

SUMARIO

SECCIONES

Editorial
Neurociencia hoy 108

Normas de presentación 144

Imagen de la portada:
Navidad
Luvio - 2005



Trabajo original 110

Identificación rápida de bacterias aisladas de pacientes fibroquísticos mediante espectroscopía infrarroja y análisis multivariante

Alejandro Miñán, Alejandra Bosch, Cecilia Vescina, José Degrossi, Blanca Gatti, Mirta Franco, Osvaldo Yantorno

Trabajo original 122

¿Qué conocen los usuarios (estudiantes de medicina) sobre recuperación de información?

María Fernanda Astigarraga, María Guillermina Guidoni, et cols.

Actualización 133

Respuesta a la lesión disruptiva en el sistema nervioso central en desarrollo
Parte I: Dimensión témporo-espacial y vulnerabilidad neural

Marta Jones

Resúmenes 142

Modelo electrocardiográfico de la enfermedad de Chagas crónica en ratón para la evaluación de nuevos fármacos
J Bleiz, T Luong, D Lirussi, et cols.

EDITORIAL

Neurociencia hoy

En el ensayo "Retraso", Francis Bacon dice: "No hay, seguramente, mayor sabiduría que conocer bien el comienzo de las cosas". Citando esta frase intento destacar la importancia de indagar las características de un proceso desde sus orígenes con el fin de interpretar correctamente su desarrollo. En las civilizaciones antiguas, tales como la egipcia y la griega, el hombre se preguntó, sin obtener respuestas satisfactorias, dónde residía la base de su pensamiento y qué relación tenía con el alma. Luego se sucedieron períodos históricos sin cuestionamientos sobre la existencia del alma o la mente. Pero, cuando en 1662 Thomas Willis (y no fue el primero en hacerlo) separó el cerebro de su rígida envoltura ósea, un multifacético público científico lo rodeaba y seguía atentamente sus movimientos, colaborando algunos de ellos en las maniobras de extracción y documentación gráfica ⁽¹⁾. Ese día, mientras Willis levantaba el cerebro y lo mostraba a la audiencia, comenzaba una nueva era llamada Edad Neurocéntrica, era que se ha prolongado hasta nuestros días. De allí en más, los investigadores han contribuido con numerosísimos avances fundados, tal como lo hiciera primitivamente Willis, en el cooperativismo científico. Como un fenómeno de desintegración e integración consecutivas, el progreso y la necesidad de la especialización en las neurociencias ha producido por un lado la atomización de los conocimientos y las actividades y, junto a ello, la obligación perentoria de la interacción de sus componentes. En base a la vigorización intelectual que producen las innumerables facetas de la interacción humana, la discusión científica genera nuevas e importantes ideas. Cada vez más la ciencia recurre a principios básicos físicos, químicos o matemáticos aparentemente aislados, para explicar trascendentes fenómenos biológicos. En esta "íntima solidaridad de las ciencias" ⁽²⁾ han fructificado los más sorprendentes descubrimientos, pasados y recientes. En ambientes florecientes, y otras veces en medios desfavorables, por no decir hostiles o simplemente indolentes.

Staff editorial

■ Directora

Dra. Herminia Itarte

■ Comité de Redacción:

Dr. Ricardo Drut
Dr. Horacio González
Dr. Luis Guimarey
Dra. Marta Jones
Dr. Néstor Pérez
Dr. José Pujol

■ Comité Editorial Asesor:

Dr. Hugo Basílico
Dr. Luis Fumagalli
Dra. Silvia González Ayala
Dr. Juan Carlos Pernas
Dr. Mario Rentería
Dr. Aníbal Zaidemberg

■ Comité Científico:

Dres.
Carlos Antelo
Miguel Carzolio
Lidia Costa
Susana de Larrañaga
Eduardo Cueto Rua
Adriana Fernandez
Celia Ferrari
Carlos Gonzalez Landa
Maria Herrero
Miguel Esteban
Jorge Hauri
Silvia Jury
Susana Larrañaga
Rosario Merlino
Carlos Peltzer
Daniel Pollono
Ana Rigoni
Carlos Santanciero
Zulma Santucci
Edgardo Segal
Roberto Silber
Nestor Siri
Carlos Torres

Dirección Asociada de
Docencia e Investigación:
Tel. (54-221) 453-5929
institutoinvestigaciones@hotmail.com

LUDOVICA PEDIÁTRICA

es una edición trimestral de

Ediciones de la Guadalupe

Telfax: (54-11) 4372-8327

Tel.: (54-11) 4373-6366

edicionesdelaguadalupe@fibertel.com.ar

ludovica@fibertel.com.ar

*La reproducción total o parcial
de los artículos de esta publicación*

*no puede realizarse
sin la autorización expresa
por parte de los editores.*

*La responsabilidad por
los juicios, opiniones,
puntos de vista
o traducciones expresados
en los artículos publicados
corresponde exclusivamente
a sus autores.*

Registro de la propiedad

Intelectual 01818

El volumen VII N° 4 de

Ludovica Pediatría

pertenece a los meses de
octubre, noviembre, diciembre
de 2005



**EDICIONES
DE LA GUADALUPE**

Dirección Editorial:
Iris Uribarri

Diagramación y armado:
Eugenia Grané

Departamento de Publicidad:
Jessica Sánchez Voci

En tiempos en que la neuroanatomía funcional busca y encuentra su correlato en la anatomía molecular; en que los hallazgos micromorfológicos se explican por cambios en el entorno biológico y viceversa; y en que la psicopatología y la neurociencia de la cognición aúnan esfuerzos por comprender las enfermedades psiquiátricas, las alteraciones mentales tienden a explicarse a través de modelos matemáticos de alteración de la plasticidad neural. Son los mismos tiempos en que la neurofisiología avanza sobre campos antes insospechados, tales como la inmunidad, la plasticidad neural y las funciones psicofisiológicas; en que las neuroimágenes avalan un diálogo entre psicoanalistas y neurocientíficos; y en que la neurorrehabilitación potencia sus tratamientos basándose en los nuevos conceptos neurobiológicos de crecimiento, regeneración y plasticidad neural. Mientras leemos a Damasio refrescando y re-frendando las teorías de Bergson, asistimos a la relación neurobiológica entre nutrición, comportamiento y neuroquímica; vemos emerger nuevas disciplinas tales como neurofilosofía y neuroeconomía, y vemos transformarse la práctica de diagnóstico y tratamiento merced a la neurogenética, los estudios sobre muerte celular, la terapia génica y la experiencia en stem cells.

En todos esos tiempos, que son los actuales, el árbol ramificado hasta el infinito funciona multidisciplinariamente en un único y gran tronco común: la neurociencia.

Marta Jones

1- Zimmer C. Soul made flesh. The discovery of the brain and how it changed the world. New York/London/Toronto: Free Press; 2004.

2- Ramón y Cajal S. Los tónicos de la voluntad. Bs.As./México: Espasa-Calpe; 1946.



**Alejandro Miñán⁽¹⁾,
Alejandra Bosch⁽¹⁾,
Cecilia Vescina⁽²⁾,
José Degrossi⁽³⁾,
Blanca Gatti⁽³⁾,
Mirta Franco⁽³⁾,
Osvaldo Yantorno^(1*)**

⁽¹⁾ *CINDEFI (CONICET),
Facultad de Ciencias Exactas,
UNLP, La Plata.*

⁽²⁾ *Hospital Sor María Ludovica,
La Plata.*

⁽³⁾ *Cátedra de Microbiología,
Fac. de Bqca. y Fcia.
UBA. Argentina*

✉ yantorno@quimica.unlp.edu.ar

Ganador al premio Mejor Trabajo Científico de las Cuartas Jornadas de Actualización en Clínica Pediátrica 2005

Identificación rápida de bacterias aisladas de pacientes fibroquísticos mediante espectroscopía infrarroja y análisis multivariante

resumen

A partir del año 2004 se ha registrado en el Hospital de Niños de La Plata, un aumento en el número de aislamientos de *B. cepacia* en pacientes fibroquísticos (FQ), así como también en niños con otras patologías. La identificación rápida y precisa de estas bacterias resulta esencial para la iniciación del tratamiento adecuado. Los métodos bioquímicos empleados de rutina para la identificación microbiológica, no brindan por lo general resultados certeros, demandan al menos 5 días de análisis y sólo permiten discriminar hasta el nivel de especie. Sin embargo, las bacterias identificadas como "*B. cepacia*" comprenden un grupo de 9 especies o genomovares altamente relacionados, denominado colectivamente el Complejo *B. cepacia*.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una estrategia que permitiera la identificación y caracterización rápida de organismos aislados de muestras de esputo de pacientes FQ a nivel de subtipo de genomovar, basada en el empleo de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) combinada con técnicas de análisis multivariante.

Se obtuvieron espectros de 14 aislamientos hospitalarios y 16 cepas de referencia previamente confirmadas por técnicas de biología molecular (PCR y corte con enzimas de restricción) en un espectrómetro Perkin Elmer (Spectrum One). Para ello se utilizaron colonias obtenidas en medio sólido en condiciones estandarizadas, proveniente de un cultivo confluyente resuspendidas en H₂O, transferidas a una celda de ZnSe y llevadas a sequedad hasta obtener un film homogéneo y transparente. Los espectros se normalizaron y sus derivadas primeras fueron sometidas a diferentes análisis multivariantes para su diferenciación y construcción de librerías espectrales. Se desarrollaron y compararon dos sistemas de caracterización, diferenciación e identificación basados en: 1) análisis de clusters (AC) empleando el coeficiente de Pearson y el algoritmo de Ward (software OPUS V.4.0, Bruker Optics, USA) y 2) un sistema de redes neuronales artificiales (ANNs) que discrimina en tres diferentes niveles (género, genomovar y subtipo), entrenado aplicando diferentes algoritmos (NeuroDeveloper© software, Germany).

Se demostró que FT-IR combinada con AC y/o ANNs permite la identificación rápida (menos de 36 horas), precisa y a bajo costo de organismos de interés clínico.

Palabras clave: diagnóstico microbiológico, Burkholderia cepacia, espectroscopía infrarroja, análisis multivariante.

Introducción

Los pacientes fibroquísticos son susceptibles a infecciones pulmonares crónicas causadas por un amplio rango de bacterias ⁽¹⁾. Estas infecciones exacerbaban el progresivo deterioro pulmonar. Aunque *Pseudomonas aeruginosa* ha sido descrito como el organismo más comúnmente asociado a la morbilidad y mortalidad de estos pacientes, en las dos últimas décadas *Burkholderia cepacia* ha aparecido como responsable de brotes epidémicos entre personas fibroquísticas ^(2,3). En el ámbito local, particularmente en el Hospital de Niños de La Plata, durante el año 2004 se registraron 40 aislamientos de *B. cepacia*, en estos pacientes. *B. cepacia*, no es un simple organismo, sino que corresponde a un grupo de bacterias, las cuales incluyen nueve especies o genomovares estrechamente relacionados, colectivamente designados como el Complejo *B. cepacia* ^(4,5,6). La taxonomía e identificación de las especies que integran este complejo es dificultosa empleando las técnicas bioquímicas convencionales; y se ha documentado que bacterias pertenecientes a otros géneros como *Pandoraea* y *Ralstonia* pueden ser confundidas como especies de *Burkholderia* ^(6,7,8). Los métodos bioquímicos demandan al menos 5 días de análisis, son costosos y en el caso de *Burkholderia* no permiten discriminar hasta el nivel de especie. Análisis basados en polimorfismos de los genes 16S rDNA y *recA* fueron desarrollados en los últimos años a fines de identificación ^(4,9,10). Sin embargo, si bien estas técnicas representan un avance importante, su implementación es costosa, consume un tiempo considerable y no resulta sencilla, sobre todo en el ámbito hospitalario. Una estrategia radicalmente diferente, para la

rápida identificación de organismos clínicamente relevantes, es el empleo de técnicas espectroscópicas ^(11,12). El fundamento de las mismas es que un espectro infrarrojo (IR) constituye una especie de huella dactilar, que representa la composición química global de la muestra analizada y que, por lo tanto, permite su caracterización. La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) combinada con técnicas de análisis multivariante ha sido propuesta en los últimos años como un método fisicoquímico alternativo para la identificación y caracterización molecular microbiana ⁽¹²⁾. Esta metodología al analizar directamente espectros de células enteras, sin ningún tipo de tratamiento ni uso de reactivos especiales, tiene bajos costos operativos y lo que es más importante permite obtener resultados en tiempos reducidos. En otros organismos patógenos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Candida* spp.) FT-IR demostró su poder de resolución para diferenciarlos hasta el nivel de cepa ^(13,14,15).

El objetivo de este trabajo fue aplicar FT-IR combinada con técnicas multivariantes, como análisis de cluster y redes neuronales artificiales (RNA)⁽¹⁷⁾, para construir bibliotecas basadas en espectros de cepas de referencia del complejo *B. cepacia* y *Pseudomonas* que permitiesen la posterior identificación rápida, de organismos aislados de pacientes con fibrosis quística. La metodología desarrollada permitirá también realizar estudios de biodiversidad y epidemiológicos.

materiales y métodos

Microorganismos y condiciones de cultivo

Las cepas y aislamientos bacterianos utilizados en este trabajo se indican en la Tabla I. Se estudiaron 14 aislamientos obtenidos al azar entre 40 muestras de esputo de pacientes fibroquísticos tratados en el Hospital de Niños de La Plata Sor María Ludovica durante el año 2004. Previo al análisis por espectroscopía los aislamientos se caracterizaron e identificaron por métodos bioquímicos y técnicas de biología molecular ^(5,6). Todos los

organismos fueron mantenidos a -70°C en glicerol al 30%. Para iniciar cada proceso se sembraron placas con agar Mueller-Hinton (MH) suplementado con 5% de sangre de carnero. Las placas se incubaron 24 hs a 36°C . Las colonias se repicaron e incubaron por 8 hs en las mismas condiciones. En estudios de optimización se tomaron muestras de fase lag, exponencial y estacionaria.

Espectroscopía Infrarroja

Adquisición y pre-tratamiento de los espectros: espectros infrarrojos de cada uno de los organismos en estudio, fueron obtenidos a partir de las colonias crecidas en medio sólido. Para la toma de muestra se utilizó la técnica descrita por Helm y colaboradores⁽¹¹⁾, la cual consiste en tomar dos anzadas de material microbiano proveniente de un cultivo confluyente (con anza de platino calibrada de 1mm de diámetro), resuspender el material en 120 μL de H_2O , transferir 100 μL de la suspensión a una celda de ZnSe y llevar a sequedad hasta obtener un film homogéneo y transparente. Las celdas fueron leídas en un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier (Perkin Elmer, Spectrum One, USA). Los espectros de absorción fueron registrados entre 650 y 4000 cm^{-1} con una resolución de 6 cm^{-1} y cada uno resultó del promedio de 64 escaneos. Para evitar interferencias debidas a bandas rotacionales del vapor de agua, las medidas se realizaron bajo corriente de aire seco. Los espectros fueron sometidos a un pre-tratamiento utilizando el software OPUS versión 4.0 (Bruker Opticks, Alemania), el cual consistió en la obtención de la derivada primera y segunda de cada espectro para posteriormente llevar a cabo un test de calidad espectral (TC)⁽¹³⁾. Sólo los espectros que superaron este test fueron incluidos en los análisis posteriores. Para disminuir corrimientos de la línea de base, aumentar la resolución de las bandas e igualar biomasa, los espectros originales fueron derivados y sometidos a una normalización vectorial empleando el software OPUS.

El espectro IR de cualquier material de origen biológico puede dividirse en 5 regiones o ventanas espectrales, de las cuales se obtiene diferente infor-

mación. La Figura 1 muestra un espectro microbiano típico el cual representa la composición bioquímica total de las células analizadas; se indican las ventanas espectrales y las absorciones de las principales macromoléculas y grupos funcionales. La región 3.100 a 2.800 cm^{-1} , designada W_1 , corresponde a las absorciones debidas a estiramientos y balanceos de uniones C-H de los grupos funcionales CH_3 y $>\text{CH}_2$, presentes en cadenas de ácidos grasos. En la región W_2 , entre 1.800 y 1.500 cm^{-1} , denominada región de Amidas, predominan las absorciones debidas al grupo $>\text{C}=\text{O}$ característico de la unión amida de proteínas y de ésteres. La región W_3 , entre 1.300 y 1.500 cm^{-1} , es la llamada región mixta, ya que incluye la absorción de grupos funcionales de lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. La región espectral W_4 , entre 1.200 y 900 cm^{-1} , es asociada a bandas debidas a estiramientos C-C y C-O y a deformaciones C-O-C y C-O-H de polisacáridos. El intervalo entre 900 y 650 cm^{-1} , W_5 , conocido como huella dactilar, exhibe gran variedad de picos de muy baja intensidad, característico de la muestra en estudio^(11,12).

II) Estudios de reproducibilidad

Previo a la utilización de los espectros para la construcción de las bases de datos, se analizó la variabilidad que muestran los organismos en estudio con relación a su expresión fenotípica. Para ello se registraron no menos de 15 espectros de cada cepa, obtenidos de por lo menos 3 cultivos independientes realizados en el término de 6 meses. A fin de darle un valor numérico al nivel de reproducibilidad o variabilidad (NR), se aplicó sobre los 15 espectros replicados de cada especie la ecuación "Normalization to replevel" en el rango 1.700-900 cm^{-1} , con la cual se obtuvo una medida de la disimilitud entre espectros^(11,12). Finalmente, para visualizar el NR en forma de dendrograma se introdujo valor de disimilitud obtenido en el algoritmo de promedios ponderados ("Average Linkage"), software OPUS.

III) Análisis de cluster e identificación

Para la construcción de librerías espectrales que permitieran discriminar e identificar aislamientos

Tabla 1. Cepas de referencia y aislamientos hospitalarios utilizados en el estudio y sus respectivos orígenes.

Género	Especies (genomovar)	Cepa	Procedencia	
	cepacia (I)*	ATCC 25416	PCR/RFLP cebolla, EEUU	
	multivorans (II)*	ATCC 17616	PCR/RFLP suelo, EEUU	
	cenocepacia (IIIa)*	LMG 18863	PCR/RFLP paciente fibroquístico Canada	
	cenocepacia (IIIb)*		PCR/RFLP Cepa hospitalaria cedida por la Cátedra de Microbiología, Fac. Medicina (UBA)	
	stabilis (IV)*	LMG 18870	PCR/RFLP paciente fibroquístico, Canadá	
	dolosa (VI)*	LMG 21820	PCR/RFLP paciente fibroquístico Reino Unido	
	ambifaria (VII)*	LMG 19467	PCR/RFLP paciente fibroquístico Australia	
	anthina (VIII)*	LMG 20983	PCR/RFLP paciente fibroquístico Reino Unido	
	ubonensis (X)	ATCC		
Burkholderia		NF23	PCR/RFLP HNLP	
		NF57	PCR/RFLP	
		NF59	PCR/RFLP	
		NF64	PCR/RFLP	
		NF67	PCR/RFLP	
		NF69	PCR/RFLP	
		cenocepacia (III)*	NF72	PCR/RFLP
			NF74	PCR/RFLP
			NF77	PCR/RFLP
			NF87	PCR/RFLP
			NF96	PCR/RFLP
			NF98	PCR/RFLP
			NF99	PCR/RFLP
			NF101	PCR/RFLP
		NF102	PCR/RFLP	
		ATCC 13388		
		ATCC 19429	RKI, Berlin, Alemania	
		ATCC 25619		
Pseudomonas	aeruginosa	ATCC 31482		
		ATCC 10145		
		ATCC 15442		
		ATCC 27853		

* Especies pertenecientes al complejo *Burkholderia cepacia*

ATCC: American Type Culture Collection; LMG: Belgian Co-ordinated Collections of microorganisms - Bacteria Collections, Ghent, Belgica.

Las cepas ATCC y LMG de *Burkholderia cepacia* forman parte del International *Burkholderia cepacia* Strain Panel y fueron cedidas por el sector bacteriología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (Buenos Aires- Argentina).

HNLP: Hospital de Niños de La Plata "Sor María Ludovica".

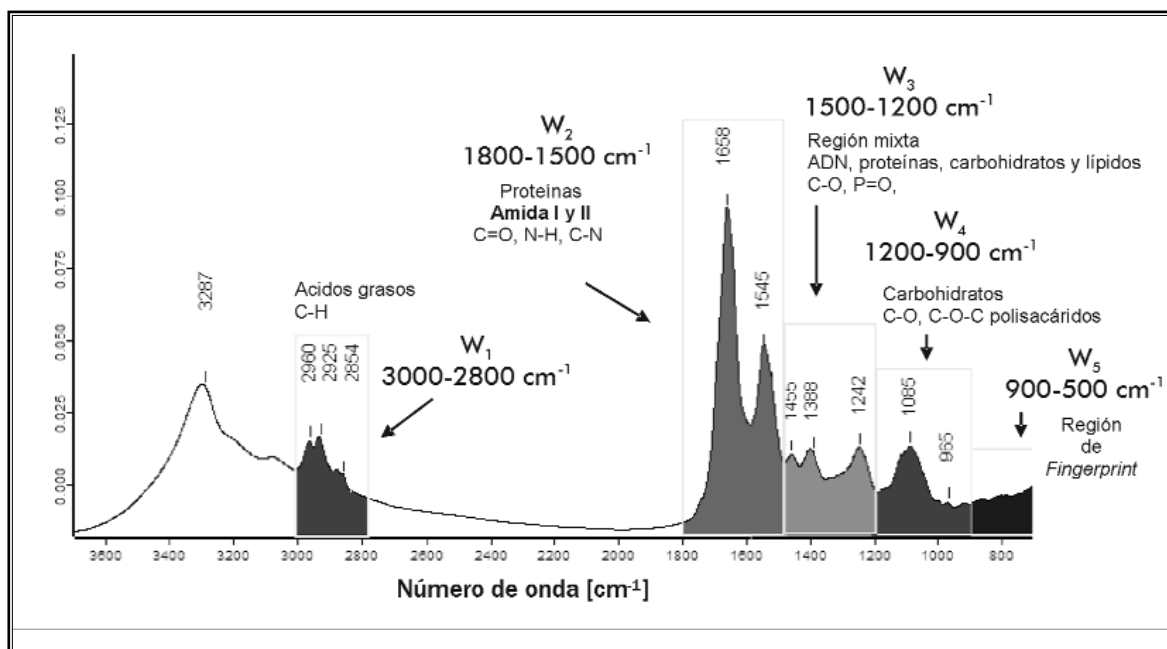
desconocidos y para estudios epidemiológicos a fin de poder diferenciar fenotípicamente aislamientos, se seleccionaron las ventanas espectrales que permitieron la diferenciación entre los diferentes genovares del Complejo *B. cepacia*, para lo cual se fueron combinando las distintas ventanas espectrales indicadas en la Figura 1 hasta que la discriminación obtenida por FT-IR estuviera de acuerdo con la identificación molecular y bioquímica. Una vez establecidas las ventanas adecuadas, se calculó el coeficiente de disimilitud entre espectros utilizando el producto momento de Pearson ("scaling to 1st range") y para la construcción del dendrograma que muestra la clasificación final alcanzada, se utilizó el algoritmo de Ward. Las librerías basadas en el análisis de clusters, fueron construidas utilizando los software: Spectrum One (Perkin Elmer) y el paquete IDENT del software OPUS.

IV) Construcción de redes neuronales e identificación
La construcción de una librería basada en una red

neuronal artificial para identificar aislamientos bacterianos se realizó utilizando el software Neuro-Developer®, desarrollado por Synthon Analytics, Heidelberg, Alemania ^(16,17). La construcción de la librería requirió varias etapas: a) adquisición y pretratamiento de espectros; b) normalización de datos; c) ingreso de espectros para entrenamiento de la red; d) definición de la topografía de la red; e) optimización del número de niveles jerárquicos de la red, del número de capas escondidas de la red neuronal y de las funciones a utilizar y el cálculo del error mínimo; f) validación de la red neuronal artificial mediante tres técnicas: "winner takes all" (WTA), la regla 402040 y la extrapolación; g) identificación de aislados desconocidos.

Caracterización de organismos por PCR-RFLP
La identidad de los 9 genovares de referencia del Complejo *B. cepacia*, así como de los aislados hospitalarios fue confirmada por aplicación de métodos de biología molecular utilizando la técnica de PCR y corte con enzimas de restricción (recA-RFLP) ⁽⁴⁾.

Figura 1. Espectro FT-IR de absorción de una muestra de *Pseudomonas aeruginosa* depositada sobre una celda de ZnSe, obtenido por 64 scaneos a 6 cm⁻¹ de resolución. Se muestran las distintas ventanas o regiones en que puede dividirse un espectro para facilitar su análisis y las absorciones correspondientes a los grupos funcionales presentes en las principales macromoléculas.



resultados y discusión

El fenotipo de un microorganismo varía en función de la composición del medio de cultivo, tiempo de crecimiento, pH, temperatura, sistema de cultivo, etc. Por lo tanto, al ser los espectros un reflejo del fenotipo, es de crítica importancia definir un procedimiento estandarizado de toma de muestra a fin de lograr reproducibilidad en los mismos. Los estudios de identificación de muestras biológicas por sus espectros son confiables si la muestra y condiciones de medida son estandarizadas.

Estandarización de condiciones de cultivo

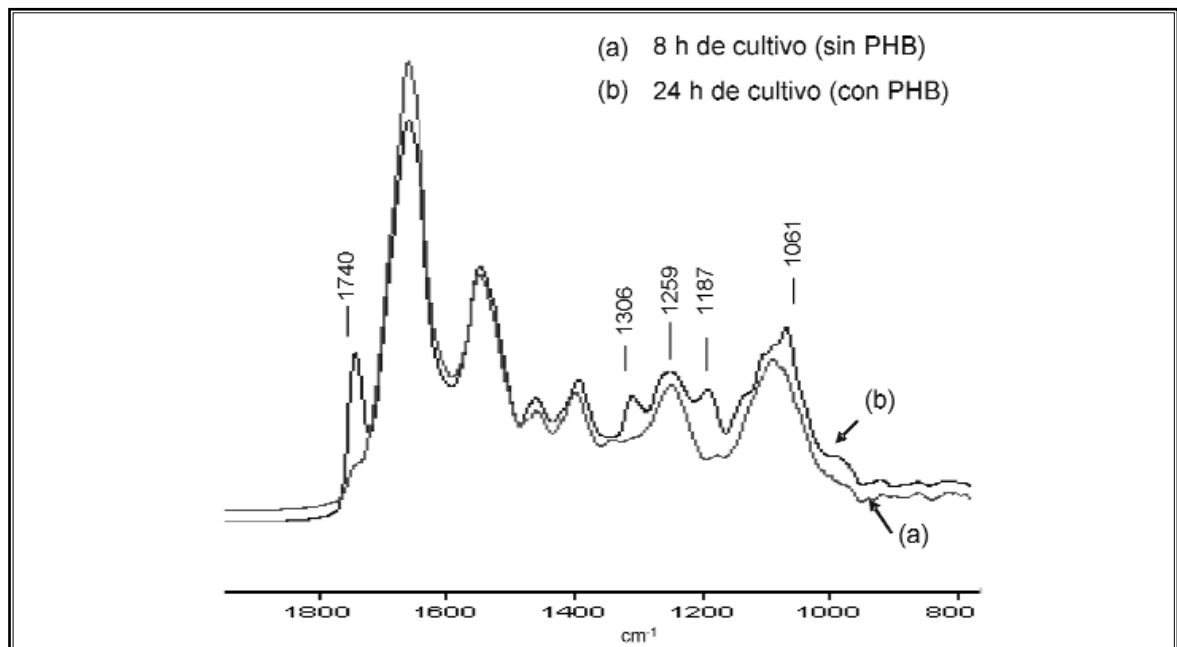
Diversas investigaciones demostraron que la presencia de polímeros de reserva derivados de hidroxi-alcanoatos (polibeta-hidroxibutirato, PHB), dificulta la caracterización e identificación por FT-IR debido a que los mismos exhiben importantes bandas de absorción a lo largo de todo el espectro IR (PHB posee 11 picos

característicos) ^(12,14,17). Por esta razón y teniendo en cuenta que estos organismos forman PHB durante su crecimiento, se debió determinar en qué fase del cultivo la presencia de PHB no representaba una interferencia. Como se observa en la Figura 2, colonias tomadas al cabo de 8 hs de crecimiento en medio sólido, no presentan un nivel detectable de PHB que pueda afectar la posterior diferenciación espectral. En vista de este resultado, se adoptó para todos los organismos este tiempo de crecimiento para la toma de muestra.

Reproducibilidad de las medidas

Estandarizadas las condiciones para la obtención de muestras se procedió a registrar no menos de 15 espectros de cada cepa a efectos de determinar, la reproducibilidad fenotípica de las mismas. En la Figura 3 se puede observar el nivel de reproducibilidad (indicado con líneas punteadas) obtenida para 3 diferentes genovares del Complejo B. cepacia.

Figura 2. Espectros FT-IR de un aislamiento hospitalario perteneciente al genomovar IIIa del Complejo B. cepacia que produce diferentes cantidades del material de reserva poli-hidroxi-butirato (PHB) en función del tiempo de crecimiento. a) espectros IR de células tomadas a las 8 hs de crecimiento en medio MH, donde no se detecta producción de PHB; y b) las mismas células tomadas a las 24 hs de crecimiento donde se detecta la presencia de PHB.



Los replicados provienen de 3 cultivos independientes. Este análisis demostró que en las condiciones de cultivo y medida seleccionadas el nivel de reproducibilidad mostrado por las cepas analizadas era satisfactorio ($NR < 16$), ya que la bibliografía internacional establece como admisibles valores menores a 25⁽¹³⁾.

Diferenciación de los genomovares pertenecientes al Complejo B. cepacia por FT-IR

La quemometría es una poderosa herramienta de análisis que resulta de la aplicación de técnicas computacionales a la espectroscopía vibracional^(16,17). A partir de la superposición de los espectros de cada una de las cepas de referencia de los distintos genomovares del complejo B. cepacia, (Tabla I), se seleccionaron 5 ventanas espectrales que permitieron la discriminación entre los mismos. El criterio de selección tiene en cuenta las regiones donde las diferencias entre espectros de una misma clase son mínimas y las diferencias entre clases resultan máximas. Las ventanas seleccionadas fueron utilizadas como datos de entrada, conjuntamente con el coeficiente de Pearson y el algoritmo de Ward, para la construcción del dendrograma indicado en la Figura 4a. El mismo muestra que los distintos genomovares pueden ser claramente discriminados a través de sus espectros infrarrojos. Las cepas utilizadas habían sido analizadas por métodos moleculares (PCR-RFLP) para confirmar su identidad. Los resultados obtenidos empleando el gen *recA* (Figura 4b), fueron confrontados con bases de datos internacionales lo cual permitió corroborar el genotipo de cada cepa^(4,6,9).

Construcción de librerías basadas en el análisis de cluster

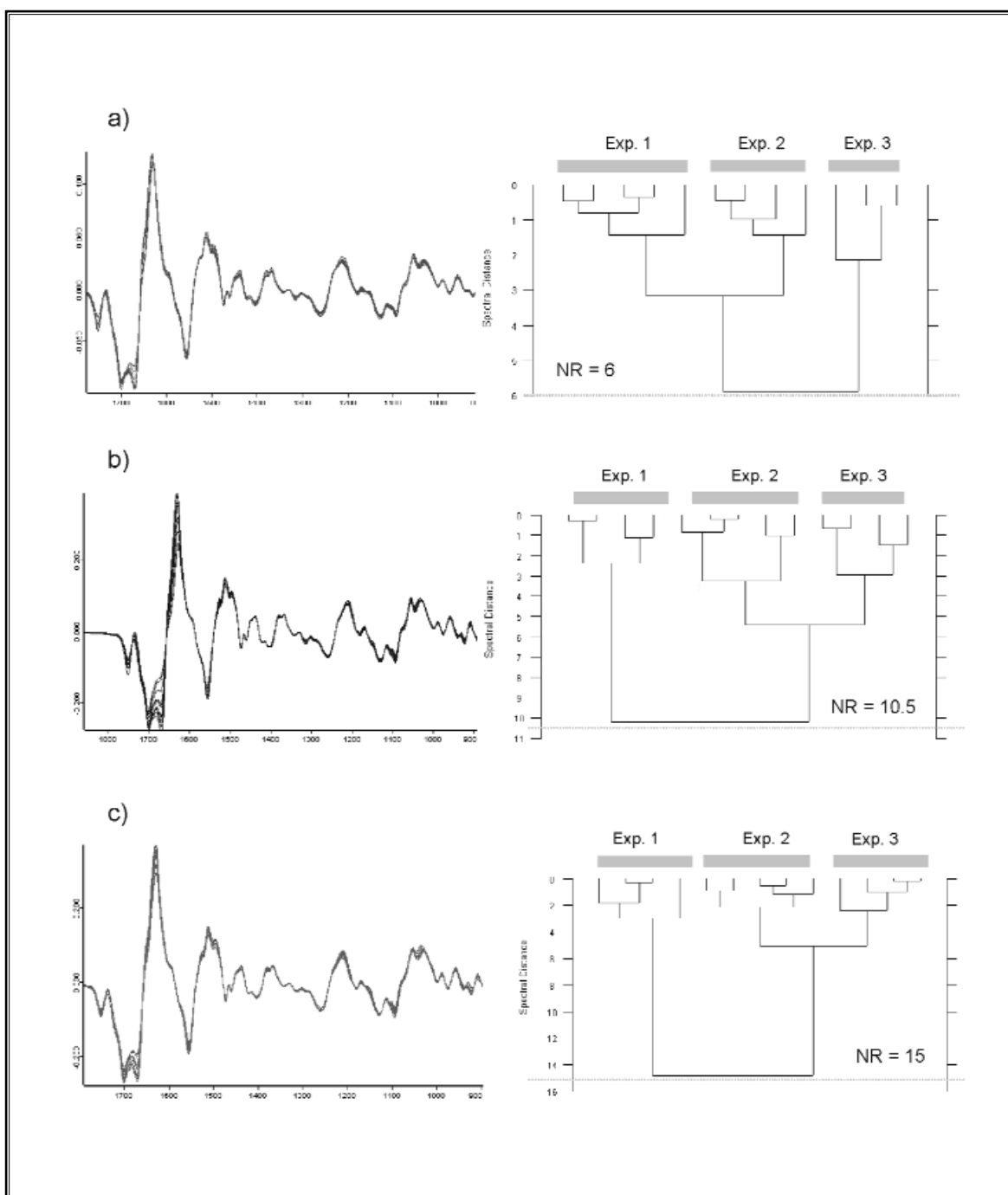
Habiendo establecido que la espectroscopía IR permite la diferenciación de genomovares de B. cepacia, se pasó a construir una librería o base de datos espectrales que permitiera la posterior identificación de aislados bacterianos desconocidos. Para la construcción de esta librería los espectros pertenecientes a los diferentes genomovares de referencia fueron divididos en dos grupos. Un primer grupo de 10 espectros de cada

genotipo, tomados al azar, fue cargado en el software OPUS y procesados usando el paquete IDENT para construcción de bibliotecas. Luego se cargaron en el software, las 5 ventanas espectrales seleccionadas previamente (indicadas en la Figura 4a) para la diferenciación. En las mismas se calculó el coeficiente de disimilitud de Pearson. La librería resultante, fue posteriormente validada con el otro grupo de espectros (5 de cada genotipo). A partir de los espectros que la librería no identificó correctamente se determinó el % de certeza o incertidumbre para la identificación. El porcentaje de certeza para la identificación de organismos pertenecientes a los genomovares II, IIIa, IIIb, IV, VII y X varió entre el 90 y el 95%; en tanto que para los genomovares I, VI y VIII estuvo comprendido entre el 80 y el 85%. Es importante resaltar que estos valores pueden ser mejorados ampliando el número de espectros con los cuales se construye y valida la librería.

Los espectros obtenidos de los aislamientos hospitalarios fueron posteriormente desafiados contra la librería desarrollada, resultando todos ellos identificados como genotipo IIIb del complejo B. cepacia excepto un aislamiento (número 87) que fue identificado como genotipo VI. El análisis posterior de todos los aislamientos por métodos moleculares demostró sin embargo, que todos ellos correspondían al genotipo IIIb. Se concluyó por lo tanto que esta librería basada en el análisis de cluster presentó un 7% de identificaciones incorrectas con los aislamientos hospitalarios ensayados.

Si bien la identificación de microorganismos al nivel de subtipo (IIIb en este caso) es necesaria para el tratamiento y seguimiento de los pacientes, en diversas ocasiones se requiere alcanzar un nivel de clasificación mayor y diferenciar los aislados microbianos a nivel de cepa, en especial en brotes o estudios epidemiológicos. Con este fin se estudió el conjunto de 14 aislados hospitalarios provenientes de un brote registrado en el Hospital de Niños de La Plata durante el año 2004 (Tabla I). Se analizaron los espectros promedio obtenidos de 15 replicados de cada aisla-

Figura 3. Dendrogramas mostrando los niveles de reproducibilidad para los genotipos I (a), VI (b) y VIII (c), en el rango 1.700 - 900 cm^{-1} . Los resultados provienen de 3 experiencias independientes con no menos de 5 replicados cada una registradas en el lapso de 6 meses. Para la construcción del dendrograma se utilizaron la función "Normal to replevel" para el cálculo de la distancia espectral y Average Linkage para mostrar la distribución de las distancias obtenidas (OPUS 4.0, Bruker, Optick, Alemania). El nivel de reproducibilidad (NR) alcanzado por cada cepa se indica con línea de puntadas.



miento, a través de un análisis de clusters utilizando el coeficiente de Pearson y el algoritmo de Ward en las ventanas definidas previamente. Los resultados (Figura 4c) indican que si bien todos ellos fueron identificados como IIIb, como se mencionó previamente, la espectroscopía IR fue capaz de diferenciarlos en 4 grupos o clusters. Es importante resaltar que los métodos bioquímicos aplicados a estos aislamientos permitieron identificarlos sólo hasta el nivel de género (Complejo B. cepacia) y la técnica de biología molecular los agrupó como pertenecientes al genomovar IIIb (nivel de subtipo). FT-IR demostró ser en este caso una metodología de mayor poder de discriminación.

Construcción de librerías espectrales basadas en redes neuronales artificiales

Una segunda estrategia de identificación implica el desarrollo de librerías empleando un sistema de clasificación jerárquica basado en redes neuronales artificiales (RNA). En este trabajo fue desarrollada una librería basada en tres niveles de clasificación (Figura 5a): el nivel superior (top-level) permite discriminar entre los géneros *Pseudomonas* y *Burkholderia*; el segundo nivel (subnet 1) diferenciar los genomovares del Complejo B. cepacia y el tercer nivel (subnet 2) distinguir entre las dos subespecies del genomovar III (IIIa o IIIb). Utilizando el 75 % de los espectros registrados de cada genomovar de referencia se entrenaron y validaron las tres redes neuronales en forma independiente y luego fueron conectadas en forma de arquitecturas neurales en multicapas. El entrenamiento de cada una de ellas (top-net, subnet1 y subnet 2) consistió en la búsqueda de los números de onda que mejor diferencian las clases estudiadas (Figura 5b), así como también el ajuste de otras variables como el número de nodos internos. Posteriormente utilizando los espectros reservados para el testeo (25 % del total de espectros), se calcularon los % de certeza para la identificación de cada uno de los genomovares, obteniéndose valores comprendidos entre el 97 y 100 %,

dependiendo del genomovar. Bajo este sistema de identificación por redes neuronales artificiales todos los espectros correspondientes a los aislados de muestras de esputo de pacientes fibroquísticos fueron correctamente clasificados como pertenecientes al genomovar IIIb (Figura 5c).

Los dos modelos de clasificación elaborados en el presente estudio prueban que la información contenida en el espectro IR es suficiente para diferenciar fenotípicamente los organismos pertenecientes al Complejo B. cepacia y diferenciar éstos de *Pseudomonas*. Se demostró que las diferentes cepas poseen estructuras específicas que FT-IR es capaz de reconocer.

Es importante resaltar en cuanto a la metodología en general el tiempo empleado en la obtención de resultados. Si se toma en cuenta el tiempo que insume el cultivo de la muestra de esputo (24 horas más 8 horas para el repique), el tiempo que insume preparar la muestra y secarla (15 minutos más 45 minutos) y el tiempo de lectura y carga de espectro en la librería (1 hora en total), se llega a la conclusión que la obtención de resultados por FT-IR insu- men menos de 36 horas.

Conclusiones

En el presente trabajo se demostró que FT-IR combinada con análisis multivariante constituye una poderosa herramienta para la caracterización e identificación de organismos aislados de muestras de esputo de pacientes fibroquísticos. Las librerías construidas permitirán el diagnóstico bacteriológico de organismos pertenecientes al complejo B. cepacia y *Pseudomonas* a las 36 horas posteriores a la toma de muestra. La metodología demostró altos niveles de certeza y bajo costo operativo. Un mayor nivel de seguridad podrá ser alcanzado con un aumento en el número de datos durante el entrenamiento de la red neuronal. La estrategia de diagnóstico microbiológico desarrollada es inédita tanto en el ámbito local como internacional y contribuirá a la resolución de un problema social importante a nivel hospitalario.

Figura 4. a) Dendrograma resultante de un análisis de cluster jerárquico de datos obtenidos de espectros FT-IR correspondientes a los diferentes genomovares del Complejo B. cepacia. El análisis fue realizado usando la 1ra derivada normalizada vectorialmente y con la combinación de ventanas espectrales indicadas. b) Análisis por RFLP del gen recA para algunos de los genomovares del complejo B. cepacia. c) Agrupamiento jerárquico obtenido de las medias de la derivada 1ra de 15 replicados de espectros obtenidos de 14 aislamientos microbianos recuperados de muestras de esputo de pacientes fibroquísticos.

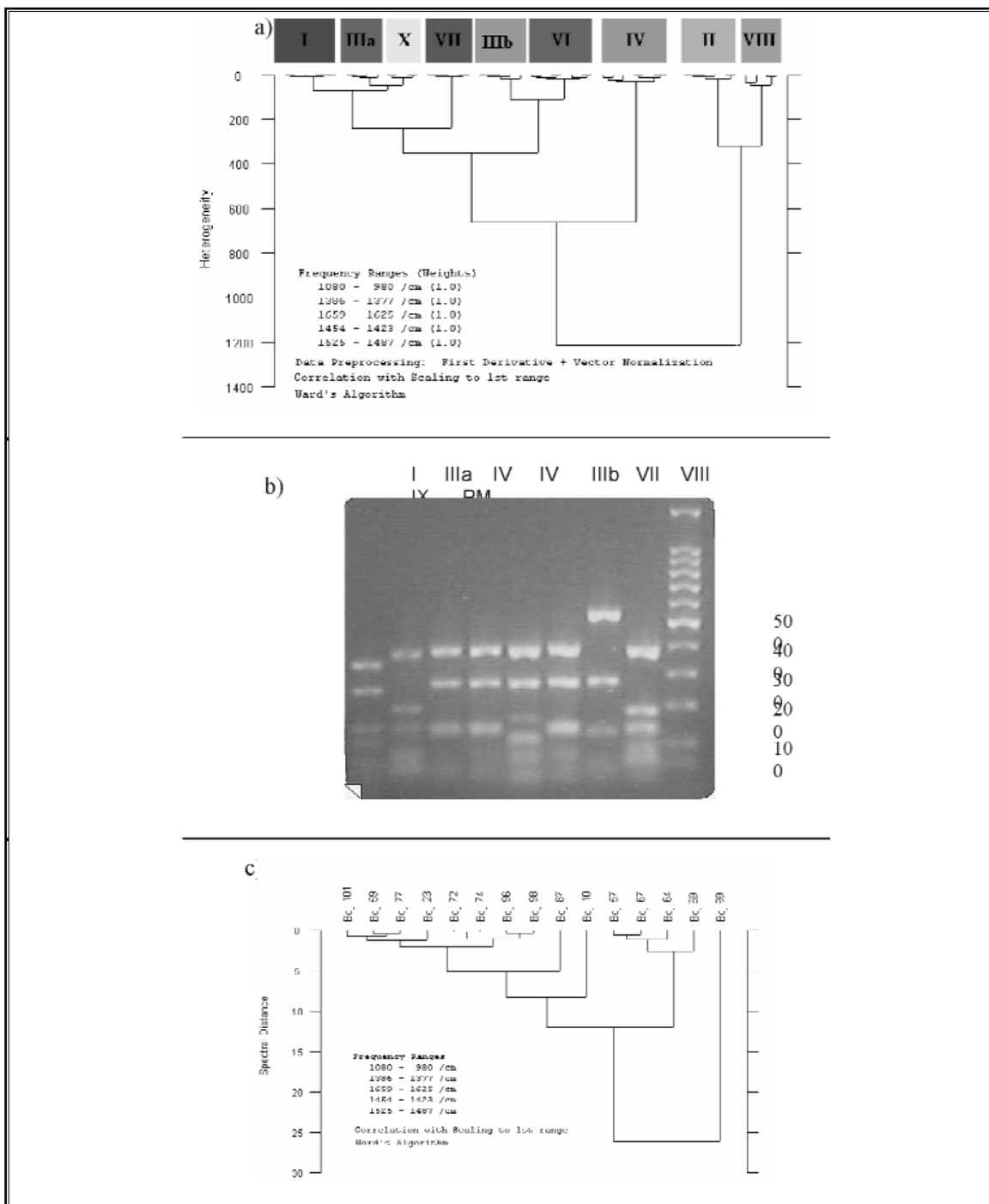
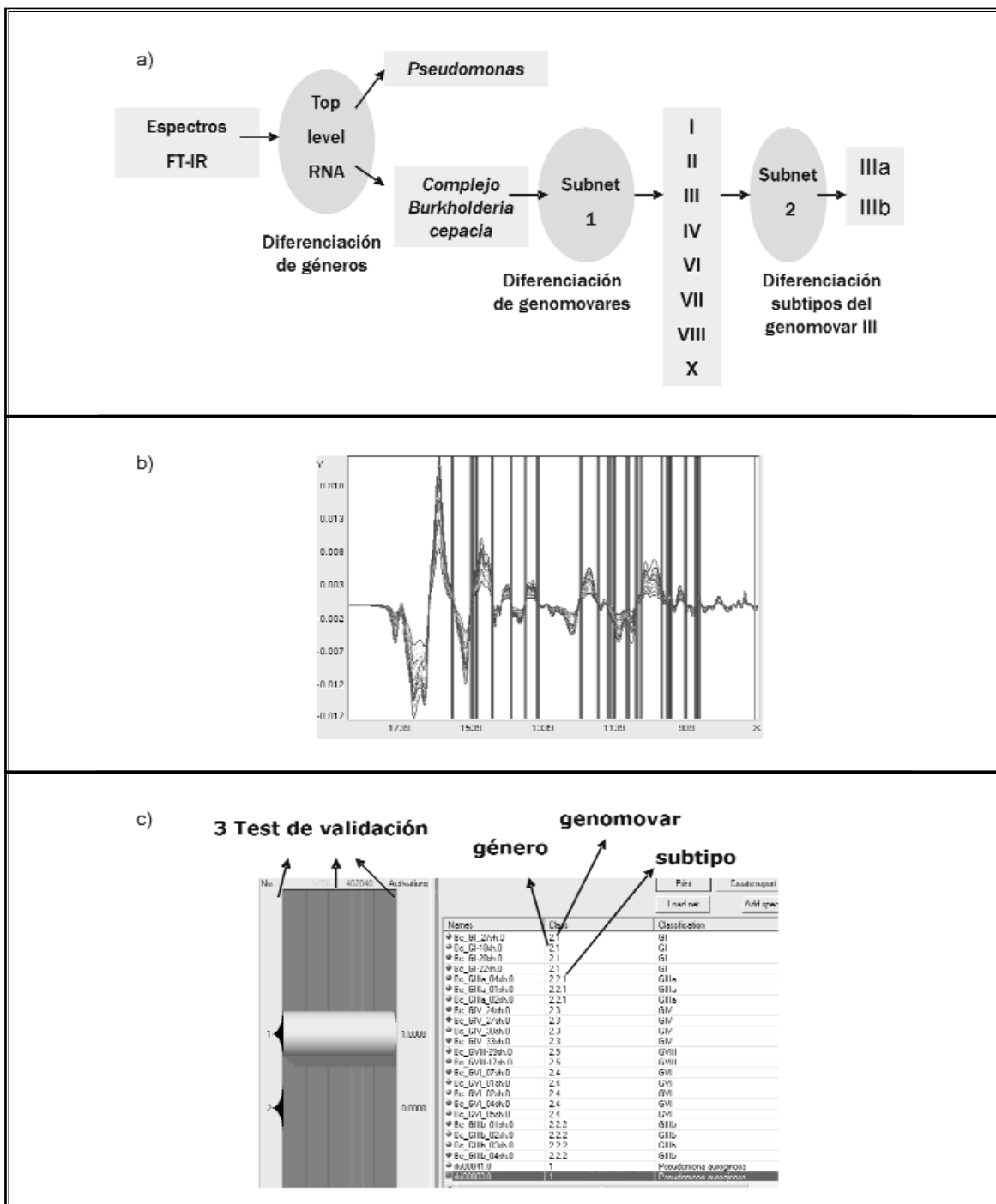


Figura 5. Librería sobre la base de redes neuronales artificiales. a) Representación esquemática de la red neuronal artificial en multicapas. Cada "subnet" fue optimizada independientemente para ejecutar una discriminación particular dentro de la base de datos general b) números de onda seleccionados (inputs) que mejor diferenciaron los genomas del Complejo B. cepacia correspondientes a la subnet 1. c) Validación de la librería espectral y representación de la forma en que el software presenta los resultados.



referencias

1. Miller MB and Gilligan PH 2005. *Laboratory aspects of management of chronic pulmonary infections in patients with cystic fibrosis*. J Clin Microbiol 41: 4009-401.
2. Fauroux B, Hart N, Belfar S, Boulé M, Tillous-Borde I, Bonnet D, Bingen E and Clément A 2004. *Burkholderia cepacia is associated with pulmonary hypertension and increased mortality among Cystic Fibrosis patients*. J. Clin Microbiol. 42: 5537-5541.
3. Henry D A, Campbell ME, LiPuma JJ and Speert DP. 1997. *Identification of Burkholderia cepacia isolates from patients with cystic fibrosis and use of a simple new selective medium*. J. Clin Microbiol. 35: 614-619.
4. Drevinek P, Hrbáková H, Cinek O, Bartosova CJ, Nue O, Némec A and Pohumek P. 2002. *Direct PCR detection of Burkholderia cepacia complex and identification of its genomovars by using sputum as source of DNA*. J Clin Microbiol 40: 3.485-3.488.
5. Shelly DB, Spilker T, Gracely EJ, Coenye T, Vandamme P and LiPuma JJ 2000. *Utility of commercial systems for identification of Burkholderia cepacia complex from cystic fibrosis sputum culture*. J. Clin Microbiol. 38: 3.112-3.115.
6. VanPelt C, Verduin CM, Goessens H F, Vos MC, Tümmler B, Segonds, C., et al. 1999. *Identification of Burkholderia spp. in the Clinical Microbiology laboratory: Comparison of Conventional and Molecular Methods*. J Clin Microbiol 37: 2158-2164.
7. Burdge DR, Noble MA, Campbell ME, Krell V I and Speert D P 1995. *Xanthomonas mantophilia misidentified as Pseudomonas cepacia in cultures of sputum from patients with cystic fibrosis a diagnostic pitfall with major clinical implications*. Clin. Infec. Dis. 20: 445-448.
8. McMenamin JD, Zacccone TM, Vandamme P and Lipuna JJ 2000. *Misidentification of Burkholderia cepacia in US Cystic Fibrosis Treatment Centres*. Chest 117: 1.661-1.664.
9. Payne GW, Vandamme P, Morgan SH. et al 2005. *Development of a recA gene-based identification approach for the entire Burkholderia genus*. Appl. Environ Microbiol 71: 3917-3927.
10. Seo S-T and Tsuchiya K. 2005. *Genotypic characterization of Burkholderia cenocepacia strains by rep-PCR and PCR-RFLP of the fliC gene*. FEMS Microbiol Lett 245: 19-24.
11. Helm D, Labischinski H, Schallehn G and Naumann D. 1991. *Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy*. J Gen Microbiol 137: 69-79.
12. Naumann D, Helm D and Labischinski H. 1991. *Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy*. Nature 351: 81-85.
13. Kirschner C, Maquelin K, Pina P, NgoThi NA, Choo-Smith LP, Sockalingum GD et al. 2001. *Classification and identification for Enterococci: a comparative phenotypic, genotypic and vibrational spectroscopic study*. J. Clin. Microbiol. 39: 1763-1770.
14. Maquelin K, Kirschner C, Choo-Smith L-P, NgoThi NA, van Vreeswijk T, Stämmler M, et al. 2003. *Prospective study of the performance of vibrational spectroscopies for rapid identification of bacterial and fungal pathogens recovered from blood cultures*. J Clin Microbiol 41: 324-329.
15. Sandt C, Sockalingum G D, Aubert D, Lèpan H, Lepouse C, Jaussaud M et al. 2003. *Use of Fourier-transform infrared spectroscopy for typing of Candida albicans strains isolated in intensive care units*. J. Clin. Microbiol. 41: 954-959.
16. Udelhoven, T, Novozhilov M and Schmitt J. 2003. *The NeuroDeveloper®: a tool for modular neural classification of spectroscopic data*. Chemometric Intelligent Lab Syst. 66: 219-226.
17. Udelhoven, T., Naumann, D., Schmitt, J. 2000. *Development of a hierarchical classification system with artificial neural networks and FT-IR spectra for the identification of bacteria*. Appl. Spectrosc. 54: 1.471-1.479. ♦



**María Fernanda Astigarraga^(*),
María Guillermina Guidoni^(**),**

Colaboradores:

Graciela Bevilacqua^(*)

Maricel F. Gómez^(*),

Silvia González Ayala^(),**

Hernán Paridis^(),**

Silvia Arguelles^(),**

^(*) Hospital Zonal Especializado
"Dr. Noel H. Sbarra". La Plata

^(**) Hospital Sor Ludovica.
La Plata.

✉ info@hospitalsbarra.com.ar
sbarra@way.com.ar
www.hospitalsbarra.com.ar
bludovica_sap@hotmail.com
www.ludovica.org.ar

¿Qué conocen los usuarios (estudiantes de Medicina) sobre recuperación de información?

What do users (students of medicine) know about information retrieval?

Resumen

¿Qué conocen los usuarios (estudiantes de Medicina) sobre recuperación de información?

Objetivo: evaluar el grado de conocimiento y utilización de los recursos de información en Ciencias de la Salud que poseen los alumnos de medicina que concurren a las bibliotecas pediátricas platenses.

Material y método: se realizó una encuesta a alumnos de la Facultad de Ciencias Médicas que asistieron a las bibliotecas del Hospital Sbarra (HS) y del Hospital de Niños de La Plata (HNLP), entre octubre del 2004 y marzo del 2005. Las respuestas eran múltiple choice, con una opción abierta para incluir información no consignada.

Resultados: se evaluaron 192 alumnos. De ellos, 180 cursan en la Cátedra de Enfermedades Infecciosas, 14 en Cirugía, 12 en Pediatría, 2 en Obstetricia. De las 34 bibliotecas de salud de la ciudad, las más consultadas son: HS-153, Fac. Cs Médicas-152, HNLP-146, Central de la Universidad-113. El 60% considera que los servicios bibliotecarios son "Buenos". El 64% ha participado en actividades de capacitación sobre búsquedas bibliográficas (cursos, demostraciones, charlas), organizadas por Cátedras-7, Bibliotecas-4. Casi la totalidad (94%-181) ha realizado personalmente búsquedas en Internet, utilizando Medline-158, Lilacs-144, Google-125, Revistas científicas-103. Las dificultades que encuentran en esto son: el poco acceso libre a textos completos y la recuperación de mucha información poco específica; y los aspectos positivos: el acceder a información remota, de calidad y actualizada. El 86% no conoce las Normas de Vancouver. Casi la mitad (43%) no contesta o no sabe confeccionar trabajos científicos. El 93% considera que el conocimiento sobre esta temática influirá positivamente en su futura práctica profesional.

Conclusiones: los recursos más utilizados son los de acceso libre y gratuito, incluyendo bases de datos, publicaciones médicas y buscadores generales. Se reconoce que existe información de calidad pero acceder a ella insume costos y tiem-

po; y necesitarían más herramientas para optimizar la pertinencia de los resultados de las consultas.

Es preocupante que alumnos que están próximos a convertirse en profesionales, desconozcan los lineamientos para realización y presentación de trabajos científicos, así como el 7% que considera que esta habilidad no influirá en su futura práctica médica.

Abstract

Purpose: the object of this work was to assess how much the students of medicine who make use of Pediatrics libraries know about Health Sciences information resources and how they use such resources.

Materials and Methods: a survey was made of students of Medical Sciences who went either to the Sbarra Hospital (SH) library or La Plata Children Hospital (LPCH) library from October 2004 to March 2005. Answers were given as multiple choice with the possibility to include non-stated information.

Results: of the 192 students who were evaluated, 180 attend the Chair of Infectious Diseases, 14 are in Surgery, 12 in Pediatrics, and 2 in Obstetrics. Of the 34 Health Libraries in La Plata, SH Library (153), Faculty of Medical Sciences Library (152), LPCH Library (146), and University Central Library (113) are the most frequently used by the students. 60% of the students think library services are 'good', 64% have attended training events on bibliography research (courses, demonstrations, and lectures) organised by Faculty Chairs (7) or libraries (4). Most of the students (94%) have browsed through the Internet themselves, using Medline (158), Lilacs (144), Google (125), scientific publications (103). Problems that are bound to arise include unavailability of whole texts and searches that result in too much general information. The advantage is that they can have access to quality updated information, otherwise unavailable. 86% of the students do not know about the Uniform Requirement for Manuscript Submitted to Biomedical Journal (Vancouver). Nearly half of them (43%) do not know how to write a scientific paper. 93% of the students believe that acquiring this ability will

have a positive effect on their future career.

Conclusions: free resources including databases, medical publications, and general browsers, are the resources most frequently used. Users acknowledge that there is good quality information however it takes them too much money and time to have access to it and they would need more tools to obtain better results. It is of great concern that students who will shortly become professionals are not familiar with the guidelines for scientific papers, as well as the fact that 7% of them think this ability will not affect their practice.

Descriptores (DeCS): almacenamiento y Recuperación de la Información - Educación de Pregrado en Medicina.

Introducción

La ciudad de La Plata, capital de la Provincia de Buenos Aires (Argentina) cuenta con 34 bibliotecas especializadas en el área biomédica ⁽¹⁾, de las cuales 3 están dedicadas a la salud materno infantil; pertenecen al Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, formando parte una de ellas del Programa Provincial Materno Infantil y las otras dos a entidades hospitalarias.

La Biblioteca del Hospital Zonal Especializado "Dr. Noel H. Sbarra" -Ex Casa Cuna- (HS) ⁽²⁾ está especializada en la temas relacionados con la **Infancia:** sus aspectos médicos, sociales, psicológicos, culturales... con especial hincapié en crecimiento, desarrollo, adopción, estimulación temprana, abandono, maltrato, nutrición, SIDA, atención primaria de salud, etc.

Brinda sus servicios (consulta en sala, préstamos a domicilio, búsquedas bibliográficas, localización de información, asesoramiento bibliográfico, etc.) a personal del Hospital, profesores y estudiantes universitarios, profesionales de distintas áreas, y personas de la comunidad interesados en esta temática.

La Biblioteca del Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría Superiora Sor María Ludovica (HNLP) ⁽³⁾ de la Ciudad de La Plata da respuesta a las demandas generadas desde esta ins-

titución de máxima complejidad para la atención pediátrica (es Centro de Referencia Provincial aunque frecuentemente supera los límites de la provincia e inclusive del país). Asimismo, brinda apoyo a las investigaciones que se llevan a cabo a través del Instituto de Docencia e Investigaciones Pediátricas (IDIP) y en relación a la docencia, mediante las múltiples cátedras y unidades de residencia con sede en el Hospital.

La Facultad de Ciencias Médicas ⁽⁴⁾ de la Universidad Nacional de La Plata conlleva en sí la responsabilidad de formar y capacitar a los médicos del futuro, como entidad educadora responsable de los cambios de realidad del país en relación con la Medicina, la salud, los aspectos socioeconómicos y los avances científicos.

Las actividades de docencia, investigación y transferencia de conocimientos a la sociedad, han permitido brindar a la comunidad los innumerables aportes originales a la ciencia médica que se han hecho en casi sesenta años.

Esta Facultad otorga en las carreras de grado el título de Médico. El Plan de Estudios de la Carrera de Médico comprende, en la actualidad, 36 asignaturas distribuidas en 5 años y una Práctica Final obligatoria (Reforma Curricular de 2003).

La cantidad ingente de información y su disponibilidad es una de las grandes ventajas de Internet que, sin embargo, también presenta inconvenientes. Intentar localizar documentos o datos de cualquier tipo en la red es una ardua tarea. Al contrario que las fuentes tradicionales, en las cuales la información se encuentra estructurada, en Internet está dispersa y distribuida anárquicamente. No toda la información que existe es de calidad y el nivel de recambio en la red es muy alto, ya que los documentos aparecen, cambian y desaparecen a un ritmo vertiginoso.

Objetivo

Evaluar el grado de conocimiento y utilización de los recursos de información en Ciencias de la Salud que poseen los alumnos de medicina que concurren a las bibliotecas hospitalarias pediátricas de la ciudad de La Plata.

Material y métodos

Se realizó una encuesta anónima (Anexo 1) a 192 alumnos de la Facultad de Ciencias Médicas que asistieron a las bibliotecas del Hospital Sbarra (HS) y del Hospital de Niños de La Plata (HNLP), entre octubre del 2004 y marzo del 2005. El cuestionario era entregado a los alumnos que se autoevaluaban. Las respuestas eran múltiple-choice, con opciones abiertas para incluir información no consignada.

Resultados

Las preguntas intentaron evaluar los conocimientos que los estudiantes encuestados poseían sobre bibliotecas biomédicas de la ciudad, calidad de sus servicios, capacitación y habilidades sobre Internet y sus recursos de información, y redacción de trabajos científicos.

Se evaluaron 192 alumnos, 82 en la biblioteca del HS y 110 en la del HNLP.

Las materias que se consignan en la Tabla 1, corresponden a alumnos que ingresaron con el plan de estudios anterior al 2004, que se cursaban durante el 6º y/o 7º año de la carrera. Al rea-

Gráfico 1: cantidad de encuestas realizadas

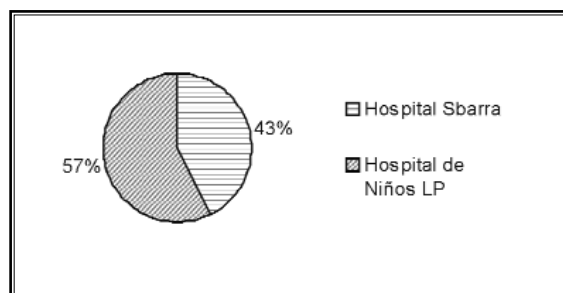


Tabla 1: materias que cursan los alumnos

Materias	Cantidad de respuestas
Cirugía	14
Enfermedades	180
Infeciosas	2
Obstetricia	12
Pediatría	0
Otras	

lizar la encuesta algunos cursan más de una materia, por eso el total no es 100%. En el plan vigente estas materias se cursan en 4º y 5º año.

Varias cátedras solicitan a los estudiantes la elaboración de trabajos de investigación y/o actualización, generando de ese modo un aluvión de

consultas en las diferentes bibliotecas biomédicas de la ciudad. De las 34 unidades de información (UI) de ciencias de la salud platenses, las más consultadas han resultado la del HS (153), la Facultad de Medicina (152), el HNLP (146), y la Biblioteca Central de la Universidad (113).

Tabla 2: bibliotecas consultadas

Biblioteca	Cantidad de respuestas
1. Bioética. COE (Oncológico)	45
2. Cátedra de Histología y Embriología B. UNLP	5
3. CENEXA	6
4. Central de la UNLP (de Plaza Rocha)	113
5. Central del Ministerio Salud de PBA (51 y 4)	27
6. Centro de Documentación Médica de La Plata (Asociación Médica - Sociedad Médica)	62
7. CESALP	4
8. Colegio de Médicos PBA. Distrito I	10
9. Colegio Farmacéuticos de PBA*	15
10. CUCAIBA	1
11. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP	14
12. Facultad de Medicina. UNLP	152
13. Facultad de Odontología. UNLP	1
14. Facultad de Veterinaria UNLP	6
15. FECLIBA	15
16. Federación de Bioquímicos de PBA*	35
17. FEMEBA	11
18. Freudiana	0
19. Hospital "Alejandro Korn" de Romero	8
20. Hospital "San Juan de Dios"	54
21. Hospital "San Roque" de Gonnet	68
22. Hospital de Niños "Sor Ludovico"	146
23. Hospital Italiano de La Plata	11
24. Hospital Sbarra (Ex Casa Cuna)	153
25. IMBICE	1
26. Instituto Cardiovascular.	0
27. INUS	0
28. IOMA	1
29. Laboratorio Central. Ministerio de Salud PBA*	4
30. Médica. COE (Oncológico)	28
31. Programa Materno Infantil. Minist Salud PBA*	0
32. Servicio de Toxicología. Hosp. de Niños	4
33. Sociedad Odontológica de La Plata	0
34. Otra:	0

* PBA= de la Provincia de Buenos Aires.

Estas cantidades son lógicas por el hecho de responder a los lugares de cursada de la carrera y de realización de las encuestas.

El 94% considera positivamente los servicios que se brindan en las bibliotecas.

Tabla 3: calidad del servicio bibliotecario

Apreciación	Cantidad de respuestas
Muy Bueno	66
Bueno	115
Regular	10
Malo	0

Algunas cátedras ofrecen clases teórico-prácticas sobre búsquedas bibliográficas y manejo de información ^(5,6,7).

Con el cambio curricular efectuado en 2004 se incorporó la Capacitación en Informática Médica durante todo el transcurso de la carrera ⁽⁸⁾, y los alumnos que ingresaron con esta modalidad actualmente se encuentran cursando el 1º y/o 2º año, razón por la cual no están incluidos en este estudio. Del total de 123 (64%) respuestas obtenidas, las principales actividades de capacitación que recibieron los alumnos fueron: charlas (88), cursos (12) y demostraciones (23), organizadas por Cátedras (7 casos) y Bibliotecas (4).

Tabla 4: cantidad de horas que duró la capacitación

Horas	Cantidad de respuestas
1	20
2	28
3	5
4	6
5	1
6	9
7	0
8	2
12	1

La carga horaria dedicada a la capacitación es significativa sólo en 11 respuestas (6 y 8 hs), ya que el mayor porcentaje (20 + 28 casos) recibió solamente 1-2 hs. Si bien se considera que en ese lapso se

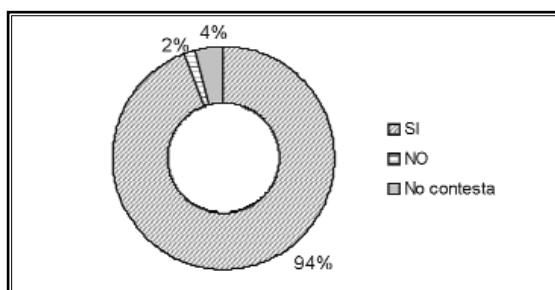
puede ofrecer información sobre las nuevas Tecnologías de la Información y la Comunicación (TICs) y los recursos que éstas permiten manejar, si esa capacitación no es puesta en práctica no logra transformarse la enseñanza en aprendizaje.

Tabla 5.

Actividades organizadas por: Cant. de respuestas

Cátedras	7
1. Enfermedades Infecciosas	63
2. Patología	18
3. Farmacología	12
4. Cirugía	11
5. Medicina Interna	3
6. Obstetricia	1
7. Pediatría	2
8. No específica	5
Bibliotecas	3
Hosp. San Juan de Dios	1
Hosp. Niños LP	3
Facultad de Medicina	2
No específica	1
Congresos	2
Cardiología	1
Estudiantes Medicina	1
Laboratorio	1
No específica	1

Gráfico 2: han realizado personalmente búsquedas en internet



Se especificó la ejecución "personal" de búsquedas, ya que en La Plata existen bibliotecas que ofrecen servicios de localización de información, que son realizadas por los bibliotecarios y no por los usuarios.

Casi la totalidad de los alumnos (181) ha realizado personalmente búsquedas en Internet, utilizando para ello mayoritariamente los siguientes recursos: las bases de datos Medline (158) y Lilacs (144); el buscador Google (125) y las Revistas científicas (103).

Tabla 6: recursos utilizados en las búsquedas

Recursos	Cant. de respuestas
1. Medline	158
2. Lilacs	144
3. Cochrane	11
4. Embase	1
5. Google	125
6. e-Medicine	41
7. Sociedades científicas	35
8. Revistas científicas	103
9. Yahoo	47
10. Biblioteca Virtual en Salud (BVS)	21
11. Otros *	10

* Otros: Escuela de Medicina de Sao Paulo, Fisterra, Intermedicin, Intramed, Biblioteca Fac. Med. UNLP, CD-rom, Medscape, CDC, no especifica.

Al analizar las respuestas consignadas en "Otros" se puede observar que se confunde "recurso de información" con "soporte" (cd-rom); que se emplean sitios especializados (Fisterra, Intermedicin, Intramed, medscape, e-medicine) y buscadores generales (Google, Yahoo).

Tabla 7: problemas que presenta Internet

Opciones	Cant. de respuestas
Mucha información recuperada poco específica	111
Poca información recuperada	26
Insume mucho tiempo	99
Insume muchos costos	83
Pocos hallazgos de revistas, posteriormente	30
Pocos artículos completos de acceso libre y gratuito	114
Otros	1
No contesta	1

Tabla 8: beneficios que brinda Internet

Opciones	Cant. de respuestas
Acceso a información remota, y de calidad	83
Capacitación permanente	75
Actualización	152
Conocer bibliotecas y centros de información	59
Otros*	2
No contesta	3

* Otros: uno no especifica y otro contesta: "intercambio de información con otros estudiantes".

Las dificultades que encuentran en esto son: el poco acceso libre y gratuito a textos completos y la recuperación de mucha información poco específica; y entre los aspectos positivos: el poder acceder a información remota, de calidad y actualizada.

Gráfico 3: conoce las Normas Vancouver

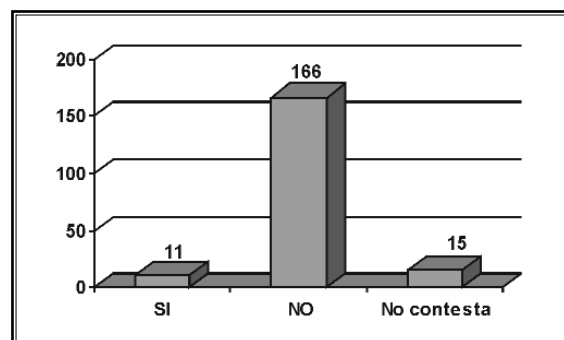
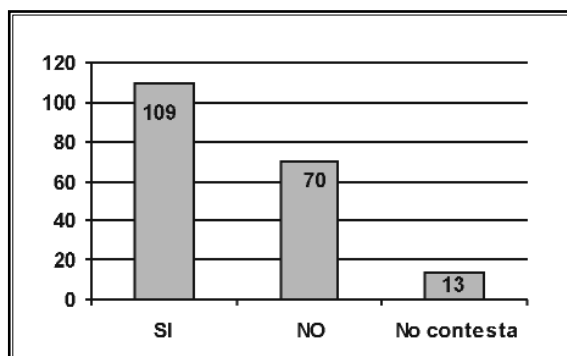


Tabla 9: las Normas Vancouver sirven para redacción de...

Manuscritos para enviar a revistas biomédicas	4
Resúmenes (solamente) para enviar a revistas biomédicas	1
Citas bibliográficas (solamente) para enviar a revistas biomédicas	7
No contesta	181

El 86% (las respuestas erróneas sumadas a la falta de respuesta, que se asumió como desconocimiento) no conoce el campo de aplicación de las Normas de Vancouver⁽⁹⁾ o Requisitos uniformes para la redacción y preparación de manuscritos enviados a Revistas Biomédicas.

Gráfico 4: ¿sabe elaborar trabajos científicos?



Casi la mitad (43%) no contesta o considera que no sabe confeccionar trabajos científicos.

Tabla 10: cómo influirá este conocimiento en su práctica médica

Apreciación	Cantidad de respuestas
Positivamente	179
Negativamente	1
No influirá	2
No contesta	9

A pesar de que casi la totalidad considera que el conocimiento sobre esta temática influirá positivamente en su futura práctica profesional, es preocupante que alumnos que están próximos a convertirse en profesionales desconozcan los lineamientos para la realización y presentación de trabajos científicos. Aunque con una incidencia baja, también es preocupante que el 7% considere que esta habilidad no repercutirá en el desempeño de su profesión.

Conclusiones

El resultado del proceso de enseñanza - aprendizaje depende en gran medida de la motivación y preparación previa que tuvieron los alumnos. El aumento de las demandas en las diferentes UI, está directamente relacionado con las obligaciones generadas desde las Cátedras que requieren la elaboración de actualizaciones, trabajos monográficos, charlas, etc. Por lo tanto la identificación de factores que se relacionan con el rendimiento académico es un tema a tener en cuenta en el proceso de mejora de calidad de la enseñanza universitaria.

Este tipo de metodología muestra una mayor disposición del alumno para integrarse en el área de la investigación, para seguir participando en el uso de las bibliotecas y herramientas informativas que redundarán en su formación y actualización. A pesar de ello los alumnos poseen pocos conocimientos sobre un número importante de bibliotecas (47% de ellas han tenido menos de 10 respuestas), que abarcan temáticas más específicas pero que por dicho motivo pueden ofrecer información más relevante.

Los usuarios muestran satisfacción por la calidad de los servicios bibliotecarios recibidos.

El 64% de los encuestados ha recibido capacitación sobre las TICs y los recursos de información biomédica, generada por las Cátedras en un alto porcentaje. Esto debería llevar a las bibliotecas a reflexionar sobre la necesidad de intensificar la propia labor docente, y a aprovechar los espacios y oportunidades que dispone cada una para fortalecer esta misión.

Se estima que la tendencia a utilizar la informática en todos los ámbitos (laboral, académico, doméstico) y los requerimientos pedagógicos, constituyen la base que ha dado como resultado que el 94% de los alumnos haya realizado "personalmente" búsquedas en Internet.

Al igual que en estudios similares ⁽¹⁰⁾, en este trabajo se demuestra que la población analizada va familiarizándose paulatinamente con las TICs aplicadas a su área de especialización.

Los recursos más utilizados son los de acceso libre y gratuito, incluyendo bases de datos, publicaciones médicas y buscadores generales. Se reconoce que existe información de calidad, pero acceder a ella insume altos costos y tiempo.

El introducir al estudiante en la investigación tiene como ventaja adquirir una mentalidad científica no sólo centrada en el conocimiento empírico, sino capacitada para la discusión diagnóstica y terapéutica.

Propuestas

Deben identificarse los factores que se relacionan con el rendimiento académico a fin de mejorar la calidad de la enseñanza universitaria.

Las bibliotecas deben intensificar la propia labor

docente y aprovechar los espacios y oportunidades que dispone cada una para fortalecer esta misión. El uso de bibliotecas y herramientas informativas redundarán en una mejor formación y actualización del alumno.

La incorporación de la Capacitación en Informática Médica durante toda la carrera posibilitará la formación permanente en las TICs, aunque los resultados se podrán evaluar quizás recién dentro de unos años, cuando los alumnos que ingresaron en el año 2004 con esta nueva modalidad hayan cursado algunos años y/o comiencen a egresar.

Se deberían difundir otras opciones para ampliar la gama de recursos y demandas, y que ésta no sólo se canalice a través de Medline, Lilacs, Google y las revistas científicas; de ese modo podría mejorarse la percepción que se tiene de las dificultades que ofrece la Gran Red. Se necesitarían más herramientas informáticas para optimizar la pertinencia de los resultados de las consultas.

El conocimiento de Normas favorecerá la localización de información así como la calidad de los documentos elaborados por los propios usuarios. Se deberían corregir las dificultades que se les presentan a los alumnos/futuros profesionales, para acceder a la información, observando el desarrollo de los mismos a través de su carrera (los docentes) y la evolución del ritmo y de las demandas (en las bibliotecas), con el fin de evaluar si las metodologías que se van implementando en la alfabetización tecnológica logran los objetivos educacionales propuestos.

Como objetivos constantes de la tarea docente dentro de las Unidades de Información podemos recomendar:

- Capacitar en la búsqueda de información para la asistencia, docencia e investigación.
- Posibilitar el acceso en las Unidades de Información a información de calidad.
- Brindar herramientas actualizadas que faciliten la educación permanente.
- Trabajar conjuntamente con docentes, tutores y ayudantes; frente a la investigación o realización de este tipo de trabajo con el alumno.

Bibliografía consultada

Bravo R. La gestión del conocimiento en Medicina: a la búsqueda de la información perdida. *Anales de Navarra*, 2002; 25 (3): 255-272. Fecha de acceso: 1/8/05.

Disponibile en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol25/n3/colab.html>

Bronander KA; Goodman PH, Inman TF, Veach TL. Boolean search experience and abilities of medical students and practicing physicians. *Teach Learn Med*. 2004;16 (3): 284-9.

de Armas González C; Otón Sánchez CA. Conocimientos y uso de la informática en alumnos matriculados en Introducción a la Informática Médica. *7º Congreso Nacional de Informática Médica, Pamplona, 24 y 25 de Septiembre de 1998*. Fecha de acceso: 29/7/05.

Disponibile en: <http://www.seis.es/informed98/comunic/003.htm>

Haux R. Recomendaciones de la Asociación Internacional de Informática Médica (IMIA) sobre Educación en Informática de la Salud. Fecha de acceso: 29/7/05.

Disponibile en: http://www.imia.org/wg1/rec_Spanish.pdf

Hersh WR, Crabtree MK, Hickam DH, Sacherek L, Rose L, Friedman CP. Factors associated with successful answering of clinical questions using an information retrieval system. *Bull Med Libr Assoc*. 2000; 88 (4): 323-31. Fecha de acceso: 17/5/05.

Disponibile en: <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=11055299>

KALUZSA K. Use of MEDLINE by medical students: results of a survey of the students of the Pritzker School of Medicine of the University of Chicago. *Bull. Med. Libr. Assoc*. 1985, 73 (3). Fecha de acceso: 1/8/05

Disponibile en: <http://www.pubmedcentral.gov/picrender.fcgi?artid=227647&blobtype=pdf>

Lawrence JC; Levy LS. Comparing the self-described searching knowledge of first-year medical and dental students before and after a MEDLINE class. *Med Ref Serv Q*. 2004; 23(1):73-81.

Muñoz Suez S Enfermería e Informática: Condenados a Entenderse. *Medwave*, 2003, 3(7). Fecha de acceso: 29/7/05.

Disponibile en: <http://www.medwave.cl/enfermeria/Ago2003/8.act>

ANEXO 1: Encuesta utilizada

Biblioteca Hospital Sbarra

Biblioteca Hospital de Niños de La Plata

Fecha: _____

Ud. es alumno de:

- Cirugía
- Infecciosas
- Obstetricia
- Pediatría
- Otra ¿Cuál? _____

Señalar qué bibliotecas de La Plata ha consultado:

- Bioética. COE (Oncológico)
- Cátedra de Histología y Embriología B. UNLP
- CENEXA
- Central de la UNLP (de Plaza Rocha)
- Central del Ministerio Salud de PBA (51 y 4)
- Centro de Documentación Médica de La Plata (Agremiación Médica - Sociedad Médica)
- CESALP
- Colegio de Médicos PBA. Distrito I
- Colegio Farmacéuticos de PBA*
- CUCAIBA
- Facultad de Ciencias Exactas. UNLP
- Facultad de Medicina. UNLP
- Facultad de Odontología. UNLP
- Facultad de Veterinaria UNLP
- FECLIBA
- Federación de Bioquímicos de PBA*
- FEMEBA
- Freudiana
- Hospital "Alejandro Korn" de Romero
- Hospital "San Juan de Dios"
- Hospital "San Roque" de Gonnet
- Hospital de Niños "Sor Ludovica"
- Hospital Italiano de La Plata
- Hospital Sbarra (Ex Casa Cuna)
- IMBICE
- Instituto Cardiovascular.
- INUS
- IOMA
- Laboratorio Central. Ministerio de Salud PBA*
- Médica. COE (Oncológico)
- Programa Materno Infantil. Minist Salud PBA*
- Servicio de Toxicología. Hosp. de Niños
- Sociedad Odontológica de La Plata
- Otra: (Cuál?) _____

* PBA: de la Provincia de Buenos Aires.

¿Cómo calificaría el servicio que prestan las bibliotecas médicas de La Plata? (en general)

Muy Bueno

Bueno

Regular

Malo

¿Ha participado, en alguna oportunidad, de... (tildar qué actividad)... sobre búsquedas bibliográficas?

- una charla/clase NO SI (Horas reloj estimadas: _____)

- un curso NO SI (Horas reloj estimadas: _____)

- una demostración NO SI (Horas reloj estimadas: _____)

- otra: (especificar): _____ (Horas reloj estimadas: _____)

Esta/s actividad/es sobre búsquedas bibliográficas la/s organizó:

una cátedra.

Cuál?: _____

una biblioteca

Cuál?: _____

un congreso científico.

Cuál?: _____

un Laboratorio Medicinal.

Cuál?: _____

Otro: _____

¿Ha realizado Ud. mismo búsquedas bibliográficas en Internet?

SI

NO

Si su respuesta es SI: **señalar utilizando qué recursos.**

Medline

Lilacs

Cochrane

Embase

Google

e-Medicine

Sociedades Científicas

Revistas científicas

Yahoo

Biblioteca Virtual en Salud (BVS)

Otros. Consignar cuáles: _____

Problemas que se le hayan presentado como consecuencia de las búsquedas en Internet:

mucha información recuperada poco específica

poca información recuperada

insume mucho tiempo

insume muchos costos

pocos hallazgos de revistas, posteriormente

pocos artículos completos en línea

Otros: _____

Señale aspectos positivos de las búsquedas en Internet:

Acceso a información remota, y de calidad

Capacitación permanente

Actualización

Conocer bibliotecas y centros de información.

Otros: _____

¿Conoce las normas de Vancouver? SI NO ... que sirven para redacción de:

- manuscritos para enviar a revistas biomédicas
- resúmenes (solamente) para enviar a revistas biomédicas
- citas bibliográficas (solamente) para enviar a revistas biomédicas

¿Sabe cómo se realiza un trabajo científico?

SI NO

Considera que este conocimiento (sobre bibliotecas, búsquedas, redacción de trabajos...) influirá en su práctica profesional...

Positivamente Negativamente No influirá

Bibliografía citada

- 1.- Sistema de Información Cooperativo en Ciencias de la Salud (SICCS). Catálogo colectivo de publicaciones periódicas. 3ª ed. La Plata: Centro de Documentación Médica de La Plata, 1998.
- 2.- Hospital Zonal Especializado "Dr. Noel H. Sbarra". Biblioteca. Fecha de acceso: 25/6/05. Disponible en: <http://www.hospitalsbarra.com.ar/paginas/academica.htm>
- 3.- Hospital de Niños "Sor María Ludovica". Biblioteca. Fecha de acceso: 25/6/05. Disponible en: <http://www.ludovica.org.ar>
- 4.- Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Médicas. Fecha de acceso: 27/7/05. Disponible en: <http://www.med.unlp.edu.ar/>
- 5.- Cusminsky M; Galli A. Docencia en Pediatría: el ciclo de pregrado. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 1998, 96 (4): 242-250. Fecha de acceso: 22/3/05. Disponible en: http://www.sap.org.ar/archivos/1998/arch98_4/98_242_250.pdf
- 6.- Dreizzen E; Rancich AM; Spinelli OM; Raimondi JC. Enseñanza de Medline en la carrera de Medicina. *LatinMednet 1º Congreso Latinoamericano de Internet en Medicina, 1º Simposio de E-pharma, Buenos Aires: 5-7 diciembre 2002*. Fecha de acceso: 12/12/05. Disponible en: <http://www.latinmednet.com.ar/Trabajos/B3.pdf>
- 7.- Otero P; González MdV; Garrote V; Schpillberg M; Luna D; González Bernardo de Quirós F. ¿Cuál es el momento oportuno para la capacitación en informática médica, el pre-grado o la residencia? *LatinMednet 1º Congreso Latinoamericano de Internet en Medicina, 1º Simposio de E-pharma, Buenos Aires: 5-7 diciembre 2002*. Fecha de acceso: 12/12/04. Disponible en: <http://www.latinmednet.com.ar/Trabajos/C12.pdf>
- 8.- Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Médicas. Plan de estudios 2004 (vigente). Fecha de acceso: 27/7/05. Disponible en: http://www.med.unlp.edu.ar/medicina/plan_med.html
- 9.- International Commmitte of Medical Journal Editors (ICMJE). Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication. Updated October 2004. Fecha de acceso: 20/06/05. Disponible en: <http://www.icmje.org/index.html#top>
- 10.- Melamud A; Marcos A; Puiggari J; Otero P. Análisis descriptivo del manejo de herramientas informáticas y búsqueda de información por residentes del Hospital "Pedro de Elizalde". *LatinMednet 1º Congreso Latinoamericano de Internet en Medicina, 1º Simposio de E-pharma, Buenos Aires: 5-7 diciembre 2002*. Fecha de Acceso: 12/12/04. Disponible en: <http://www.latinmednet.com.ar/Trabajos/C13.pdf> ♦



Marta Jones

*¹⁾Sala de Neuropatología.
Servicio de Patología.
Hospital Sor María Ludovica.
La Plata.*

✉ Marcelinjonas@aol.com

Respuesta a la lesión disruptiva en el sistema nervioso central en desarrollo
Parte I: Dimensión témporo-espacial y vulnerabilidad neural¹

Resumen

El sistema nervioso central (SNC) cumple su maduración con características que le son particulares: un proceso general de desarrollo, pautado y acorde a un plan establecido genéticamente, el cual sucede durante la gestación y aún después de ella; y un aspecto topográfico, en el cual cada sector anatómico lleva a cabo ese plan general de desarrollo con un ritmo propio y en un tiempo particular, cambiando la morfología semana a semana. Por lo tanto, a la complejidad estructural que acarrea el plan en sí mismo, se agrega aquella derivada de su desigual y característica maduración topográfica.

A través del tiempo y apuntando a establecer límites cronológicos para un diagnóstico de situación, los neuropatólogos han tratado de fijar parámetros estrictos de desarrollo del SNC. Se estableció así la relación entre malformaciones y edad embrionaria y fetal. También la relación entre enfermedad del SNC y edad gestacional fue detectada desde las primeras descripciones en la lesión por hipoxia-isquemia en el recién nacido pretérmino, aun cuando no se estudió en detalle su causalidad hasta bastante tiempo después. De este modo, el trípole lesión-tiempo-topografía asoma en forma de desafío actual que, si bien no es innovador, resurgió en los últimos años como un factor importante en el diagnóstico de situación, a la vez que se modificó en su concepto al agregar revolucionarios descubrimientos en el campo molecular. En este artículo se relatan brevemente algunos antecedentes de estos fenómenos y se citan las opiniones y aportes de autores relevantes en el tema. También se alerta sobre las dificultades que surgen en la interpretación de las imágenes patológicas como consecuencia inevitable del complejo desarrollo epigenético del SNC. Finalmente, y como elemento original, se plantea el "timing molecular" como un concepto que, si bien existe publicado en su esencia en forma dispersa a partir de los descubrimientos que son mencionados, es novedoso en sí mismo por su terminología y la integración de su concepción.

¹ No existe una palabra en español para "timing", por lo cual en el siguiente texto los términos "timing" y "cronología" serán usados indistintamente con el significado de un orden en relación con el tiempo.

Palabras clave: encefalopatía neonatal - lesión prenatal - cronología - timing molecular - vulnerabilidad neural - hipoxia-isquemia.

Response to disruptive lesions in the developing central nervous system. Part I: Temporal-spatial dimension and neural vulnerability.

Abstract

The central nervous system (CNS) completes its maturation with characteristics that are peculiar to it: a general process of development regulated according to an established genetic prescription that proceeds throughout gestation, and even thereafter, plus a topographical feature in which each anatomic sector executes its portion of that general developmental pattern with its own rhythm and timing, changing in morphology from one week to the next. We thus see that to the structural complexity inherent in the genetic program itself is added on the accompanying feature of the CNS's asymmetrical and characteristically topographical maturation. Over the course of time - and always aiming at establishing time limits for case diagnosis - neuropathologists have tried to delineate strict developmental parameters for the CNS. The relationship between specific malformations and embryonic or fetal age was established. The association of CNS diseases with precise gestational ages was first documented in the early descriptions of the hypoxia-ischemia lesion in preterm neonates, even though the details of the etiology were not elucidated until a much later time. Thus, the tryptic of lesion-time-topography looms up as a present-day challenge that, though hardly novel, has reemerged in these recent years as an important element in case diagnosis, while at the same time becoming modified upon incorporation of the revolutionary discoveries within the field of molecular biology. This article briefly summarizes certain precursors of these phenomena and cites the opinions and contribu-

tions of the relevant authors within the subject. Moreover, as an inevitable consequence of the complexity of neural epigenetic development, this treatment also underscores the difficulties associated with the interpretation of pathological images. Finally, and as an innovative notion, the term "molecular timing" is proposed. Although in its essence the concept is found dispersed throughout the publications dealing with molecular discoveries, it is nevertheless novel because of its terminology and the conceptual integration that its fundamental meaning achieves.

Key words: neonatal encephalopathy - prenatal injury - chronology - molecular timing - neural vulnerability - hypoxia-ischemia.

Una aproximación al tiempo neural

Categorizar las enfermedades del SNC inmaduro², y asignar su etiología a un determinado lapso ha sido una preocupación constante por parte de los neuropatólogos pediátricos. Algunos de ellos han realizado el esfuerzo de encontrar un indicio temporal, una especie de pista cronológica anatómica, histológica y clínica que fuera de utilidad para datar las lesiones del parénquima nervioso ocurridas, presuntamente, en los períodos pre y perinatal⁽¹⁻⁸⁾. La pretensión de definir una lesión enmarcándola en un cuadro etario de relativa exactitud, parecería constituir una utopía más dentro de muchas que suelen hallarse en el campo de las ciencias biológicas. Sin embargo, el factor temporal define aspectos básicos del diagnóstico neuropatológico y acarrea insoslayables connotaciones clínicas y de orden médico-legal. La misma frase que define el tiempo como "aquello que evita que todo suceda simultáneamente" y se fusione en una masa invariable de formas y fenómenos, nos alerta de que su existencia permite, como contrapartida, adjetivar y caracterizar precisamente en función de ese tiempo los eventos y modificaciones que ocurren, por ejemplo, durante la génesis del SNC. Y como

² La maduración del SNC continúa meses a años después del nacimiento, y éste en sí mismo no determina un hito importante en el desarrollo normal de aquél. Por lo tanto, cuando hablamos de SNC inmaduro debemos tener presente que el estado de inmadurez, tanto morfológica como funcional, continúa bastante más allá de las 38 semanas de edad gestacional.

su desarrollo es dinámico y progresa cambiando la morfología semana a semana, resulta que esa cualidad que otorga complejidad estructural y dificultad diagnóstica facilita, a su vez, establecer mojonos que servirán como referentes cronológicos. Al respecto dice Rorke: "Whereas the majority of general pathologists agree that diagnosis of central nervous system disease is difficult and best left to an expert neuropathologist, they, in turn, often regard brain and spinal cord lesions of infants a terra incognita. Neuropathologists primarily concerned with diagnostic problems of older children and adults at least deal with anatomical features that are basically fixed, such that morphological deviations may confidently be attributed to one or another disease process. The pediatric neuropathologist is not so fortunate. The infant nervous system, in particular the brain, manifests changing gross and microscopic features from one week to the next during gestation, and accurate diagnosis of lesions from the stage of viability at roughly 22 to 24 weeks' gestation to term and beyond, requires familiarity with normal morphogenesis at each stage. For this reason, some 'lesions' may not necessarily be classically malformative, e.g., pachygyria, destructive or inflammatory, but may result from a lag in developmental milestones, the most obvious being retardation in myelination." ⁽⁹⁾.

En la descripción de los diferentes patrones topográficos visualizables en la pérdida neuronal postnatal, Friede ⁽¹⁰⁾ ya había hecho hincapié en la variación que depende de la edad y en el episodio que significa el nacimiento en sí mismo, así como en la dificultad que la variación madurativa y regional del cerebro infantil imprime en la interpretación de la expresión morfológica.

El factor etario es una de las variables obligadas en la patogenia de las lesiones prenatales y perinatales en el SNC, cuyos diferentes cuadros han sido sujetos al factor temporal tan tempranamente como en los primeros relatos de cada entidad. Los antecedentes de este mecanismo asociativo (edad + to-

pografía) están en especial referidos a lesiones tardías casi siempre post-natales, tales como la leucoencefalomalacia periventricular (LEM) y la hemorragia de la matriz germinal (HPIV)³, las cuales se han descrito afectando primariamente al recién nacido pretérmino; en ellos la edad gestacional juega un rol determinante. Gunn y col. reflexionan sobre lo sorprendente que resulta el escaso esfuerzo realizado para explorar los efectos de la maduración sobre la sensibilidad a las injurias ⁽¹¹⁾. Los trabajos publicados recientemente en relación con la vulnerabilidad de los diferentes componentes del neuroepitelio a las injurias pre y perinatales contrastan holgadamente esa pasada situación ⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Con respecto a las lesiones disruptivas que ocurren dentro del útero, ya sea en los primeros meses o bien hacia la mitad o fines de la gestación, tales como la hidranencefalia, el síndrome de transfusión feto-fetal, la porencefalia y la esquizefalia, comparten idénticos comentarios en relación a la aparición de los diferentes modelos. Ellos están, en efecto, ligados al cumplimiento de las sucesivas etapas del desarrollo del SNC hecho que, como ya ha sido mencionado, no se presenta simultáneamente en todos los niveles anatómicos del mismo.

Otra visión más refinada del tema muestra que la vulnerabilidad tisular regional aparece relacionada con la distribución específica de ciertos receptores (por ejemplo, glutamato), lo cual también es función de la maduración del SNC. A lo que fue considerado hace décadas un especial estado de sensibilidad (denominado vulnerabilidad selectiva) debido a factores anatómicos, vasculares y metabólicos, se han agregado mecanismos moleculares relacionados con la neurotransmisión, más específicamente con los cambios madurativos en la función de los correspondientes receptores.

Ciertas dificultades se transforman en restricciones ciertas

Si bien la dependencia del factor temporal es un

³ En 1903, Couvelaire reconoce la relación de la prematuridad con las hemorragias, y Schwartz y Fink en 1925 son los primeros en presentar una serie de 100 casos estudiados sistemáticamente; por su parte, Parrot en 1873 describe exhaustivamente las lesiones necróticas de la sustancia blanca (Friede RL. Developmental Neuropathology. New York/Viena: Springer-Verlag; 1975. p.24-45). Sin embargo, son Banker y Larroche (Banker B. Larroche JC. Periventricular leukomalacia of infancy (a form of neonatal anoxic encephalopathy) Arch Neurol. 1962; 7:386-410) quienes establecen por primera vez una correlación clínico-patológica en ese tipo de lesión.

andador del cual disponen los neuropatólogos para poder definir el momento de lesión, existen ciertas restricciones así como también dificultades concretas.

El SNC cambia su morfología semana a semana durante el tiempo que dura la gestación. Es preciso, por lo tanto, familiarizarse con los detalles morfológicos que se presentan como cambios anatómicos e histológicos normales durante el desarrollo del SNC. Este conocimiento es de suma utilidad a la hora de abordar la interpretación de las diversas formas de lesión.

Las formas de lesión son diferentes dependiendo del grado de madurez alcanzado. Así, el SNC inmaduro reacciona de manera particular a la injuria, ya sea en forma de necrosis celular, apoptosis, necrosis tisular, y/o alteración de la morfogénesis (interrupción, retardo y/o cambios en el desarrollo del SNC). Cuanto más precoz es el evento mayor es la posibilidad de que elementos en diferenciación (neuronales, gliales, endoteliales) sean lesionados, con la consecuente pérdida de los contingentes que migrarán para formar las estructuras grises definitivas. Cuando la necrosis tisular ocurre antes del período de terminación en la formación del órgano, el defecto estructural resultante puede ser difícil de distinguir de una malformación⁽¹⁵⁾ (tanto más cuanto más precoz es el insulto) y de hecho ha sido considerado como tal, por ejemplo en la esquizecefalia. Sin embargo, una anomalía que macroscópicamente puede aparecer como una malformación congénita, puede ser mostrada histológicamente como correspondiente a la secuela de un proceso destructivo durante la vida intrauterina (disrupción). La correcta ubicación del proceso dentro de las malformaciones o bien de las disrupciones depende de definir concretamente cada uno de esos términos. El primero, como la "alteración morfológica que resulta de un desarrollo intrínsecamente anormal"; y el segundo, como la "alteración morfológica que resulta de una destrucción o interferencia extrínseca en la formación de

una parte hasta ese momento bien formada"⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. La interrupción o retardo de la maduración, y la alteración de la migración con defecto de la laminación son fenómenos ya descriptos en relación con la hipoxia⁽¹⁸⁻²⁵⁾ y con algunas infecciones congénitas⁽²⁶⁾. Se sabe que la asfixia neonatal tiene un efecto adverso en la proliferación neural^(27, 28). También se han demostrado peculiares diferencias en la arborización dendrítica y el desarrollo sináptico en la corteza cerebral en niños pretérmino con curso neonatal complicado en relación con niños pretérmino con evolución postnatal sin complicaciones⁽²⁹⁾. La interpretación de los defectos del desarrollo del SNC puede complicarse aún más cuando sobre un proceso malformativo intrínseco se instala un proceso de tipo disruptivo⁽²²⁾; y si la alteración ocurre tan tempranamente como el primer mes de vida intrauterina, la distinción puede no ser tan fácil, con el riesgo de considerar como errores localizados de la morfogénesis lo que en realidad es la alteración de una parte que hasta ese momento se desarrollaba normalmente. Lo mismo cabría considerar en la ausencia de un órgano por mecanismo vascular; si esta hipótesis es correcta, debería llamarse también disrupción⁽²⁴⁾. Es posible que muchos de los errores tempranos en el desarrollo de diversos órganos, excluidos los mecanismos genéticos, obedezcan a trastornos vasculares y/o episodios de hipoxia-isquemia, a agentes infecciosos, particularmente virales, o bien a efectos de tóxicos, drogas o medicamentos. A la hora del consejo genético la distinción entre una malformación propiamente dicha y una disrupción es de gran importancia. En el tejido nervioso una disrupción debe ser entendida como un proceso dinámico. El caso del SNC es único en el hecho de que su desarrollo continúa activamente en la segunda mitad de la gestación y también después del nacimiento. El término disrupción que aplicamos con cierta rapidez a una estenosis de origen vascular en un órgano que ha alcanzado con pocas variantes su estructura definitiva en etapas todavía tempranas del desarrollo,

adquiere significado diferente cuando lo aplicamos a un sistema sofisticado, complejo y en continuo cambio como es el SNC. Algunas consideraciones dan la medida de estos conceptos. Por ejemplo, la posibilidad de que se lesione la proliferación celular y la diferenciación neuronal de la corteza remanente y se detenga parcialmente el desarrollo ulterior del SNC, introduce un aspecto dinámico a las disrupciones que hace que estas se perpetúen aún bastante después del momento de acción de la injuria ⁽²⁶⁾. Por efecto del desarrollo en cascada propio del tejido nervioso, una injuria precoz puede manifestarse indirectamente en procesos formativos que son, a veces, muy posteriores al momento de la injuria. Es una particular característica de la maduración del SNC el responder a los insultos a través de una cadena de eventos bioquímicos, histológicos y finalmente anatómicos que, deslizados en el tiempo, pueden continuar después que el insulto cesó. De ese modo, defectos migracionales tempranos repercutirán en la neuritogénesis, sinaptogénesis y aún en la mielinización pre y post-natal.

En las lesiones ocurridas cerca del fin de la gestación los parámetros cambian. Cuanto más desarrollado está el SNC, más difícil es deducir la cronología de una lesión que aparece tardíamente. Además está el fenómeno de la cronicidad de la lesión en sí misma. Cautelosamente dice Rorke: "Las lesiones crónicas y bien establecidas pueden estar presentes desde el nacimiento, y su aspecto básico no cambiar independientemente de cuánto viva el individuo. Si el niño sobrevive meses o años, el origen prenatal puede no ser aparente con el sólo estudio morfológico. Más aún, la evaluación anatomopatológica está frecuentemente complicada por repetidos episodios hipóxico-isquémicos u otro tipo de injuria al SNC, como por ejemplo meningitis. Una primera lesión no confiere inmunidad para un segundo o tercer episodio, o aún múltiples episodios de destrucción tisular. Es concebible, por lo tanto, que en un mismo espécimen puedan encontrarse lesiones de diferente antigüedad" ^(4, 18).

En conclusión, se han esbozado una serie de problemas metodológicos y de interpretación que pueden surgir durante el examen de necropsia del SNC en desarrollo. Pese a las dificultades existentes, se debe intentar la aproximación a una definición cronológica (relativamente inexacta) del momento en que ocurrieron la injuria y la exteriorización de la lesión, fenómenos ambos que tratándose del SNC, como ha sido explicado, suelen no suceder con simultaneidad.

Como regla, ante la evidencia de daño estructural del SNC en la infancia, todo examen histológico debe intentar establecer el diagnóstico de lesión relacionándolo con su temporalidad.

Las moléculas son cerraduras en las ventanas de vulnerabilidad

No es que el concepto clásico de timing sea novedoso. Con una gran claridad, y basado en el desarrollo de Lemire y col. ⁽¹⁵⁾, ha sido originalmente empleado por Volpe ⁽²⁹⁻³²⁾ como marco para la clasificación de las malformaciones del SNC, incluyendo tangencialmente a las disrupciones. Más aún, se ha mencionado repetidas veces que la impronta en las malformaciones no la deja el agente, sino el momento (timing) en que ocurrió la injuria. Este concepto y este tipo de ordenamiento, sin embargo, no habían sido usados para la elaboración de una clasificación que contuviera en especial a las disrupciones. La primera en hacerlo organizadamente, abarcando en un concepto holístico a las alteraciones del desarrollo (disruptivas y no disruptivas, pero con particular relevancia para las primeras), fue Squier en la publicación de su libro "Acquired Damage to the Developing Brain. Timing and causation" ⁽⁸⁾.

El aspecto que hemos descrito hasta aquí define las posibilidades de situar una lesión en el período en que ocurrió y/o se exteriorizó, incluso desde sus aspectos celulares⁴. Subyacentes, existen los mecanismos moleculares entroncados en la descripción

⁴ La cronología celular del daño neural puede hallarse en numerosas publicaciones. Una muy detallada y particularmente gráfica es la puntualizada por JW Keeling ⁽³³⁾.

anterior. ¿Es que existe un timing molecular? La respuesta es que el timing obedece a un proceso íntimo de orden molecular; las ventanas de vulnerabilidad no son otra cosa que los momentos moleculares aptos para acceder a la lesión. Aún en los episodios que tienen una base genética, la injuria se expresa en el momento molecular que es apto para ello. Vale decir, en su ventana de vulnerabilidad. En relación con estos conceptos, es necesario hacer una distinción entre el tiempo en que sucede la lesión, y aquel tiempo exclusivo en el que le es posible expresarse y manifestar sus consecuencias como tales, fenómenos que en el SNC no siempre coinciden. La tan mencionada vulnerabilidad celular lo es a la muerte neuronal y glial por excitotoxicidad y por injuria oxidativa, precisamente en esas células que poseen aquellas enzimas y receptores que permiten que se desencadene el proceso de excitotoxicidad y la reacción a las sustancias oxidativas. Sin receptores y sin enzimas, no hay cualidad existente para la respuesta celular a los estímulos que desencadenan la tormenta molecular. Estas propiedades no existen sin la presencia de la maduración gestada por el transcurso del tiempo.

Intentando realizar un cronograma de este planteo en base a la topografía de las lesiones, podemos ejemplificar la sucesión de eventos comenzando en las 18 SEG, período en el cual y hasta la finalización de la gestación, el estado enzimático del SNC favorecerá la generación de peróxido sobre la degradación del mismo, propendiendo a que la sustancia blanca atraviese un lapso de vulnerabilidad a la toxicidad por radicales libres ⁽¹²⁾. Posteriormente, con la maduración de los elementos oligodendrogliales entre los 2 y 5 meses de vida post-natal, el nivel de enzimas antioxidantes se elevará y aumentará la resistencia a la acción deletérea de los radicales libres, a la vez que comenzará la expresión citoplásmica de proteína básica de mielina. Este concepto de sensibilidad embriológica decreciente respecto de las sustancias oxigenadas está basado en el incremento gra-

dual de la actividad de enzimas tales como catalasa y glutatión-peroxidasa ⁽³⁴⁾, el cual cerrará progresivamente la ventana de vulnerabilidad, disminuyendo correlativamente la posibilidad de existencia de una lesión de la sustancia blanca de tipo LEM. No sólo las células oligodendrogliales, sino también los axones de la sustancia blanca cerebral muestran un ritmo de maduración durante el período crítico de crecimiento, que es coincidente con el de la LEM, sugiriendo la susceptibilidad a este tipo de agresión ⁽³⁵⁾.

El concepto de lesión por excitotoxicidad elaborado por Olney ⁽³⁶⁾ rescata al glutamato, el principal neurotransmisor cerebral, como protagonista de un tipo de lesión basado en un fenómeno de corte temporal. Las sinapsis excitatorias forman parte de un plan embriológico destinado a favorecer el desarrollo neural a través de la plasticidad, y son puestas en marcha desde la misma actividad eléctrica cerebral. Este plan embriológico se desenvuelve a lo largo del tiempo en forma cambiante, adecuándose la cantidad, calidad y actividad de receptores de glutamato a las necesidades formativas de cada distrito neural en las diferentes etapas de gestación ⁽³⁷⁻³⁹⁾. Sin embargo, enfrentado a una injuria de magnitud considerable, la cantidad existente de receptores y su madurez (los receptores inmaduros se abren más fácilmente permitiendo el flujo de calcio), el grado de actividad de los receptores y sus características moleculares, y no tanto el glutamato en sí mismo, determinarán la toxicidad final y, en definitiva, el tipo y grado de lesión cerebral ⁽⁴⁰⁾. Aunque el mecanismo descrito es común a todo el parénquima en desarrollo, el resultado está sujeto a las diversas situaciones anatómo-clínicas relacionadas con la topografía y con el período gestacional, cuya base molecular es la que acabamos de mencionar. Por ejemplo, Honig y col. usaron marcadores moleculares para mostrar que el desarrollo cortical cerebral presentaba un patrón espacial y temporal en relación con las mencionadas moléculas ⁽⁴¹⁾; y Furuta y Martin

demonstraron experimentalmente la presencia de receptores de glutamato durante la corticogénesis hacia la mitad de la gestación, con localizaciones diferentes y cambiantes en la zona marginal, la placa cortical y la subplaca ⁽⁴²⁾. En humanos, la lesión temprana de las neuronas en la subplaca cortical cerebral (las primeras neuronas en migrar), determinará alteraciones en la inervación tálamo-cortical, o bien alteración de la maduración sináptica de los mismos circuitos tálamo-corticales si la injuria es más tardía ^(43,44); aunque con un mecanismo hipotético relacionado con apoptosis y receptores de neurotransmisión ^(42,45,46), vemos que el momento de muerte neuronal en la subplaca (generalmente entre las 20 y 35 SEG) determina diferentes consecuencias clínicas y morfológicas de acuerdo al tiempo de gestación. Los oligodendrocitos inmaduros expresan receptores de glutamato de tipo AMPA-KA en un período de tiempo que se corresponde con el lapso fetal en el cual la sustancia blanca es sensible a la lesión por hipoxia-isquemia y/o infección (LEM) ⁽⁴⁰⁾; del mismo modo, el nivel de receptores AMPA-KA está elevado en sectores del tronco cerebral hacia la mitad de la gestación disminuyendo después del nacimiento, lo cual puede ser relevante en la patogenia de la necrosis pontosubicular ⁽³⁸⁾, mientras que el episodio breve de asfixia total compromete en especial a las estructuras subcorticales en el niño a término el cual presenta, en estos sitios, un predominio de receptores de glutamato de tipo NMDA ⁽⁴⁷⁾. Resulta evidente que el patrón de neurotransmisión -en esas localizaciones anatómicas y en esos períodos determinados de tiempo- aun cuando no es el único mecanismo, es un factor determinante y bastante selectivo de vulnerabilidad.

La edad gestacional juega un rol indudable en la aparición de HPIV en el niño pretérmino. Si bien existen condiciones vasculares y anatómicas relacionados con la inmadurez, la actividad enzimática de la trombina y la plasmina entre otras proteínas existentes en el cerebro fetal como estructuras ne-

cesarias para la migración celular, determinan una evolución deletérea no presente en etapas más avanzadas del desarrollo cerebral ⁽⁴⁸⁾. La producción de trombina y sus receptores por parte de neuronas y glia tiene funciones embriológicas y, por lo tanto, connotaciones netamente temporales.

La intervención de factores genéticos es ostensible en raros casos de HPIV causados por alteración de la coagulación de tipo hereditario ⁽⁴⁹⁾, y en algunos casos de esquizencefalia familiar ⁽⁵⁰⁾. La presencia de malformaciones familiares atribuidas a anomalías vasculares es una triple frontera entre lo genético-familiar, lo disruptivo y lo malformativo, en la cual la vasculopatía malformativa determinada genéticamente está presente en varios miembros de la familia, y produce como eslabón final la alteración disruptiva de diversos órganos, entre ellos el SNC ⁽⁵¹⁻⁵³⁾.

En la LEM en particular, las alteraciones genéticas constituyen factores de riesgo cuya patogenia recién está comenzando a explorarse ⁽⁵⁴⁾.

Resumiendo, son las características anatómicas y fisiopatológicas inherentes a cada período gestacional lo que permite caracterizar bioquímica, y luego morfológicamente, la respuesta del SNC a determinada lesión. Asimismo, en muchas ocasiones la respuesta del SNC no es sino la manifestación del uso inapropiado y exagerado de un mecanismo en principio normal, que se desvía ante la presencia del estímulo anormal.

Referencias bibliográficas

1. Jones M, Drut R. *Lesiones atribuibles a hipoxia en etapas precoces del desarrollo del sistema nervioso central*. Patología. 1988; 26: 93-98.
2. Ellis WG, Goetzman BW, Lindenberg JA. *Neuropathologic documentation of prenatal brain damage*. AJDC. 1988; 142 : 858-866.
3. Low JA, Robertson DM, Simpson LL. *Temporal relationships of neuropathologic conditions caused by perinatal asphyxia*. Am J Obstet Gynecol. 1989; 160: 608-614.

4. Rorke LB, Zimmerman RA. *Prematurity, postmaturity, and destructive lesions in utero*. AJNR. 1992; 13:517-538.
5. Cohen M, Roessmann U. *In utero brain damage: relationship of gestational age to pathological consequences*. Dev Med Child Neurol, 1994; 36: 263-270.
6. Jones M. *Neuropatología: Posibilidades de definición temporal de una lesión*. En: Urman J, Sebastiani M, eds. Del sufrimiento fetal al daño cerebral. Mitos y realidades. Bs.As.: Científica Americana; 1995, p. 278.
7. Murphy DJ, Squier MV, Hope PL, Sellers S, Johnson A. *Clinical associations and time of onset of cerebral white matter damage in very preterm babies*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 1996; 75:F27-32.
8. Squier W. *Pathology of fetal and neonatal brain damage: identifying the timing*. En: Squier W, ed. *Acquired damage to the developing brain. Timing and causation*. London, New York: Arnold; 2002, p.101-127.
9. Rorke LB. *Anatomical features of the developing brain implicated in pathogenesis of hypoxic-ischemic injury*. Brain Pathol. 1992; 2:211-221.
10. Friede RL. *Developmental Neuropathology*. Nueva York /Viena: Springer-Verlag; 1975, pp. 85-86.
11. Gunn AJ, Gluckman PD, Bennet L. *Asphyxia and the developing brain*. En: Squier W, ed. *Acquired damage to the developing brain. Timing and causation*. London, New York: Arnold; 2002, p.61.
12. Folkerth RD, Haynes RL, Borenstein NS et al. *Developmental lag in superoxide dismutases relative to other antioxidant enzymes in premyelinated human telencephalic white matter*. J Neuropathol Exp Neurol. 2004; 63:990-9.
13. Folkerth RD, Keefe RJ, Haynes RL, Trachtenberg FL, Volpe JJ, Kinney HC. *Interferon-gamma expression in periventricular leukomalacia in the human brain*. Brain Pathol. 2004; 14:265-74.
14. Rozyczka J, Figiel M, Engele J. *Endothelins negatively regulate glial glutamate transporter expression*. Brain Pathol. 2004; 14:406-414.
15. Lemire RJ, Loeser JD, Leech RW, Alvord S. Jr. *Normal and abnormal development of the human nervous system*. Hagerstown, Maryland, New York: Harper & Row; 1975, p. 54-247.
16. Smith DW. *Recognizable patterns of human malformation*. Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders Co. 1982, p 2-4.
17. Spranger J, Benirschke K, Hall JG et al. *Errors of Morphogenesis: concepts and terms*. J Pediatrics 1982; 100: 160-165.
18. Rorke LB. *Pathology of perinatal brain injury*. New York: Raven Press; 1982, p.45-100.
19. Borit A, Herndon RM. *The fine structure of plaques fibromyéliniques in ulegyria and in status marmoratus*. Acta Neuropathol. 1970; 14: 304-311.
20. Norman MG. *Bilateral encephaloclastic lesion in a 26 week gestation fetus: effect on neuroblastic migration*. J Canad des Sciences Neurol. 1980; 7: 191-194.
21. Stewart RN, Williams RS, Lukl P, Schoenen J. *Ventral porencephaly: a cerebral defect associated with multiple congenital anomalies*. Acta Neuropathol. 1987; 42: 231-235.
22. Choi BH, Ruess WR, Kim RC. *Disturbances in neuronal migration and laminar cortical organization associated with multicystic encephalopathy in the Pena-Shokeir syndrome*. Acta Neuropathol 1986; 69:177-183.
23. Hughes HE, Miskin M. *Congenital microcephaly due to vascular disruption: in utero documentation*. Pediatrics. 1986; 78: 85-87.
24. Gosseye S, Golaire MC, Larroche JC. *Cerebral, renal and splenic lesions due to fetal anoxia and their relationship to malformations*. Dev Med Child Neurol. 1982; 24: 510-518.
25. Goodlin RC, Heidrick WP, Papenfuss HL, Kubitz RL. *Fetal malformations associated with maternal hypoxia*. Amer J Obstet Gynecol 1984; 149:228-229.
26. Norman MG, Mc Gillivray BC, Kalousek DK, Hill A, Poskitt KJ. *Congenital Malformations of the Brain*. New York, Oxford: Oxford University Press; 1995, p 406-408.
27. Yoshioka H, Mino M, Morikaswa Y, Kasubuchi Y, Kusunoki T. *Changes in cell proliferation kinetics in the mouse cerebellum after total asphyxia*. Pediatrics. 1985; 76: 965-969.
28. Yu MC, Yu WH. *Effect of hypoxia on cerebellar development: morphologic and radioautographic studies*. Exp Neurol 1980; 70: 652-664.
29. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn*. Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders Co. 1981, p. 3-298.

30. Volpe JJ. *Normal and abnormal human brain development*. En: Volpe JJ, guest ed. *Clinics in Perinatology. Symposium on Neonatal Neurology*. Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders. 1977; 4: (1) 3-30.
31. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn 2nd ed*. Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders Co. 1987, p. 2-68.
32. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn 3rd ed*. Philadelphia, London, Toronto: WB Saunders Co. 1995, p. 3-92.
33. Keeling JW. *Fetal and Neonatal Pathology 2nd ed*. Berlin: Springer Verlag. 1993.
34. Haynes RL, Baud O, Li J, Kinney HC, Volpe JJ, Folkerth RD. *Oxidative and nitrative injury in periventricular leukomalacia: a review*. Brain Pathol 2005; 15:225-233.
35. Haynes RL, Borenstein NS, Desilva TM et al. *Axonal development in the cerebral white matter of the human fetus and infant*. J Comp Neurol 2005; 484:156-67.
36. Olney JW. *Excitotoxic food additives-relevance of animal studies to human safety*. Neurobehav Toxicol Teratol 1984; 6: 455-462.
37. Cohen-Cory S. *The developing synapse: construction and modulation of synaptic structures and circuits*. Science 2002; 298: 770-6.
38. Panigrahy A, Rosenberg PA, Assmann S, Foley EC, Kinney HC. *Differential expression of glutamate receptor subtypes in human brain stem sites involved in perinatal hypoxia-ischemia*. J Comp Neurol 2000; 427: 196-208.
39. Sheng M, Kim MJ. *Post-synaptic signaling and plasticity mechanisms*. Science 2002; 298: 776-780.
40. Johnston MV. *Excitotoxicity in perinatal brain injury*. Brain Pathol. 2005; 15: 234-240.
41. Honig LS, Herrmann K, Shatz CJ. *Developmental changes revealed by immunohistochemical markers in human cerebral cortex*. Cereb Cortex 1996; 6:794-806.
42. Furuta A, Martin LJ. *Laminar segregation of the cortical plate during corticogenesis is accompanied by changes in glutamate receptor expression*. J Neurobiol. 1999; 39:67-80.
43. McQuillen PS, Ferriero DM. *Perinatal subplate neuron injury: implications for cortical development and plasticity*. Brain Pathol 2005; 15: 250-260.
44. McQuillen PS, Sheldon RA, Shatz CJ, Ferriero DM. *Selective vulnerability of subplate neurons after early neonatal hypoxia-ischemia*. J Neurosci 2003; 23: 3308-3315.
45. Catalano SM, Chang CK, Shatz CJ. *Activity-dependent regulation of NMDAR1 immunoreactivity in the developing visual cortex*. J Neurosci 1997; 17: 8376-8390.
46. Price DJ, Aslam S, Tasker L, Gillies K. *Fates of the earliest generated cells in the developing murine neocortex*. J Comp Neurol 1997; 377: 414-422.
47. Olney JW, Collins RC, Sloviter RS. *Excitotoxic mechanisms of epileptic brain damage*. Adv Neurol 1986; 44: 857-877.
48. Xue M, Balasubramaniam J, Parsons KAL, McIntyre IW, Peeling J Del Bigio MR. *Does thrombin play a role in the pathogenesis of brain damage after periventricular hemorrhage?* Brain Pathol 2005; 15:241-249.
49. Petaj GJ, Hiltunen L, Fellman V. *Increased risk of intraventricular hemorrhage in preterm infants with thrombophilia*. Pediatr Res. 2001; 49: 643-646.
50. Squier W, Rutherford M, Cowan F. *Neuropathology of familial schizencephaly*. Fetal Pediatr Pathol. 2004; 23: 92 (abstract).
51. Bönnemann CG, Meinecke P. *Bilateral porencephaly, cerebellar hypoplasia, and internal malformations: Two siblings representing a probably new autosomal recessive entity*. Am J Med Genet. 1996; 63: 428-433.
52. Fowler M, Dow R, White TA, Greer CH. *Congenital hydrocephalus-hydranencephaly in five siblings, with autopsy studies: a new disease*. Dev Med Child Neurol. 1972; 14: 173-188.
53. Soltan HC, Holmes LB. *Familial occurrence of malformations possibly attributable to vascular abnormalities*. J Pediatr. 1986; 108: 112-114.
54. Kinney HC, Haynes RL, Folkerth RD. *White matter lesions in the perinatal period*. En: Golden JA, Harding BN (eds). Pathology&Genetics. Developmental Neuropathology. Basel: ISN Neuropath Press; 2004. p.156. ♦

Agradecimiento: al Dr. Donald F. Haggerty, por su colaboración en la traducción del resumen del presente trabajo, así como del resumen del trabajo titulado: "Encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal: necrosis neuronal selectiva, no sólo necrosis y no tan selectiva", que apareciera en el número anterior.

Trabajo en modalidad posters que recibió premio en las Cuartas Jornadas de Actualización en Clínica Pediátrica 2005

Modelo electrocardiográfico de la enfermedad de Chagas crónica en ratón para la evaluación de nuevos fármacos

J Bleiz ⁽¹⁾, **T Luong** ^(1,2), **D Lirussi** ⁽²⁾
S Villagra ⁽²⁾, **A Zaidenberg** ^(1,2,3)

⁽¹⁾ *IDIP - Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas, Hospital de Niños Sor María Ludovica, La Plata, Buenos Aires, Argentina.*

⁽²⁾ *Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.*

⁽³⁾ *CIC - Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.*

El tratamiento de la enfermedad de Chagas es actualmente insatisfactorio. Los compuestos empleados (nifurtimox y benznidazol) tienen actividad solo en la fase aguda siendo ineficaces en la fase crónica por presentar serios efectos adversos. Nuevos compuestos son necesarios. La manifestación clínica más importante es la miocarditis crónica tardía, siendo menos frecuente la miocarditis aguda. Debido a que la afección se disemina por todo el corazón (miocitos y sistema especializado de conducción) los trastornos electrocardiográficos (TECG) son representativos de la patología como arritmias y trastornos de conducción y repolarización ventricular. Nuestro objetivo fue obtener un modelo electrocardiográfico de la enfermedad de Chagas crónica en ratón para la evaluación de nuevos fármacos. Para realizar el modelo crónico se inocularon 100 ratones CF1 vía intraperitoneal con *Trypanosoma cruzi* clon H510C8C3 y se medicaron parcialmente con benznidazol (50 mg/kg/día vía oral, 10 dosis). Se realizó electrocardiografía bajo anestesia con pentobarbital sódico (30 mg/kg/dosis), a los días 45, 90 y 150 post-infección. Como controles se emplearon 20 ratones sanos. Se observó diferencia significativa entre grupo control y enfermo en frecuencia cardíaca, intervalo PR y QRS, indicando afección del nódulo sinusal y del sistema de conducción. Los TECG reprodujeron la progresión de las lesiones en función del tiempo. Con la evolución de la enfermedad el intervalo PR se prolongó significativamente y aparecieron arritmias auriculares (día 45) y ventriculares (día 90). El riesgo relativo (RR) de muerte fue elevado para eje eléctrico (RR 80), arritmias (RR32), QRS (RR 32) y PR (RR 15). Finalmente se realizó una prueba terapéutica piloto con trifluralin y benznidazol logrando modificación favorable electrocardiográfica. Como conclusión el modelo electrocardiográfico propuesto es representativo de la enfermedad de Chagas crónica y permite el ensayo experimental de nuevos fármacos anti-*Trypanosoma cruzi* in vivo.



Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas (IDIP)
Hospital de Niños de La Plata - CIC

Cursos Universitarios de Postgrado

Certificados por la UNLP

Metodología de la Investigación en Ciencias de la Salud.

Directora:
Dra. Graciela Etchegoyen

Dermatología Pediátrica.

Directora:
Dra. Alicia Rositto

Diagnóstico por Imágenes en Pediatría.

Director:
Dr. Juan J. Bertolotti

Cardiología Pediátrica.

Directora:
Dra. Cristina Serra

Seguridad Alimentaria: Prácticas y Representación.

Un abordaje Antropológico de la Conducta Alimentaria

Directora:
Dra. Patricia Aguirre

Metodología de Investigación Cualitativa.

Directora:
Lic. Ana Castellani

Nutrición.

Director: Dr. Juan C. Gómez

3 Orientaciones:

- Pediátrica

Directora: Adriana Fernández

- Clínica

Directora: Adriana Crivelli

Asistencia Odontológica de Pacientes con Patologías Complejas (3 Niveles).

Directora:
Dra. Lidia Pinola

Otros Cursos

Manejo de Bases de Datos y Análisis Estadístico de la Información
Programas gráficos en la Elaboración de Posters y Presentaciones Interactivas.

Informes e Inscripción

Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas del Hospital de Niños de La Plata. Calle 63 N° 1069.

Teléfonos: (0221) 453-5901/07 y 453-5929 Interno 1435.

E-mail: institutoinvestigaciones@hotmail.com

Fax: (0221) 453-5901 Int 1435

Programas: www.ludovica.org.ar/idip



NORMAS DE PRESENTACIÓN

de trabajos en Ludovica pediátrica

LUDOVICA PEDIÁTRICA es una publicación científica del Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría, Superiora Sor María Ludovica de La Plata y considerará para su publicación los trabajos relacionados con la Pediatría. La Revista consta de las siguientes secciones:

Originales

Trabajos de investigación sobre etiología, fisiopatología, anatomía patológica, diagnóstico, prevención y tratamiento. Los diseños recomendados son de tipo analítico en forma de encuestas transversales, estudio de casos y controles, estudios de cohorte y ensayos controlados. La extensión del texto (sin incluir resumen, bibliografía, tablas y pies de figuras) no debe superar un total de 3.000 palabras. El número de citas bibliográficas no será superior a 40 y se admitirán hasta un máximo (incluyendo ambos) de 8 figuras, tablas o gráficos. Es recomendable que el número de firmantes no sea superior a seis.

Casos Clínicos

Descripción de uno o más casos clínicos de excepcional observación que supongan un aporte importante al conocimiento de la enfermedad. La extensión máxima del texto (que no debe incluir resumen) será de 1.500 palabras, el número de citas bibliográficas no será superior a 20 y se admitirán hasta un máximo (incluyendo ambos) de 4 figuras o tablas. Es aconsejable que el número de firmantes no sea superior a cinco.

Cartas al Director

En esta sección se admitirán la discusión de trabajos publicados y la aportación de observaciones o experiencias que por sus características puedan ser resumidas en un breve texto. La extensión máxima será de 750 palabras, el número de citas bibliográficas no será superior a 10 y se admitirá una figura y una tabla. Es aconsejable que el número de firmantes no sea superior a cuatro.

Editoriales

Discusión de avances recientes en Pediatría. Estos artículos son encargados por la Redacción de la Revista. Los autores que espontáneamente deseen colaborar en esta Sección deberán consultar previamente con la Secretaría de Redacción.

Artículos Especiales

Bajo este epígrafe se publicarán trabajos de interés particular para la Pediatría y que, por sus características, no encajen bajo el epígrafe de Editorial. Son aplicables las mismas normas de publicación que en la sección precedente.

Educación Continuada

Puesta al día de temas básicos de interés general para el pediatra que se desarrollarán de manera extensa a lo largo de varios números.

¿Cuál es su diagnóstico?

Presentación breve de un caso clínico problema y de su resolución. La presentación en la Revista se hará en dos páginas independientes: en una se presentarán nombres y dirección profesional de los autores y el caso clínico, acompañado de un máximo de 2 figuras, y en la otra (que se publicará en contraportada) se efectuarán los comentarios diagnósticos y terapéuticos pertinentes, acompañados de un máximo de 1 figura y 5 citas bibliográficas. Se aceptan aportaciones a esta sección. Los originales deben adecuarse al modelo de publicación mencionado. El texto de cada página no debe sobrepasar 750 palabras (si no hay figuras), 500 palabras (si hay una figura) y 400 palabras (si hay 2 figuras).

Crítica de libros

Los libros que sean enviados a la Secretaría de Redacción serán objeto de crítica si se considera de interés para los lectores. El envío de un libro no implica necesariamente que será publicada su crítica. En cualquier caso, los libros remitidos no serán devueltos ni se enviará reconocimiento de su recepción.

Otras secciones

Se publicarán los informes técnicos de las Secciones y Grupos de trabajo del Hospital de Niños Superiora Sor María Ludovica así como el contenido de sus reuniones. Cada Sección dispondrá de un máximo de 15 páginas impresas anuales, lo que representa aproximadamente unos 40 resúmenes.

Presentación y estructura de los trabajos

Todos los trabajos aceptados quedan como propiedad permanente de Ludovica Pediátrica y no podrán ser reproducidos en parte o totalmente sin el permiso editorial de la revista. Los artículos, escritos en español o en inglés, deben entregarse en diskette, con su impreso correspondiente y en procesador de textos Word. Los componentes serán ordenados en páginas separadas de la siguiente manera: página titular, resumen y palabras clave, texto, bibliografía, tablas y pies de figuras. Todas las páginas deberán ser numeradas consecutivamente, comenzando por la página titular.

Página titular

Deberá contener los datos siguientes:

- Título del artículo no mayor a 12 palabras.
- Lista de autores en el mismo orden en el que deben aparecer en la publicación. Debe citarse primero nombre y luego apellido.
- El título académico de los autores aparecerá con una llamada al lado del apellido, que será referida al pie de página con el grado correspondiente.
- Nombre del centro de trabajo y dirección completa del mismo. Si el trabajo ha sido financiado debe incluirse el origen y numeración de dicha financiación.
- Nombre, dirección, número de teléfono y número de fax del autor al que debe dirigirse la correspondencia.
- Fecha de envío.

Resumen

La extensión del resumen no será superior a 250 palabras ni inferior a 150 palabras. El contenido del resumen deberá ser estructurado en cuatro apartados diferentes que deberán figurar titulados en el mismo: Objetivos, Métodos, Resultados, y Conclusiones. En cada uno de ellos se describirán, respectivamente, el problema motivo de la investigación, la manera de llevar a cabo la misma, los resultados más destacados y las conclusiones que se deriven de los resultados.

Palabras claves

Tres a diez palabras clave deberán ser incluidas al final de la página donde figure el resumen. Deberán usarse términos mencionados en el **Medical Subject Headings** del *Index Medicus*.

- Inglés. Deberá incluirse una correcta traducción al inglés de título, resumen y palabras clave.
- Texto. Se recomienda la redacción del texto en impersonal. Conviene dividir los trabajos en secciones. Los originales en: Introducción, Material o Pacientes y Métodos, Resultados y Discusión. Las notas clínicas en: Introducción, Observación clínica y Discusión. Se recomienda que cada sección encabece páginas separadas.

En general, es deseable el mínimo de abreviaturas, aceptando los términos empleados internacionalmente. Las abreviaturas poco comunes deben ser definidas en el momento de su pri-

mera aparición. Se evitarán abreviaturas en el título y en el resumen. Cuando existan tres o más abreviaturas se recomienda que sean listadas en una tabla presentada en hoja aparte. Los autores pueden utilizar tanto las unidades métricas de medida como las unidades del Sistema Internacional (SI). Cuando se utilicen las unidades SI es conveniente incluir las correspondientes unidades métricas inmediatamente después, en paréntesis. Las drogas deben mencionarse por su nombre genérico. Los instrumentos utilizados para realizar técnicas de laboratorio u otras deben ser identificados, en paréntesis, por la marca así como por la dirección de sus fabricantes.

Bibliografía

Las citas bibliográficas deben ser numeradas consecutivamente por orden de aparición en el texto, figurando el número entre paréntesis.

La referencia de artículos de revistas se hará en el orden siguiente: autores, empleando el o los apellidos seguido de la inicial del nombre, sin puntuación y separado cada autor por una coma; el título completo del artículo en lengua original; el nombre de la revista según abreviaturas del *Index Medicus*; año de aparición del ejemplar, volumen e indicación de la primera y última página.

Deben mencionarse todos los autores cuando sean seis (6) o menos; cuando sean siete (7) o más deben citarse los tres primeros y añadir después las palabras "et al". Un estilo similar se empleará para las citas de los libros. A continuación se exponen tres ejemplos:

Artículo: Beltra Picó R., Mira Navarro J., Garramone G. *Gastroquísis. A propósito de cinco casos.* An. Esp. Pediatr. 198 1; 14: 107-111.

Libro: Fomon S. J. *Infant Nutrition*, 2ed. Filadelfia/Londres/Toronto: WB Saunders; 1974.

Capítulo de libro: Blines J. E. *Dolor abdominal crónico y recurrente.* En: Walker Simith J. A., Hamilton J. R., Walker W. A. (eds.). *Gastroenterología pediátrica práctica.* 2da. ed. Madrid: Ediciones Ergon; 1996. p. 2537.

No deben incluirse en la bibliografía citaciones del estilo de "comunicación personal", "en preparación" o "sometido a publicación". Si se considera imprescindible citar dicho material debe mencionarse su origen en el lugar correspondiente del texto.

Trabajos no publicados: (Salinas Pérez C. *Estudio patogénico de la nefropatía IgA.* En preparación) (Smith J. *New agents for cancer chemotherapy.* Presentado en el Third Annual Meeting of the American Cancer Society, 13 Junio 1983, New York).

Tablas

Deben ser numeradas en caracteres romanos por orden de aparición en el texto. Serán escritas a doble espacio, no sobrepasarán el tamaño de un folio y se remitirán en hojas separadas. Tendrán un título en la parte superior que describa concisamente su contenido, de manera que la tabla sea comprensible por sí misma sin necesidad de leer el texto del artículo. Si se utilizan abreviaturas deben explicarse al pie de la tabla. Debe evitarse presentar los mismos datos en texto, tablas y figuras.

Figuras

Tanto se trate de gráficos, dibujos o fotografías, se numerarán

en caracteres árabes por orden de aparición en el texto. Deben entregarse en papel o en copia fotográfica nítida en blanco y negro (no diapositiva) de un tamaño máximo de 20,3 por 25,4 cm. Los autores deberán tener en cuenta, para el tamaño de símbolos, letras, cifras, etc., que después de la reducción, si se precisa, deben tener una dimensión de 3 milímetros. En el dorso de la figura deberá adherirse una etiqueta en que figuren: número de la figura, nombre del primer autor y orientación de la misma (mediante una flecha, por ejemplo). Las figuras se entregarán en un sobre, sin montar. En el caso de que las figuras ya estén escaneadas, las mismas deben remitirse en formato *.jpg*.

Las microfotografías deben incluir escala e indicación de los aumentos. Eventualmente es posible la reproducción de fotografías o dibujos en color, siempre que sea aceptado por el Comité de Redacción y exista acuerdo previo de los autores con el Grupo Editor.

Si se reproducen fotografías de pacientes éstos no deben ser identificados. Las figuras se acompañarán de una leyenda, escrita en hoja incorporada al texto, que debe permitir entenderla sin necesidad de leer el artículo.

Responsabilidades Éticas

Permisos para reproducir material ya publicado. Los autores son responsables de obtener los oportunos permisos para reproducir en Ludovica Pediátrica material (texto, tablas o figuras) de otras publicaciones. Estos permisos deben solicitarse tanto al autor como a la editorial que ha publicado dicho material.

Autoría. En la lista de autores deben figurar únicamente aquellas personas que han contribuido intelectualmente al desarrollo del trabajo. Haber ayudado en la colección de datos o haber participado en alguna técnica no son por sí mismos criterios suficientes para figurar como autor. En general, para figurar como autor se deben cumplir los siguientes requisitos:

1. Haber participado en la concepción y realización del trabajo que ha dado como resultado el artículo en cuestión.
2. Haber participado en la redacción del texto y en las posibles revisiones del mismo.
3. Haber aprobado la versión que finalmente va a ser publicada.

La Secretaría de Redacción de Ludovica Pediátrica declina cualquier responsabilidad sobre posibles conflictos derivados de la autoría de los trabajos que se publican en la Revista.

Publicación previa. En la carta de presentación que debe acompañar el envío del artículo debe hacerse constar que el contenido del mismo es completamente original y que no ha sido publicado previamente. De no cumplirse este requisito debe hacerse constar si:

1. Parte de los resultados han sido ya incluidos en otro artículo.
2. Una parte de los pacientes ha sido ya reportada en un trabajo anterior.
3. El texto o parte del texto ha sido ya publicado o está en vías de publicación en actas de congreso, capítulo de libro o carta al director.

4. Todo o parte del texto ha sido ya publicado en otro idioma. Ludovica Pediátrica acepta material original, pero considera la publicación de material en parte ya publicado si el nuevo texto aporta conclusiones diferentes sobre un tema. El autor debe ser consciente que no revelar que el material sometido a publicación ha sido ya total o parcialmente publicado constituye un grave quebranto de la ética científica.

Consentimiento informado. Los autores deben mencionar en la sección de métodos que los procedimientos utilizados en los pacientes y controles han sido realizados tras obtención de un consentimiento informado de los padres. Es también conveniente hacer constar que el estudio ha sido revisado y aprobado por los Comités de Investigación y/o Ética de la institución donde se ha realizado el estudio.

Envío de originales

Los trabajos deben ser enviados con dos copias y un doble juego de tablas y figuras. Se procurará que las copias sean de excelente calidad. Debe utilizarse un sobre de papel fuerte, protegiendo si es preciso con cartón el manuscrito, evitando la utilización de clips y no doblando las figuras. El manuscrito debe acompañarse de una carta de presentación firmada por todos los autores en la que se debe hacer constar la originalidad del trabajo así como la aceptación expresa de todas las normas. Es asimismo necesario que las copias se acompañen de soporte informático indicando sistema operativo (PC o Macintosh) y programa utilizado. Se aconseja guardar una copia de todo el material enviado. El envío se efectuará a:

Docencia e Investigación. Hospital de Niños Superiora Sor María Ludovica de La Plata.

Calle 14 N° 1631. La Plata 1900.

La Secretaría acusará recibo. El manuscrito será inicialmente examinado por el comité de redacción y si se considera válido será remitido a dos revisores externos. El Comité de Redacción, ya directamente o una vez atendida la opinión de los revisores, se reserva el derecho de rechazar los trabajos que no juzgue apropiados, así como de proponer las modificaciones de los mismos que considere necesario. En caso de aceptación, si es necesario, el autor recibirá material para su corrección, que procurará devolver a la Secretaría de Redacción dentro de las 48 horas siguientes a su recepción.

Compruebe el contenido de su envío:

Carta con firma de todos los autores; tres copias completas del artículo; página titular incluyendo: título, lista de autores, nombre y dirección del centro, financiación, teléfono, fax del autor y correo electrónico, recuento de palabras, fecha de envío; resumen en castellano (en hoja aparte); resumen en inglés (en hoja aparte); palabras claves (en castellano e inglés); texto; bibliografía (en hoja aparte); leyendas de las figuras (en hoja aparte); tablas (en hoja aparte); figuras identificadas (tres unidades); carta de permiso si se reproduce material; consentimiento informado para fotos. 