuticos vigentes en el hospital / Protocolos FFT. 6. Imperativos terapéuticos tras cirugía
--	--	--

Con respecto a los ítems en los cuales no se ha alcanzado consenso son aquellos relativos a la conciliación al ingreso de pacientes pediátricos con patologías crónicas, así como el ajuste de dosis de fármacos en caso de que la situación clínica del paciente indique la presencia de una insuficiencia renal del paciente.

Se trata de un modelo general que debe ser adaptado a cada sistema de prescripción y de información e historia clínica de pacientes de cada centro, y que pretende ser una guía de oriente a los farmacéuticos para que en su validación se detecten la mayor parte de los posibles errores de prescripción. Es decir, en aquellos centros en los cuales la orden médica contenga la información necesaria, todos debemos saber que es básico como farmacéuticos que garanticemos que no existe ningún error en lo prescrito, más allá de la información adicional que voluntariamente queramos chequear.

5. DISCUSIÓN

Mucho se ha escrito sobre la importancia de los errores de medicación en pediatría, y específicamente sobre los errores de prescripción. De entre todo lo publicado, cabe destacar el exquisito posicionamiento que hace recientemente Davis (26), resumiendo la dificultad en la búsqueda de una definición uniforme, la variabilidad de la prevalencia estudiada y las diferentes medidas propuestas, tanto educacionales, tecnológicas y multidisciplinarias, por otros tantos autores.

Nuestro estudio muestra que son los errores de dosis entre 1,5 y 10 veces la dosis normal, los motivos más prevalentes de intervención, siendo pues, la dosificación, en todas sus variables (sobredosificación, infradosificación), el principal error de medicación cometido e interceptado en la fase de prescripción. La mayor parte de los estudios señalan la dosificación como el error más frecuente (9, 14, 27-32), incluso algunos con porcentajes muy semejantes a los nuestros (10, 32-33). Otros autores, sin embargo, señalan las órdenes médicas incompletas como el motivo más frecuente (34). Sin embargo, suelen ser estudios realizados con sistemas de prescripción manual en su totalidad.

En nuestro estudio, los antimicrobianos son el grupo farmacoterapéutico más frecuentemente involucrado en las intervenciones farmacéuticas, quizás por la elevada frecuencia con la que estos fármacos son empleados en los niños. Este resultado concuerda con otros estudios publicados, donde los antibióticos siguen siendo los más frecuentemente relacionados con errores de prescripción (9-10, 29, 31-32, 35).

En cuanto a la severidad de los errores detectados, nuestros resultados muestran que los errores potencialmente letales suponen un 2.0%. En su estudio, varios autores (9, 28, 36) encontraron porcentajes menores, que variaban desde el 0,2% hasta el 1,28%. Otros autores, como Folli (8) o Fernández-Llamazares et al (10) encontraron porcentajes mayores, desde el 2,2% hasta el 5,6%.

La cuantificación de la actividad farmacéutica es quizás uno de los aspectos más complejos de este estudio debido a la heterogeneidad de indicadores y la ausencia de medidas estandarizadas (37). La tasa obtenida, de 0,03 intervenciones/paciente-día, es comparable con otras realizadas en nuestro medio (10), si bien es lejana a la obtenida por otros autores (37-38).

Una limitación de este estudio es la diversidad de los sistemas de prescripción y dispensación empleados en los ocho centros implicados, pese a obtener individualmente datos perfectamente comparables entre sí. Sin embargo, la principal limitación es la imposibilidad de obtener el número de pacientes diferentes, y de órdenes médicas revisadas durante el periodo de estudio.

Tras el desarrollo de la prueba Delphi de doble ronda se alcanzó un consenso sobre el diseño de un modelo de validación de órdenes médicas

pediátricas por parte de los farmacéuticos clínicos que incluye una serie de comprobaciones a realizar, distribuidas en tres niveles de complejidad.

Los miembros del panel de expertos coincidieron global y mayoritariamente con el modelo inicial propuesto por el equipo investigador, por lo que este hecho consideramos que le da una validez global para generalizar el modelo globalmente, pues ha empleado un umbral de consenso del 70%, superior a otros análisis similares que consideraban la mayoría de 2/3 del panel (39).

La Sociedad Americana de Farmacéuticos de Hospital, tras unos bocetos iniciales sobre la implementación de procesos uniformes para la identificación y resolución de problemas relacionados con la farmacoterapia (40-41), ya en el año 1996 abogaba por la necesidad de establecer un método estandarizado para la realización de labores relacionadas con la atención farmacéutica (42). Para ello, introduce los primeros conceptos generales para la realización de esta labor, así como los requisitos para lograr una integración real de los farmacéuticos clínicos en los equipos de atención clínica al paciente (2). Sin embargo, nuestro modelo se parece más a aquel propuesto por Robertson (43), que ordenadamente proponía con una serie de algoritmos ir realizando comprobaciones de ciertos aspectos de la farmacoterapia de pacientes adultos. Como otros autores (44-46), nuestro modelo cuenta con varios niveles de complejidad, que lo hacen adaptable a la realidad de nuestros servicios de farmacia, en la cual conviven Servicios con un alto grado de automatización y avanzados sistemas de información, junto a Servicios con procedimientos más rudimentarios y con menor desarrollo tecnológico. Sin embargo, este modelo permitirá, sobre la base de una homogeneidad en nuestros criterios de actuación, mejorar nuestro papel, e incidir así, como se espera, en la reducción de los errores de medicación, mediante la validación de las órdenes médicas (47).

La principal limitación de nuestro modelo es la imposibilidad de detallar cada una de las posibles situaciones que cada sistema de prescripción médica puede dar lugar, y por tanto, la sensación de que, aun habiendo intentado especificar al máximo las situaciones más frecuentes, existan situaciones no descritas. Es responsabilidad de cada farmacéutico clínico interpretar, aun considerando que únicamente puedan realizar comprobaciones ubicadas en el nivel básico, que en el caso de disponer de información más avanzada, todas las comprobaciones que puedan realizar serán adecuadas para conseguir el fin último de nuestro papel como farmacéuticos, que es garantizar una farmacoterapia eficaz, segura y eficiente.

6. CONCLUSIONES

El farmacéutico pediátrico está especialmente sensibilizado con la importancia de su papel dentro de los equipos de atención al paciente, como baluarte de la seguridad, eficacia y eficiencia de la farmacoterapia, y lleva ya varios años trabajando en el desarrollo de modelos formativos que a la larga permitan la efectiva integración del farmacéutico en las unidades clínicas, y con ello, el desarrollo de la farmacia clínica en los hospitales pediátricos y generales de nuestro país.

En España no existe una especialidad pediátrica dentro de la farmacia hospitalaria y, aunque se está trabajando en el desarrollo y contenidos de esta área de capacitación específica, todavía en la gran parte de los centros de nuestro país no existe un farmacéutico específico para velar porque la farmacoterapia de los pacientes pediátricos sea eficaz, segura y eficiente. En este marco, y dado que la farmacoterapia pediátrica es un campo en el que la seguridad es un elemento clave, será muy útil disponer de una herramienta que guiará a los farmacéuticos en su proceso de validación de la prescripción médica para que, dependiendo del nivel de acceso a la información del paciente y al personal sanitario que lo atiende, ayudarles a comprobar todos y cada uno de los aspectos de la orden médica, para garantizar que se han detectado e interceptado todos los posibles errores de prescripción. Además, esta herramienta nos marca unas directrices para el desarrollo de las labores más clínicas de la atención farmacéutica, puesto que señala los aspectos, en orden creciente de complejidad, en los que el farmacéutico puede ayudar al clínico en el correcto abordaje farmacoterapéutico.

El modelo se centra fundamentalmente en el uso correcto de los medicamentos, en el abordaje correcto de la farmacoterapia del proceso agudo que lleva al paciente al hospital. Sin embargo, también va más allá e incluye la supervisión por parte del farmacéutico del soporte nutricional que precise durante su estancia, así como la conciliación al alta de los pacientes, sobre todo de aquellos incluidos en grupos de riesgo, para garantizar la continuidad asistencial.

La aplicación práctica de este modelo ya está siendo implantada en algunos de los centros hospitalarios de nuestra red sanitaria pública, y está prevista una segunda recogida de datos sobre el nuevo perfil de seguridad de la prescripción médica pediátrica generado a partir de su implementación, de forma que se objetive el impacto que sobre la actividad farmacéutica en el área de la pediatría, y en último caso, sobre la seguridad de la farmacoterapia de los pacientes pediátricos, haya tenido el modelo generado desde este tremendamente ilusionante proyecto nacional.

7. AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a todos y cada uno de los farmacéuticos especialistas que han formado parte del panel de expertos y que de manera voluntaria han contribuido en la definición de este modelo. En orden alfabético,

Covandongua Agapito Vicente, Hospital Niño Jesús; Raquel Aguilar, Hospital Josep Trueta; M^a Concepción Álvarez Del Vayo, Hospital Virgen Del Rocío, Marta Aparicio, Hospital General de Alicante; Begoña Arce, Hospital Niño Jesús; Javier Bautista, Hospital Virgen del Rocío; Ana Benito, Hospital Materno-Infantil Las Palmas; M^a Josep Cabañas, Hospital Vall d'Hebron; Manuela Cáceres, Hospital Niño Jesús; Carmen Cañete, Hospital Vall d'Hebron; Susana Clemente, Hospital Vall d'Hebron; Esther Durán, Hospital G.U. Gregorio Marañón; Lara Echarri, Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios; Javier Elizondo, Complejo Hospitalario Navarra B; Esther Espejo, Hospital Virgen del Rocío; Begoña Feal, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña Teresa Herrera; Aurora Fernández Polo, Hospital Vall d'Hebron; Sandra Flores, Hospital Vall d'Hebron; M^a José Fobelo, Hospital de Valme; Vicente Gallego, Hospital 12 de Octubre; Isabel García, Hospital Niño Jesús; Marta García, Hospital Virgen de la Salud; M^a Pilar García, Hospital Niño Jesús; Ana García Silva, Hospital Materno-Infantil Las Palmas; Beatriz Garrido, Hospital de la Arrixaca; M^a Victoria Gil, Hospital Virgen del Rocío; Providencia González, Hospital Materno-Infantil Las Palmas; María Goretti, Hospital San Joan de Deu; M^a Dolores Guerrero, Hospital Virgen del Rocío; Yolanda Hernández-Gago, Hospital Materno-Infantil Las Palmas; Eduard Hidalgo, Consorci Sanitari Integral L'Hospitalet de Llobregat; Juan Carlos Juarez, Hospital Vall d'Hebron; Cristina Latre, Hospital San Joan de Deu; Silvia Manrique, Hospital G.U. Gregorio Marañón; Silvia Martín, Hospital Niño Jesús, Cecilia Martínez Fernández-Llamazares, Hospital G.U. Gregorio Marañón; Anna M^a Mas, Hospital San Joan de Deu; María Oliveras, Hospital San Joan de Deu; Casilda Ortega de la Cruz, Hospital Materno-Infantil Las Palmas; Iciar Pérez, Hospital Reina Sofía; Carmen Planells, Hospital La Fe; Maite Pozas, Hospital Niño Jesús; Belén Rodríguez, Hospital Puerta de Hierro; Mercedes Ruiz, Hospital Carlos Haya; Beatriz Sánchez, Hospital Materno Infantil Las Palmas; Bernardo Santos, Hospital Virgen del Rocío; Esteban Valverde, Hospital Carlos Haya; Miquel Villaronga, Hospital San Joan de Deu; Joan Vinent, Hospital San Joan de Deu; Pedro Yáñez, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña Teresa Herrera.

También agradecer a la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, que concedió una beca al Grupo Español de Farmacia Pediátrica para el desarrollo del proyecto de investigación dentro del cual se desarrolla el presente estudio.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. ASHP statement on pharmaceutical care; American Society of Hospital Pharmacists. *Am J Health Syst Pharm* 50, 1720-3 (1993).
2. ASHP guidelines on the pharmacist's role in the development of clinical care plans; American Society of Hospital Pharmacists. *Am J Health Syst Pharm* 54(3), 314-8 (1997 Feb 1).
3. Hepler, C. D.; Strand, L. M. Opportunities and responsibilities in pharmaceutical care. *Am J Hosp Pharm* 47(3), 533-43 (1990 Mar).
4. Levine, S.; Cohen, M.; Blanchard, N.; Federico, F.; Magelli, M.; Lomax, C.; et al. Guidelines for preventing medication errors in pediatrics. *J Pediatr Pharmacol Ther* 6, 426-42 (2001).
5. Fortescue, E. B.; Kaushal, R.; Landrigan, C. P.; McKenna, K. J.; Clapp, M. D.; Federico, F.; et al. Prioritizing strategies for preventing medication errors and adverse drug events in pediatric inpatients. *Pediatrics* 111(4 Pt 1), 722-9 (2003 Apr).
6. Sanghera, N.; Chan, P. Y.; Khaki, Z. F.; Planner, C.; Lee, K. K.; Cranswick, N. E.; et al. Interventions of hospital pharmacists in improving drug therapy in children: A systematic literature review. *Drug Saf* 29(11), 1031-47 (2006).
7. Costello, I.; Wong, I. C.; Nunn, A. J. A literature review to identify interventions to improve the use of medicines in children. *Child Care Health Dev* 30(6), 647-65 (2004 Nov).
8. Folli, H. L.; Poole, R. L.; Benitz, W. E.; Russo, J. C. Medication error prevention by clinical pharmacists in two children's hospitals. *Pediatrics* 79(5), 718-22 (1987 May).
9. Blum, K. V.; Abel, S. R.; Urbanski, C. J.; Pierce, J. M. Medication error prevention by pharmacists. *Am J Hosp Pharm* 45(9), 1902-3 (1988 Sep).
10. Fernandez-Llamazares, C. M.; Calleja-Hernandez, M. A.; Manrique-Rodriguez, S.; Perez-Sanz, C.; Duran-Garcia, E.; Sanjurjo-Saez, M. Impact of clinical pharmacist interventions in reducing paediatric prescribing errors. *Arch Dis Child* 97(6), 564-8 (2012 Jun).
11. Fernandez-Llamazares, C. M.; Hernandez-Gago, Y.; Pozas del Rio, M. Paediatric pharmacy: training and information. *Farm Hosp* 35(3), 103-5 (2011).
12. Echarri-Martinez, L.; Fernandez-Llamazares, C. M.; Lopez-Herce, J.; Sanchez-Galindo, A.; Manrique-Rodriguez, S.; Sanjurjo-Saez, M. Paediatric training for developing clinical activities. *Farm Hosp* 36(1), 43-9 (2012 Jan).
13. Cimino, M. A.; Kirschbaum, M. S.; Brodsky, L.; Shaha, S. H.; Child Health Accountability Initiative. Assessing medication prescribing errors in pediatric intensive care units. *Pediatr Crit Care Med* 5(2), 124-32 (2004 Mar).
14. Wong, I. C.; Ghaleb, M. A.; Franklin, B. D.; Barber, N. Incidence and nature of dosing errors in paediatric medications: A systematic review. *Drug Saf* 27(9), 661-70 (2004).
15. Ghaleb, M. A.; Barber, N.; Franklin, B. D.; Yeung, V. W.; Khaki, Z. F.; Wong, I. C. Systematic review of medication errors in pediatric patients. *Ann Pharmacother* 40(10), 1766-76 (2006 Oct).
16. Miller, M. R.; Robinson, K. A.; Lubomski, L. H.; Rinke, M. L.; Pronovost, P. J. Medication errors in paediatric care: A systematic review of epidemiology and an evaluation of evidence supporting reduction strategy recommendations. *Qual Saf Health Care* 16(2), 116-26 (2007 Apr).
17. Fernandez-Llamazares, C. M.; Manrique-Rodriguez, S.; Perez-Sanz, C.; Duran-Garcia, M. E.; Sanjurjo-Saez, M.; Calleja-Hernandez, M. A. Validation of a method for recording pharmaceutical interventions. *J Clin Pharm Ther* 37(4), 459-63 (2012 Aug).
18. Fernandez-Llamazares, C. M.; Calleja-Hernandez, M. A.; Manrique-Rodriguez, S.; Perez-Sanz, C.; Duran-Garcia, E.; Sanjurjo-Saez, M. Prescribing errors intercepted by clinical pharmacists in paediatrics and obstetrics in a tertiary hospital in Spain. *Eur J Clin Pharmacol* 68(9), 1339-45 (2012 Sep).

19. Jones, J.; Hunter, D. Consensus methods for medical and health services research. *BMJ* 311(7001), 376-80 (1995 Aug 5).
20. Murphy, M. K.; Black, N. A.; Lamping, D. L.; McKee, C. M.; Sanderson, C. F.; Askham, J.; et al. Consensus development methods, and their use in clinical guideline development. *Health Technol Assess* 2(3):i-iv, 1-88 (1998).
21. Ghaleb, M. A.; Barber, N.; Dean-Franklin, B.; Wong, I. C. What constitutes a prescribing error in paediatrics? *Qual Saf Health Care* 14(5), 352-7 (2005 Oct).
22. Medrano-Lopez, C.; Garcia-Guereta, L.; Fernandez-Pineda, L.; Malo, Concepcion P.; Maroto, Alvaro E.; Santos de Soto, J.; et al. Clinical consensus on respiratory syncytial virus (RSV) infection prophylaxis and the use of palivizumab in paediatric cardiology. *An Pediatr (Barc)* 72(6), 432.e1-13 (2010 Jun).
23. Otero-Lopez, M. J.; Castano-Rodriguez, B.; Perez-Encinas, M.; Codina-Jane, C.; Tames-Alonso, M. J.; Sanchez-Munoz, T.; et al. Updated classification for medication errors by the ruiz-jarabo 2000 group. *Farm Hosp* 32(1), 38-52 (2008 Jan-Feb).
24. ICH topic E11. Clinical investigation of medicinal products in the paediatric population-CPMP/ICH/2711/99 [Internet]; European Medicines Agency; London, 2001; cited 3/13/2011]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002926.pdf.
25. Anatomical therapeutic chemical (ATC) classification index with defined daily doses (DDD) [Internet]; WHO collaborating centre for drug statistics methodology; 2007; cited 1/22/2010]. Available from: http://www.whocc.no/atc_ddd_index/.
26. Davis, T. Paediatric prescribing errors. *Arch Dis Child* 96(5), 489-91 (2011 May).
27. Selbst, S.M.; Fein, J. A.; Osterhoudt, K.; Ho, W. Medication errors in a pediatric emergency department. *Pediatr Emerg Care* 15(1), 1-4 (1999 Feb).
28. Guy, J.; Persaud, J.; Davies, E.; Harvey, D. Drug errors: What role do nurses and pharmacists have in minimizing the risk? *J Child Health Care* 7(4), 277-90 (2003 Dec).
29. Kozler, E.; Scolnik, D.; Macpherson, A.; Keays, T.; Shi, K.; Luk, T.; et al. Variables associated with medication errors in pediatric emergency medicine. *Pediatrics* 110(4), 737-42 (2002 Oct).
30. Hicks, R. W.; Becker, S. C.; Cousins, D. D. Harmful medication errors in children: A 5-year analysis of data from the USP's MEDMARX program. *J Pediatr Nurs* 21(4), 290-8 (2006 Aug).
31. Jonville, A. P.; Autret, E.; Bavoux, F.; Bertrand, P. P.; Barbier, P.; Gauchez, A. S. Characteristics of medication errors in pediatrics. *DICP* 25(10), 1113-8 (1991 Oct).
32. Al-Jeraisy, M.I.; Alanazi, M. Q.; Abolfotouh, M. A. Medication prescribing errors in a pediatric inpatient tertiary care setting in Saudi Arabia. *BMC Res Notes* 4, 294 (2011 Aug 14).
33. Strong, D.K.; Tsang, G. W. Focus and impact of pharmacists' interventions. *Can J Hosp Pharm* 46(3), 101-8 (1993 Jun).
34. Ghaleb, M. A.; Barber, N.; Franklin, B. D.; Wong, I. C. The incidence and nature of prescribing and medication administration errors in paediatric inpatients. *Arch Dis Child* 95(2), 113-8 (2010 Feb).
35. Bordun, L.A.; Butt, W. Drug errors in intensive care. *J Paediatr Child Health* 28(4), 309-11 (1992 Aug).
36. Koren, G.; Haslam, R. H. Pediatric medication errors: Predicting and preventing tenfold disasters. *J Clin Pharmacol* 34(11), 1043-5 (1994 Nov).
37. Falck, K. A.; Darsey, E. H.; Naughton, M. J. Pharmacy interventions in a multidisciplinary paediatric intensive care unit. *J Paediatr Pharm Pract* 2, 162-7 (1997).

38. Krupicka, M.I.; Bratton, S.L.; Sonnenthal, K.; Goldstein, B. Impact of a pediatric clinical pharmacist in the pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 30(4), 919-21 (2002 Apr).
39. Neubert, A.; Wong, I. C.; Bonifazi, A.; Catapano, M.; Felisi, M.; Baiardi, P.; et al. Defining off-label and unlicensed use of medicines for children: Results of a delphi survey. *Pharmacol Res* 58(5-6), 316-22 (2008 Nov-Dec).
40. Draft guidelines on preventable medication errors. *Am J Hosp Pharm* 49(3), 640-8 (1992 Mar).
41. Understanding and preventing drug misadventures. Proceedings of a conference. Chantilly, Virginia, October 21-23, 1994. *Am J Health Syst Pharm* 52(4), 369-416 (1995 Feb 15).
42. ASHP guidelines on a standardized method for pharmaceutical care; American society of health-system pharmacists. *Am J Health Syst Pharm* 53(14), 1713-6 (1996 Jul 15).
43. Robertson, K. E. Process for preventing or identifying and resolving problems in drug therapy. *Am J Health Syst Pharm* 53(6), 639-50 (1996 Mar 15).
44. Strand, L. M.; Guerrero, R. M.; Nickman, N. A.; Morley, P. C. Integrated patient-specific model of pharmacy practice. *Am J Hosp Pharm* 47(3), 550-4 (1990 Mar).
45. Smith, W. E.; Benderev, K. Levels of pharmaceutical care: A theoretical model. *Am J Hosp Pharm* 48(3), 540-6 (1991 Mar).
46. Haupt, M. T.; Bekes, C. E.; Brilli, R. J.; Carl, L. C.; et al. Guidelines on critical care services and personnel: Recommendations based on a system of categorization of three levels of care. *Crit Care Med* 31(11), 2677-83 (2003 Nov).
47. Preventing pediatric medication errors [Internet]; The Joint Commission. Sentinel Event Alert 39, 1-4 (2008 Apr 11). Available from: http://www.jointcommission.org/sentinelevents/sentineleventalert/sea_39.htm.

ANEXO 1. FUENTES DE INFORMACIÓN

Recursos de información biomédica útiles para la toma de decisiones en atención farmacéutica pediátrica.

La toma de decisiones en la terapia farmacológica requiere el conocimiento y utilización de sistemas y fuentes de información biomédicas de carácter riguroso, estructuradas según la medicina basada en pruebas.

Clásicamente, la población pediátrica ha presentado una mayor escasez de información farmacoterapéutica en comparación con la población adulta, debido principalmente a la menor investigación –basada en el ensayo clínico controlado– que se ha realizado en pediatría.

En la actualidad, la información farmacoterapéutica y los recursos de información, se han incrementado en esta población, posiblemente debido a diversos factores como son: una mayor participación por parte de las Organizaciones Sanitarias en la promoción de la Investigación farmacológica en pediatría, la implicación de las asociaciones profesionales de carácter pediátrico y el impulso e iniciativa realizada desde la base, por los mismos profesionales sanitarios especialistas.

En este escenario y con la finalidad de aportar herramientas para la toma de decisiones en la atención farmacéutica Pediátrica, se ofrecen un conjunto de recursos específicos para que puedan ser utilizados por los profesionales, bien el mismo momento de la validación o posteriormente, dependiendo del nivel de complejidad que se requiera.

Para la clasificación de las fuentes de información exclusivas sobre farmacoterapéutica pediátrica se ha utilizado una combinación el método clásico, (fuentes primarias, secundarias y terciarias) y la establecida por Haynes y su modelo de las 5S¹.

Cabe destacar que debido al cambio constante de los portales, páginas Web y recursos Web 2.0, algunos de los recursos ofrecidos pueden cambiar, desaparecer e incluso aparecer otros nuevos. Con la finalidad de que el profesional pueda identificar y seleccionar otras páginas Web, portales biomédicos pediátricos y recursos de redes sociales, de suficiente calidad se citan algunas recomendaciones generales como son:

Utilizar aquellos recursos donde los autores, investigadores y organizaciones presenten claramente sus datos de filiación.

¹ Haynes RB. Of the studies, syntheses, synopses, summaries, and systems: the “5S” evolution of information services for evidence-based healthcare decisions. *Evid Based Med* 2006; 11; 162-64.

Priorizar los recursos pertenecientes a Organizaciones Sanitarias o Sociedades profesionales de prestigio.

El contenido debería de estar garantizado por el método de revisión por pares.

Los datos del patrocinador, si lo hay, debería de ser indicados, con declaración de conflicto de intereses si los hubiera, diferenciando la información comercial de la científica.

Conviene siempre seleccionar portales acreditados por profesionales de prestigio, organizaciones sanitarias y organizaciones no gubernamentales, con los correspondientes sellos o iconos de de calidad.

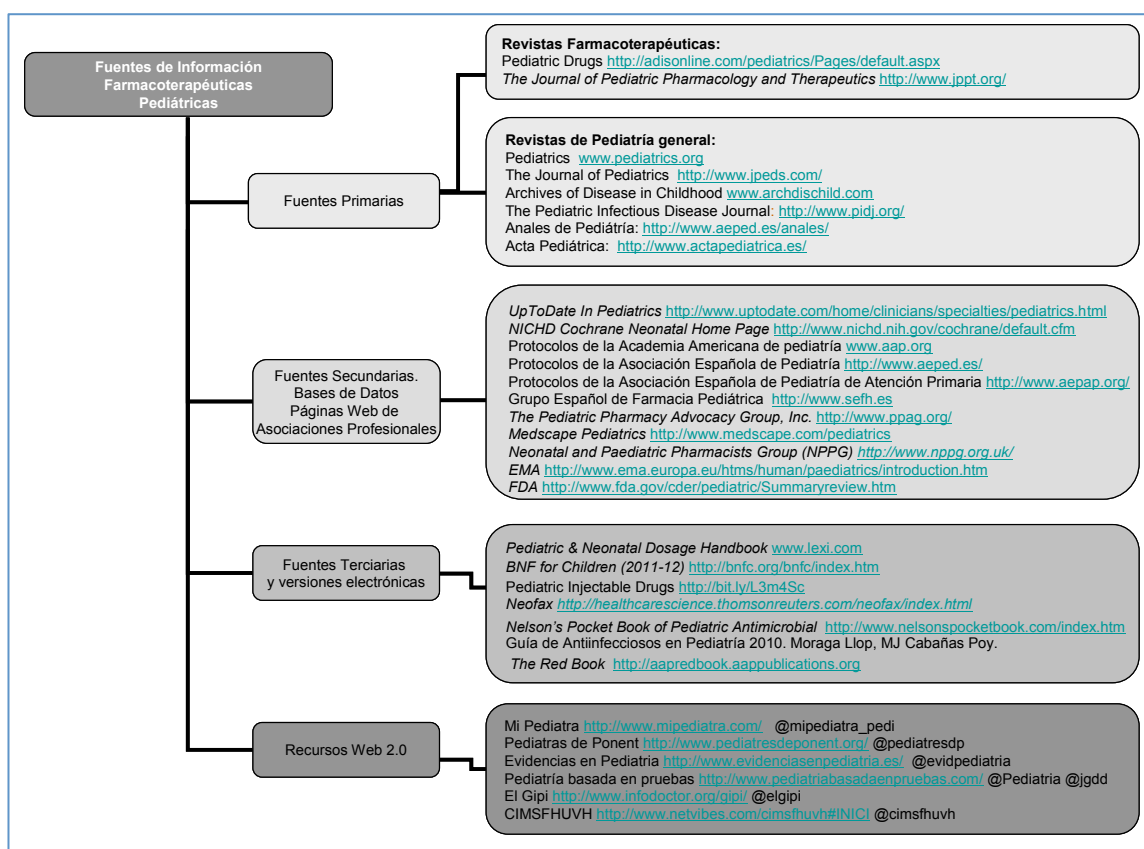


Imagen 1. Tipos de fuentes de información farmacoterapéutica pediátrica.

Iván Torres, Fidel Ortega y Benito del Castillo García*

**Editor para Iberoamérica*

benitodelcastillo@hotmail.com

Este pasado trimestre no ha sido muy pródigo en reuniones y congresos en Iberoamérica, dentro del ámbito académico farmacéutico. Sin embargo la actividad, antes y después de agosto ha sido notable, tanto en las reuniones de la Federación Farmacéutica Internacional (FIP) celebrada en Dublin, Irlanda, como es habitual a principios de septiembre y en la de Historia de la Ciencia llevada a cabo en Manchester, Reino Unido, en julio, con importante representación hispana; también destacar la reunión de la Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia (COIFFA) en Brasil, celebrada en dicho país por primera vez, así como la Asamblea General de la Asociación Europea de Facultades de Farmacia (EAFP) en Ankara, Turquía, la presencia de profesores españoles y portugueses tuvo eficaz aportación para desarrollar el proyecto Pharmine (Pharmacy Education in Europe) auspiciado por la Comisión Europea y que tendrá continuidad a través del PHARQA (Quality Assurance in European Pharmacy Education and Training) auspiciado también por la misma Comisión, que posteriormente tendrá resonancia en los estudios de Farmacia que se imparten en universidades del ámbito iberoamericano.

Debe resaltarse que en virtud del convenio de colaboración existente entre la Universidad CEU San Pablo de Madrid, España y la Universidad UPAGU de Cajamarca, Perú se ha hecho posible la estancia de investigación en el área de Botánica, entre la Facultad de Farmacia del CEU y la Carrera Profesional de Farmacia de la UPAGU, a través de sus docentes Dr. Antonio Galán de Mera y Dr. Isidoro Sánchez Vega respectivamente, la referida estancia se desarrolló en la Región de Cajamarca, Perú del 18 de mayo al 3 de junio del 2013 periodo durante el cual se dictaron tres conferencias magistrales: “Expedicionarios y Farmacéuticos en la aventura de la Botánica”, “Flora y vegetación en la búsqueda de nuevas plantas medicinales” y “Expectativas sobre estudios de la vegetación en el norte del Perú: La Región de Cajamarca”, asimismo se han llevado a cabo expediciones botánicas que han permitido realizar un estudio preliminar de los pisos bioclimáticos en la Región de Cajamarca describiendo los tipos de vegetación existentes en cada uno de ellos; es importante precisar que producto de este trabajo de colaboración se editará y publicará en noviembre del presente año el libro denominado “Principios de Botánica Farmacéutica” con especial énfasis en las especies vegetales que tienen potencial interés medicinal en Perú.

Los días 3 al 4 de junio del 2013, en la ciudad de Goiânia (Brasil) y teniendo como anfitrión a la Facultad de Farmacia de la Universidad Federal de Goiás, se llevaron a cabo la XVI Reunión de la Comisión Permanente y XI Asamblea General de la Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia (COIFFA) que puso en contacto directo a decanos y representantes de las Facultades de Farmacia de los distintos países del ámbito iberoamericano a fin de tratar aspectos relevantes a la educación farmacéutica, armonización curricular, procesos de acreditación, homologación de terminología académica y farmacéutica, planes de estudio conjuntos de pre y posgraduación, así como impacto sanitario y social de la Farmacia; adicionalmente se ha emitido, como fruto de este trabajo, el documento denominado “DECLARACIÓN DE BRASIL” cuyo texto se cita a continuación:

El ejercicio profesional de Farmacia exige una sólida formación científica y con alto contenido social, lo cual ha sido ratificado por diversos organismos internacionales, particularmente por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

La diversidad, complejidad y transversalidad de las áreas científicas son necesarias para la formación de un farmacéutico que contribuya al acceso, calidad, disponibilidad y uso racional de los medicamentos, así como la mejora de la salud y calidad de vida en general. Por lo expuesto, se torna indispensable que la referida formación se realice en el ambiente universitario a fin de sinergizar la alianza entre la creación científica (vía I+D), docencia, extensión y proyección social.

La tradición europea, extensiva a Iberoamérica, consagró en las Directivas del Consejo de la Unión Europea (la primera fecha, de 1984) y en las jurisdicciones nacionales, un mínimo de 5 años de enseñanza universitaria de la Farmacia. Este ha sido el paradigma y la práctica en los países que integran el espacio Iberoamericano.

Es la firme convicción de la CONFERENCIA IBEROAMERICANA DE FACULTADES DE FARMACIA (COIFFA), representada por su Asamblea General llevada a cabo en la Universidad Federal de Goiás (Goiânia-Brasil), el día 4 de junio del 2013, que el mínimo de 5 años de enseñanza universitaria incluyendo las prácticas tuteladas por la Universidad, sea el paradigma a mantener para la formación de éste profesional del área de la salud.

Es importante referir que desde su creación en el año 1992, en Mérida – Venezuela, la COIFFA agrupa a la fecha a más de cincuenta instituciones farmacéuticas con la misión de “ARMONIZAR Y PERFECCIONAR LA FORMACIÓN UNIVERSITARIA PARA EL EJERCICIO PROFESIONAL FARMACÉUTICO EN IBEROAMÉRICA”. Dentro de los principales acuerdos tomados es importante destacar:

- Aprobación del documento denominado DECLARACIÓN DE BRASIL así como difusión del referido documento en los idiomas español, portugués e inglés, a través del cual se ratifica el mínimo de 5 años de enseñanza universitaria incluyendo las prácticas tuteladas por la Universidad como el paradigma a mantener para la formación los Farmacéuticos en Iberoamérica.
- Incorporación de diez nuevos miembros a la COIFFA.
- Aprobación de los informes de avance de las actividades programadas en el plan estratégico.
- Elección de la Comisión Permanente para el periodo 2013-2015.
- Designación de las sedes para los eventos COIFFA 2014 y 2015 en Costa Rica y Argentina respectivamente.
- Presentación de la nueva y renovada página web de la COIFFA sito en www.coiffa.org.mx
- Presentación del aplicativo web inherente al Observatorio instando a los miembros a incorporar la información requerida y actualizada de los miembros de la COIFFA.

Es digno de destacar que en el marco de estas reuniones se han elegido a los miembros de la Comisión Permanente de COIFFA para el periodo 2013-2015 recayendo la responsabilidad de su Presidencia en el Dr. Ruben Manzo de la Universidad de Córdoba (Argentina), en lo que respecta a la representación de España, el Dr. Jorge Manzanares Robles, Decano de la Facultad de Farmacia de la Universidad Miguel Hernández (Alicante) es el Vocal correspondiente y el Dr. Benito del Castillo García Presidente de la Comisión de Ex presidentes de la COIFFA.

Del 5 al 7 de junio del 2013, la ciudad capital de Brasil, Brasilia, recibió a más de 500 participantes entre brasileños y de distintos países iberoamericanos, en el marco del V Congreso Iberoamericano de Ciencias Farmacéuticas y de la VIII Conferencia Nacional de Educación Farmacéutica teniendo como eje fundamental de desarrollo “Ciencias Farmacéuticas: Formación, educación y servicio”, eventos exitosamente organizados por el Consejo Federal de Farmacia y que contó con 44 conferenciantes del más alto nivel académico y científico, se presentaron asimismo 42 ponencias abordando 12 áreas temáticas: Tendencias internacionales en educación e implicancias en la salud, Formación para la farmacia comunitaria, Desarrollo farmacéutico, Farmacia: Establecimiento de servicios de salud, los Análisis Clínicos en el contexto de la profesión farmacéutica: ¿Dónde estamos y hacia dónde vamos? Prácticas en servicios como diferencial en la formación y actuación profesional del farmacéutico, Disposición de residuos farmacéuticos:

logística inversa, prácticas integrativas y complementarias: Regulación, Falsificación de medicamentos, Medicamentos genéricos en Iberoamérica: realidades y perspectivas, Innovaciones en enseñanza, investigación y servicios en Farmacia, así como Farmacia molecular y desarrollo de nanomedicamentos. Las ponencias desarrolladas se encuentran disponibles en el enlace web http://www.coiffa.org.br/coiffa-pt.php?lang=por_lecture . Asimismo, se desarrollaron 5 cursos de gran interés como Prácticas pedagógicas de evaluación; Cuidados farmacéuticos en fitoterapia: Indicaciones, interacciones e interferencias; Evaluación formativa y sumativa; Medicamentos, alimentos y plantas: Las interacciones olvidadas y Cuidados farmacéuticos para la seguridad del paciente: Laboratorio clínico, reconciliación medicamentosa. Asimismo, se presentaron 218 trabajos científicos clasificados en 14 áreas de investigación farmacéutica, lo cual se constituye en un hito importante para un evento que reúne cada dos años a las Facultades de Farmacia del ámbito iberoamericano bajo la dirección de la COIFFA. Es preciso resaltar que la Comisión Organizadora liderada por el Dr. Radif Domingos y la Dra. Eula de Melo no escatimó esfuerzos para la realización de los eventos referidos, que fueron coronados con el éxito esperado tanto por las áreas temáticas escogidas y desarrolladas, como también por la calidad profesional y personal de los ponentes, así como el interés demostrado por los participantes.

Por otra parte, reseñar que la residencia del Embajador de España en Perú, D. Juan Carlos Sánchez Alonso, fue el escenario escogido para que el día 25 de junio del 2013 se hicieran entrega de las becas para la II Escuela de Verano de Investigación CEU San Pablo – Perú 2013 (EVICEU 2013), gracias a la fructífera colaboración entre la Universidad CEU San Pablo de Madrid, España y dieciocho de las más prestigiosas universidades peruanas. La EVICEU 2013 es posible gracias al patrocinio de la Empresa aeronáutica española Airbus Military y ejecutada a través de la Oficina de Proyectos Internacionales de Investigación e Innovación del Vicerrectorado de Investigación del CEU San Pablo. Es importante precisar que esta movilidad internacional ha permitido que diez estudiantes peruanos de penúltimo y último año de las carreras profesionales de Química, Biología, Medicina y Farmacia, realizasen una estancia en la Universidad CEU San Pablo del 12 al 29 de julio del 2013, integrándose en los distintos grupos de investigación, recibiendo durante este periodo, formación personalizada en distintas materias y/o técnicas lo cual ha constituido una experiencia muy beneficiosa para los estudiantes porque además del conocimiento adquirido, a través de la introducción al trabajo de los grupos de investigación, les ha permitido conocer una Universidad española/europea de referencia. Es importante precisar que han sido 128 trabajos de investigación que fueron evaluados por un Comité Científico designado por la Universidad española citada, de los cuales diez fueron seleccionados, adjudicándose las correspondientes becas a estudiantes de

Universidades tales como Nacional Mayor de San Marcos, Peruana Cayetano Heredia, Agraria La Molina, Antonio Guillermo Urrelo y San Martín de Porres. Mayor información puede encontrarse en la web www.evinvestigacion.uspceu.es ; asimismo, según lo expresado por el Comité Científico encargado de la evaluación, se destaca la calidad de los trabajos presentados así como el interés universitario peruano por la investigación.

Finalmente, indicar que el pasado 6 de setiembre en la ciudad de Lima, Perú se ha elegido al Dr. Iván Torres como nuevo Presidente de la Asociación Peruana de Facultades y Escuelas de Farmacia y Bioquímica (ASPEFEFB) para el periodo 2013-2015. En su ánimo está el promover la acreditación, fomentando y contribuyendo a la investigación, el perfeccionamiento científico, la proyección social y la internacionalización de los farmacéuticos peruanos, así como incorporar las directrices de COIFFA e impulsar una propuesta de armonización curricular acorde a las exigencias globales de formación.



Bartolomé Ribas Ozonas

Académico Secretario de la Real Academia Nacional de Farmacia
e-mail: secretaria@ranf.com

Debido al parón veraniego, no ha habido actividad académica durante los meses de julio y agosto. En el mes de septiembre se realizaron un total de tres sesiones científicas.

El 19 de septiembre, tuvo lugar la Toma de Posesión como Académico Correspondiente Nacional de D. Antonio María Rabasco Álvarez, Director de la Cátedra Avenzoar, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Sevilla. Fue presentado por el Excmo. Sr. Dn. Nicolás Víctor Jiménez Torres, Académico de Número de la RANF. Pronunció su discurso titulado: "Los liposomas como sistemas transportadores de moléculas activas".

En los últimos años se están produciendo numerosas innovaciones en los procedimientos de administración y vectorización de moléculas activas, gracias al desarrollo de nuevos sistemas transportadores micro y nanoparticulares. Todas las vías de administración se están beneficiando de estos avances, si bien son la vía parenteral y la tópica las que están recibiendo las mayores aportaciones.

La naturaleza de estos nuevos sistemas de administración de sustancias activas es muy variada, pudiendo describirse numerosos modelos. Entre ellos, las vesículas lipídicas constituyen uno de los más ampliamente estudiados y desarrollados. Básicamente, son sistemas coloidales constituidos por elementos anfífilos, que se disponen, casi espontáneamente, como estructuras esféricas de naturaleza lipídica. En su interior, incluyen un compartimento acuoso. El activo a vehiculizar se puede ubicar tanto en la zona hidrófila como en la lipófila de estas estructuras. Estos sistemas presentan numerosas ventajas, así como también algunas limitaciones.

En el discurso se abordó, de un modo sistematizado, los diferentes tipos de estructuras existentes, sus características más importantes y las diferentes estrategias que se utilizan para solventar sus limitaciones. Asimismo, se efectuó una recopilación de las que ya se encuentran comercializadas y se expusieron algunas líneas de futuro.

El 24 de septiembre tuvo lugar la presentación del Proyecto Europeo sobre el "Futuro de competencias en Farmacia" por el Dr. Jeffrey Atkinson, delegado de la U. E. de Bruselas, liderado por la Universidad Libre de Bruselas. Actuó y presentó al conferenciante el Prof. de la Universidad de Granada Antonio Sánchez Pozo, delegado español en el mencionado proyecto. Se distribuyó el documento base, expuso las propuestas de competencias, y la próxima elaboración y distribución de un "Cuestionario". Se acordó una próxima reunión en la Academia, como Sesión científica o a convenir por la tarde, para una numerosa asistencia de las instituciones farmacéuticas de investigación, docencia, alumnos, de la industria, Asociaciones de Farmacia, en fecha a establecer, que se dará a conocer próximamente. Asistieron numerosos académicos y la Secretaria del Consejo de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, Dra. Ana Aliaga y representante del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid.

Se extendió sobre la Garantía de calidad en todos los ámbitos de la Farmacia: PHAR-QA (Quality assurance in pharmacy education and training in Europe). Es un proyecto de la Unión Europea, dentro del programa ERASMUS Lifelong Learning, que continúa el estudio iniciado con el proyecto PHARMINE (Pharmacy Education in Europe). PHAR-QA desarrollará las competencias y el sistema de garantía de la calidad en la formación y prácticas de los farmacéuticos en Europa.

La adopción de un sistema europeo de garantía de la calidad en la educación de los farmacéuticos es una necesidad para asegurar que la formación produce profesionales cualificados para la población europea. Capaces de trabajar eficientemente en esta profesión regulada con independencia de la institución en la que se estudie. Además deben redefinirse las competencias en función de las tendencias actuales, tales como:

- La reorganización de la Universidad conforme a las directrices del Espacio Europeo de Educación Superior y los cambios que ello supone en los estudios, en particular, la organización en grados y masteres.
- La economía y organización de los sistemas de salud en donde el papel de los farmacéuticos comunitarios y de hospital es cada vez más importante y trascendental, a medida que se optimizan.
- Los avances en la industria farmacéutica-biotecnológica que han desplazado al medicamento desde moléculas más o menos sencillas a la compleja nanoterapia y terapia biotecnológica e ingeniería médica.

En la base de todo lo anterior está la seguridad del paciente. Esta es la preocupación fundamental del farmacéutico y el trabajo diario tanto en la farmacia comunitaria como en los hospitales o en la industria, la investigación, desarrollo y

producción y uso de medicamentos eficaces y seguros. Por tanto, el beneficiario final del proyecto PHAR-QA es la población europea.

PHAR-QA se desarrolla conjuntamente por un consorcio de Universidades en la vanguardia de la investigación y desarrollo de la educación farmacéutica en Europa. Liderado por la Facultad de Farmacia de la Universidad Libre de Bruselas (Bélgica) y la agencia Pharmacolor de la Universidad de Lorraine (Nancy, Francia) y con la participación de:

- Universidad de Granada, España
- Universidad Nacional y Kapodistrian de Atenas, Grecia
- Universidad de Tartu, Estonia
- Universidad de Helsinki, Finlandia
- Universidad de Ljubljana, Eslovenia
- Universidad Jagiellonian de Cracovia, Polonia
- Universidad Médica y Farmacéutica Carol Davila of Bucarest, Rumania.

En PHAR-QA colaboran la Asociación Europea de Facultades de Farmacia y otras organizaciones. También colaboran MEDINE (Medical Education in Europe) y TUNIING. Además PHAR-QA dispone de un panel de expertos internacionales en calidad procedentes de los Estados Unidos de América, Reino Unido, España, etc.

Los resultados de este proyecto serán de utilidad para las más de 200 instituciones de enseñanza superior europeas; los gobiernos, los directorados europeos y las organizaciones profesionales de farmacéuticos de todos los sectores. Asimismo, los resultados de PHAR-QA se difundirán entre:

- Los estudiantes y profesorado de las Facultades de Farmacia.
- Los farmacéuticos europeos (comunitarios, de hospital, investigación, de la industria y otros).
- Los grupos nacionales y europeos relacionados con la Farmacia.
- Los miembros de sociedades farmacéuticas, biotecnológicas, químicas, etc. y las relacionadas de agricultura y ciencia de los alimentos, etc.

La información también se difundirá fuera de Europa en aquellos países que deseen seguir el trabajo, y posiblemente implementar los paradigmas derivados de PHARMINE y PHAR-QA.

El 26 de septiembre tuvo lugar la conferencia sobre "Disfunción endotelial, resistente a la insulina y obesidad", que fue impartida por la Prof. Dra. Dolores Prieto Ocejo, Catedrática de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la UCM, quien

fue presenta por el Académico de Número de la RANF, Excmo. Sr. D. Albino García Sacristán.

Como resumen de su conferencia señalamos que la obesidad es un problema de salud cuya incidencia incrementa de forma alarmante afectando en la actualidad a niños y adolescentes. Y constituye un factor de riesgo clave para el desarrollo de enfermedad metabólica y cardiovascular. La obesidad se caracteriza por un exceso en el acumulo de grasas debido a una falta de balance energético, crónico, entre el ingreso y el gasto energía. Lo cual va a afectar a diferentes tipos celulares incluyendo adipocitos, hepatocitos, células del músculo esquelético, células endoteliales y células del sistema inmune. Las alteraciones metabólicas y cardiovasculares asociadas a la obesidad van a estar caracterizadas por los altos niveles de estrés oxidativo y la activación de vías inflamatorias en el tejido adiposo que actúan localmente o a distancia. Dañando la función de las células endoteliales y las vías de señalización de la insulina, lo que produce resistencia a la insulina y predisposición a la enfermedad vascular y metabólica –diabetes tipo 2.

Diversos estudios clínicos y experimentales han demostrado que la vasodilatación metabólica, inducida por agonistas, está comprometida en individuos obesos y en modelos animales de obesidad genética o inducida por dieta. El tejido adiposo "inflamado" va a ser una fuente de estrés oxidativo que daña las vías de señalización, factores vasodilatadores, antitrombóticos y antiinflamatorios del endotelio vascular, como el óxido nítrico y la prostaciclina. Asimismo, la actividad vasoconstrictora y proaterogénica de factores como la endotelina se encuentra incrementada en la obesidad. La obesidad es una de las causas principales de resistencia a la insulina, y el estrés oxidativo y los mecanismos inflamatorios que dañan la función del endotelio vascular lesionan también las vías de la insulina favoreciendo el desarrollo de diabetes tipo 2.

En cuanto a los honores que han recibido nuestros Académicos durante este último trimestre, hay que destacar que El Excmo. Sr. D. Juan Tamargo Menéndez, Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, ha sido laureado y recibido como "Fellow" de la British Pharmacological Society. En un acto celebrado en el Royal College of Physicians, de Londres, el pasado 5 de septiembre. La distinción de "Fellow" se le concedió por sus aportaciones a la "Sociedad y a la Farmacología".

Óbito. En el capítulo de obituarios, tenemos que lamentar la gran pérdida, por el fallecimiento de nuestro Académico de Número Excmo. Sr. D. Miguel Rubio Huertos, el pasado 17 de agosto en Madrid. En su día comunicamos nuestro más sentido pésame a su familia.

Don Miguel Rubio, nació en Madrid, el 1 de marzo de 1920. Doctor en Farmacia. Profesor de Investigación y Consejero de Número del CSIC. Director del

Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología. Premio "Ramón y Cajal" (CSIC) 1954. Premio "Francisco Franco" (CSIC) 1959. Trabajó en diferentes países: Gran Bretaña, Holanda, Alemania, Estados Unidos y Japón.

Ocupó la Medalla 21 de la Real Academia Nacional de Farmacia, en la que ingresó el 25 de noviembre de 1976. Leyó su discurso de ingreso "Los virus y la biosfera" y fue contestado por el Excmo. Sr. D. Lorenzo Vilas López, Académico de Número.



PUBLICACIONES ELECTRÓNICAS DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA