

Sesión de comunicaciones IV

25. DETERMINACIÓN DE LA DESCAMACIÓN CELULAR COMO MEDIDA DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

F. Casellas, A. García, M. Antolín, F. Guarner, N. Borrue, J.R. Armengol Miró y J.R. Malagelada

Servicio de Digestivo. Hospital General Vall d'Hebron. Barcelona.

Existen múltiples índices para evaluar la actividad de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). La mayoría de ellos tienen inconvenientes (invasividad, complejidad o falta de especificidad, etc.) y dan resultados discordantes entre sí. Por este motivo sigue justificada la

búsqueda de nuevos parámetros biológicos que objetiven la actividad inflamatoria de la EII. Uno de los primeros cambios que aparecen en la EII y que persisten durante su evolución es la pérdida de la integridad de la mucosa. Asumiendo que el único origen de ADN humano en la luz intestinal es la descamación mucosa, nuestra hipótesis es que el daño mucoso de la EII produce una descamación epitelial a la luz intestinal que se puede medir determinando la concentración de ADN humano en las heces o en el contenido intraluminal.

Objetivo: Determinar si la concentración fecal o intraluminal de ADN humano es útil para la evaluación de la actividad inflamatoria de la EII. Se han estudiado a 65 pacientes (36 con colitis ulcerosa [CU] y 29 con enfermedad de Crohn [EC]). Se practicaron las siguientes exploraciones: determinación de la actividad clínica mediante el índice de Rachmilewitz en la CU y de Harvey-Bradshaw en la EC, colonoscopia según técnica de rutina y un lavado intestinal para obtener muestras estandarizadas del contenido intraluminal para determinación del ADN. El ADN se cuantificó mediante la determinación del gen de la β -globina por técnica de PCR cuantitativa.

Resultados: El ADN fecal se correlacionó de forma estadísticamente significativa con los índices clínicos en la CU y EC ($r = 0,59$ y $0,56$, respectivamente; $p < 0,01$) y con los índices endoscópicos en la CU ($r = 0,76$; $p < 0,01$). La correlación de los índices clínico y colonoscópico con los niveles de ADN en el lavado intestinal fue inferior a la obtenida con el ADN fecal, tanto en la CU ($r = 0,41$ y $0,51$, respectivamente; $p < 0,05$) como en la EC ($r = 0,46$ y $0,30$, respectivamente). Los niveles de ADN fecal fueron significativamente más elevados en la enfermedad activa que en remisión ($1,9 \times 10^6$ frente a $2,3 \times 10^3$ en la CU y $3,7 \times 10^4$ frente a $4,4 \times 10^2$ en la EC; $p < 0,01$). Para el ADN en el lavado intestinal estas diferencias sólo fueron significativas en la CU.

Conclusiones: La cuantificación del contenido fecal de ADN humano, como expresión de la descamación celular, es una técnica nueva y no invasiva que discrimina de forma objetiva la existencia de actividad en la EII.

26. EL USO DE PRÓTESIS RECUBIERTAS DISMINUYE LA DISFUNCIÓN DEL TIPS: RESULTADOS DE UN ESTUDIO ALEATORIZADO MULTICÉNTRICO

J.C. García Pagán¹, C. Bureau², G. Pomier³, P. Otal⁴, V. Chabbert⁴, C. Cortez¹, P. Perrault³, J.M. Peron², J.G. Abralde¹, L. Bouchard³, J.I. Bilbao⁵, J. Bosch, H. Rousseau² y J.P. Vinel²

¹Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. ²CHU Toulouse Purpan. Francia. ³Hôpital Saint Luc. Montreal. Canadá. ⁴Servicio de Radiología. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: La disfunción es uno de los mayores problemas del TIPS. El objetivo de este estudio fue comparar el uso de prótesis convencionales no recubiertas con las nuevas prótesis recubiertas de politetrafluoroetileno (PTFE) en cuanto a disfunción, complicaciones y mortalidad.

Pacientes y métodos: Ochenta pacientes cirróticos —48 por hemorragia por varices (HDA×VE) no controlada médicamente y 32 por ascitis refractaria— fueron aleatorizados a recibir prótesis recubierta ($n = 39$) o convencional ($n = 41$). Se practicaron US-Doppler a los 7 días, al mes y cada 3 meses, y angiografía con medición del gradiente de presión portal (GPP) cada 6 meses y siempre que existía sospecha clínica o US-Doppler de disfunción. El diagnóstico de disfunción se estableció como GPP > 12 mmHg o recidiva clínica de la hipertensión portal. La media de seguimiento fue de 8 ± 7 meses (rango, 0,1-27).

Resultados: La probabilidad anual actuarial de disfunción del TIPS fue inferior en el grupo PTFE (13 frente al 55%; $p < 0,01$). Ello se asoció a una menor incidencia de episodios clínicos (1 HDA×VE grupo PTFE frente a 9 (4 HDA×VE y 5 ascitis); $p < 0,05$). La probabilidad anual actuarial de encefalopatía hepática (EH) no fue significativamente diferente (19% en el grupo PTFE frente al 31% no recubiertas; $p = 0,2$). Un paciente en cada grupo requirió la coloca-

ción de prótesis reductora por EH invalidante. La supervivencia anual actuarial fue superior, sin alcanzar la significación estadística, en el grupo PTFE (71% frente al 54%; $p = 0,08$).

Conclusión: El uso de prótesis recubiertas de PTFE disminuye la tasa de disfunción del TIPS y el número de recidivas clínicas en el seguimiento, sin aumentar las complicaciones.

27. IMPLICACIÓN DE LAS METALOPROTEINASAS (MMP) EN LA LESIÓN TRANSMURAL POR BACTEROIDES FRAGILIS EN UN MODELO EXPERIMENTAL

C. Medina, M. Pages*, M. Antolín*, S. Videla*, R. Freire, F. Guarner*, J. Vilaseca*, A. Salas**, E. Quintero y J.R. Malagelada*

Servicio de Aparato Digestivo y Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Tenerife. *Unidad de Investigación del Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. **Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Mútua de Terrassa.

Introducción: Los gérmenes anaerobios, entre ellos el *Bacteroides fragilis*, tienen capacidad de inducir lesiones intestinales transmurales con afectación de la serosa. Recientemente se ha observado que la toxina del *Bacteroides fragilis* tiene actividad metaloproteinasa (MMP). Las MMP son un conjunto de enzimas capaces de degradar la matriz extracelular del tejido conectivo, y por tanto, de producir lesión tisular.

Objetivo: Valorar la participación de las MMP en la lesión histológica inducida por inyección intramural de *Bacteroides fragilis*, mediante el uso de un inhibidor (fenatrolina).

Material y métodos: El *Bacteroides fragilis* fue cultivado durante 24 h en condiciones de anaerobiosis estricta. Se emplearon 23 ratas macho Sprague-Dawley con un peso entre 220 y 250 g. Tras la práctica de una laparotomía, se inyectó intramuralmente el *Bacteroides fragilis* en la pared del colon a 2 grupos de 10 ratas cada uno. El primer grupo recibió tratamiento con fenatrolina a dosis de 20 mg/kg v.o. 1 h antes, 6 y 24 h tras la inyección intramural de *Bacteroides*, mientras que el segundo grupo recibió placebo. A las 3 ratas restantes, se les inyectó medio de cultivo solamente. A los 7 días, se valoró el grado de lesión histológica utilizando la suma de varios parámetros: inflamación, granulomas, fibrosis (tricrómico de Masson) y miofibroblastos (alfa-actina).

Resultados: Dos ratas del grupo fenatrolina y una del grupo placebo, murieron tras la laparotomía. El *Bacteroides fragilis* fue capaz de inducir lesión transmural en 12 de las 17 ratas restantes, mientras que las ratas a las que se le inyectó medio de cultivo solamente no presentaron lesión histológica alguna ($n = 0$). El tratamiento con fenatrolina redujo de forma significativa el grado de lesión histológica global (fenatrolina: $6,6 \pm 1,3$; placebo: $11,2 \pm 1,4$, $p < 0,05$), con diferencias destacables en la capa serosa (fenatrolina: $5,1 \pm 0,8$; placebo: $8,7 \pm 1,1$; $p < 0,05$).

Conclusión: Un inhibidor de las MMP redujo el grado de lesión histológica en este modelo experimental de colitis. Los resultados sugieren que las MMP pueden favorecer la diseminación transmural.

28. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ULTRASONOGRAFÍA ENDOSCÓPICA (USE) Y LA COLANGIOPANCREATOGRAFÍA POR RESONANCIA MAGNÉTICA (CPRM) EN EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE LAS COLESTASIS EXTRAHEPÁTICAS

G. Fernández-Esparrach, A. Ginés, M. Sánchez*, M. Pellisé, M. Pagès*, M.T. Soria**, A. Mata, C. Ayuso*, J.M. Llach, J.M. Bordas y J.M. Piqué

Servei de Gastroenterologia. Institut de Malalties Digestives. *Unitat de Radiodiagnòstic. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona. **Servicio de Endoscopia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción: La USE y la CPRM han demostrado ser técnicas de imagen especialmente útiles y poco agresivas en el estudio de la región biliopancreática. Sin embargo, existe poca información en

cuanto a su eficacia en el diagnóstico etiológico de las colestasis extrahepáticas.

Objetivo: Comparar de forma prospectiva la eficacia de la USE y la CPRM en el diagnóstico etiológico de las colestasis extrahepáticas.

Pacientes y métodos: Entre marzo de 2001 y marzo de 2002, se incluyeron todos los pacientes que cumplieron alguno de los siguientes criterios: 1) dilatación de la vía biliar principal de causa no establecida por ultrasonografía abdominal (UA) (n = 24) y 2) elevada sospecha de coledocolitiasis en pacientes con vía biliar normal y UA no diagnóstica (n = 19). A todos se les realizó una USE (Olympus® GF UM20) y una CPRM con la técnica SSFSE, siendo el período de tiempo máximo entre ellas de 24 h. El orden de las exploraciones se decidió de forma aleatorizada desconociendo cada explorador el resultado de la exploración previa. El diagnóstico definitivo se realizó por colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) o por cirugía.

Resultados: Se incluyeron 43 pacientes (20 varones, 23 mujeres) con una edad media de $71 \pm 14,5$ años. En 8 pacientes no se realizó CPRE ni cirugía debido a su avanzada edad o a la existencia de otras patologías. En los 35 pacientes restantes se realizó USE, CPRM y CPRE o cirugía, siendo el diagnóstico final: coledocolitiasis (n = 18; 51%), coledocolitiasis (n = 8; 23%), cáncer de páncreas (n = 4; 11%), colangiocarcinoma (n = 2; 6%), ampuloma (n = 1; 3%), tumor mucinoso papilar intraductal del páncreas (n = 1; 3%) e hidatidosis intracoleodocal (n = 1; 3%). La eficacia global de la USE y la CPRM en el diagnóstico etiológico de las colestasis extrahepáticas fue del 97 y 91%, respectivamente (p = NS). La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la USE en el diagnóstico de coledocolitiasis fueron de 100, 88, 95 y 100%, respectivamente. Los correspondientes valores de la CPRM fueron de 89, 100, 100 y 80%, respectivamente (p = NS).

Conclusiones: La USE y la CPRM son técnicas con una precisión muy elevada para establecer el diagnóstico etiológico definitivo de las colestasis extrahepáticas en pacientes con una UA no diagnóstica.

29. DESARROLLO HOSPITALARIO DE UN SISTEMA INFORMATIZADO DE GESTIÓN Y COMUNICACIÓN DEL TEXTO Y DE LA IMAGEN DE ENDOSCOPIA DIGESTIVA. "LA ENDOSCOPIA DIGESTIVA SIN PAPEL"

C. Dolz, A. Vilella, H. Andreu, J. Riera, A. Contesti* y M. Cabrer*

*Servicios de Aparato Digestivo e *Informática. Fundación Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca.*

Objetivo: Desarrollar un sistema informatizado hospitalario que incluya todos los contenidos de gestión y comunicación de las peticiones de endoscopia digestiva: emisión, recepción y programación de las solicitudes, así como la transmisión de la información de texto e imagen de la endoscopia realizada.

Material: Hospital de 560 camas dotado del Sistema de Información Hospitalario HP-HIS.2, equipado con el programa de historia clínica y estación de trabajo médica HP-Doctor y de gestión de peticiones HP-Medlink, de Hewlett-Packard. Para la gestión de la endoscopia digestiva se ha utilizado el programa Endobase (versión III) de Olympus. La conexión entre los módulos de Medlink y Endobase se realizó a través del estándar HL7.

Métodos: Desde cualquier terminal (PC) del hospital, todo médico autorizado realiza una petición de endoscopia digestiva a través del programa gestor de peticiones (HP-Medlink). La solicitud se recibe en la Unidad de Endoscopia Digestiva, quien acepta y programa la solicitud; estos cambios aparecen expresados iconográficamente en una sola línea de diálogo electrónico, que informa a los médicos y a las enfermeras responsables del paciente del estado de la petición. Una vez realizada la endoscopia y capturadas las imágenes, se redacta y se firma electrónicamente el informe, lo que genera su transmisión automática a toda la red del hospital. El endoscopista dispone de la opción de remitir un informe con o sin imágenes. El médico solicitante aprecia en la línea de diálogo electrónico, mediante cambio de iconos, la ejecución de la endoscopia y la presencia de un nuevo informe.

Resultados: Tras una fase de desarrollo y validación, desde el mes de agosto de 2002 se utiliza rutinariamente en endoscopia y ecoendoscopia, tanto ambulatoria como hospitalaria. Las ventajas apreciadas son: a) la mayor rapidez de transmisión de la información, dado que la transmisión electrónica evita el transporte físico de la solicitud y el posible extravío de la información escrita; b) la mayor seguridad de los datos, puesto que todo informe endoscópico queda forzosamente vinculado a su paciente, a un episodio y a una petición; por otra parte, el acceso a la información queda predefinido en un perfil de autorizaciones y privilegios que tiene todo usuario; c) la automatización, dado que la programación desde el módulo de gestión de peticiones, genera automáticamente la agenda de trabajo diaria en el programa de endoscopia; d) la mejora en el conocimiento del estado de proceso de la petición, mediante la línea de diálogo electrónico que informa de todos los contenidos de la petición: su recepción, fecha de programación, realización de la endoscopia y visión del informe y de las imágenes, y e) la utilización intrahospitalaria de la imagen endoscópica desde diferentes puntos del hospital ofrece nuevas aplicaciones docentes y asistenciales.

Conclusiones: La implantación de un sistema hospitalario informatizado de gestión y comunicación de la información y de la imagen de endoscopia digestiva, puede mejorar la rapidez, la seguridad, la automatización y la información del estado del proceso. La transmisión de la imagen endoscópica a la red general del hospital permite aplicaciones docentes y asistenciales.

30. CARACTERIZACIÓN CLINICOPATOLÓGICA DE LOS PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL CON INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES

A. Roca, X. Llor, M. Rosinach, J.M. Hernández-Pérez, E. Pons y M.A. Gassull

Servei d'Aparell Digestiu. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción: La inactivación de genes reparadores del ADN constituye un importante mecanismo de desarrollo del cáncer colorrectal (CCR). Estas alteraciones son responsables del síndrome del HNPCC y aproximadamente de un 15-20% de la totalidad de cánceres colorrectales. La incapacidad de reparar el ADN se manifiesta en el fenómeno de inestabilidad de microsátélites (MSI).

Objetivos: Comparar las diferencias clínicas y anatomopatológicas entre los pacientes con tumores que expresan MSI (tanto de los MSI-H como los MSI-L) y los que son estables para microsátélites (MSS).

Métodos: Durante un año, se incluyeron 51 pacientes con diagnóstico de CCR. Se estudió el panel de los 5 microsátélites recomendados por la conferencia del National Cancer Institute (BAT 25, BAT 26, D5S346, D2S123, D17S250) mediante amplificación por PCR y análisis por *gene scan* tanto del tejido tumoral como de mucosa adyacente. Se registraron todos los datos correspondientes a historia personal y familiar, así como las diferentes características anatomopatológicas.

Resultados: Presentaban MSI 6/51 tumores (4 MSI-H y 2 MSI-L); ningún paciente cumplía los criterios de Amsterdam I o II y 1/4 MSI-H cumplía los criterios de Bethesda. La edad media en el diagnóstico fue de 57,7 años en los pacientes MSI-H y 66,5 en pacientes MSI-L en comparación con los 69,9 años de los MSS. El 29% de los tumores MSS y el 83% de los MSI se localizaban en colon derecho; el 17,8% de los MSS y el 50% de los MSI-H presentaban importantes infiltrados linfocíticos; 7 tumores, todos MSS, presentaban producción de mucina; 4 tumores de los MSS y ninguno de los MSI eran bien diferenciados; 9/45 de los MSS y 2/4 de los MSI-H eran Dukes C, 28/45 de los MSS y 2/4 de los MSI-H eran Dukes B; 25/45 de MSS y 3/6 MSI presentaban pólipos sincrónicos.

Conclusión: De la serie estudiada, el 12% de los pacientes presentaba inestabilidad para microsátélites. De éstos, un paciente cumplía los criterios de Bethesda correspondientes al síndrome del HNPCC. Los pacientes con MSI diferían del resto en una edad al diagnóstico inferior, una localización mayoritariamente derecha, mayor presen-

cia de infiltrado linfocítico y un mayor porcentaje de Dukes C o D. Estos datos avalan diferencias fenotípicas que comportan una importante implicación clínica.

31. EL ÓXIDO NÍTRICO POSEE UNA ACCIÓN ANTIINFLAMATORIA SOBRE LA MUCOSA COLÓNICA DE PACIENTES CON COLITIS ULCEROSA ACTIVA

M. Sans, M. Gironella, F. Gil, R. Miquel, A.D. Levine, J.M. Piqué, C. Fiocchi y J. Panés

Servicio de Gastroenterología. Institut de Malalties Digestives. Hospital Clínic. Barcelona. Department of Gastroenterology. Case Western Reserve University. Cleveland. Ohio. EE.UU.

Introducción: El papel pro o antiinflamatorio desempeñado por el óxido nítrico (NO) en la fisiopatología de la inflamación intestinal es motivo de controversia. Recientemente se ha sugerido que la adición de NO podría potenciar el efecto de la mesalazina.

Objetivo: Estudiar el efecto *ex vivo* de diversas dosis de un donador de NO de vida media prolongada sobre la actividad inflamatoria de la mucosa colónica en pacientes con colitis ulcerosa activa.

Pacientes y método: Se incluyeron en el estudio 27 pacientes con colitis ulcerosa activa (CU) y 21 controles, a los que se realizó una colonoscopia con toma de biopsias de mucosa colónica. La actividad endoscópica de la CU fue leve ($n = 3$), moderada ($n = 16$) y grave ($n = 8$). Las biopsias fueron cultivadas durante 24 h en 1,3 ml de medio de cultivo, solo o en presencia de diferentes concentraciones (10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} M) de DETA-NO. Se determinó mediante ELISA la concentración de TNF- α , IFN- γ , IL-6 y IL-12 en los sobrenadantes. Los resultados se expresan como pg de citocina por ml y mg de tejido. Las biopsias fueron fijadas y se evaluó la activación de NF- κ B en la mucosa colónica, mediante inmunohistoquímica, utilizando un anticuerpo anti-p65.

Resultados: La mucosa colónica procedente de pacientes con CU activa produjo más TNF- α (9,98 frente a 1,48; $p = 0,002$), IFN- γ (3,97 frente a 0,19; $p = 0,03$) e IL-6 (747,7 frente a 41,3; $p < 0,0001$) que la de sujetos sanos. En cambio, no se observaron diferencias en la síntesis de IL-12 entre ambos grupos (2,36 frente a 1,72; $p = 0,49$). En los pacientes con CU leve y moderada, la adición al medio de dosis bajas de DETA-NO (10^{-5} M) disminuyó de forma significativa la síntesis de TNF- α (6,27 frente a 3,95; $p = 0,03$) e IFN- γ (3,61 frente a 1,24; $p = 0,05$), pero no la de IL-6 (907,2 frente a 756,4; $p = 0,58$). En estos pacientes, DETA-NO 10^{-4} M únicamente disminuyó la síntesis de TNF- α (6,27 frente a 4,12; $p = 0,04$), mientras que la adición de DETA-NO 10^{-3} M no produjo cambios significativos en la síntesis de ninguna de las citocinas. En los pacientes con CU grave, ninguna de las tres dosis de DETA-NO utilizadas indujo cambios significativos. El estudio inmunohistoquímico de las biopsias demostró una mayor activación de NF- κ B (localización preferentemente nuclear), en los pacientes con CU moderada, comparado con los sujetos sanos. La adición de DETA-NO 10^{-5} M revirtió parcialmente dicha activación, siendo la localización

del anticuerpo anti-p65 en estas muestras preferentemente citoplasmática.

Conclusiones: La suplementación de óxido nítrico posee una acción antiinflamatoria sobre la mucosa colónica de pacientes con CU leve y moderada. Dicha acción es debida, al menos en parte, a una menor activación de NF- κ B.

32. RESECCION ENDOSCÓPICA DE TUMORES SUBMUCOSOS ASISTIDA POR ECOENDOSCOPIA

M.J. Varas, J.C. Espinós, R. Abad, D. Bargalló y J.M. Miquel
Centro Médico Teknon. Centro Médico Delfos. Barcelona.

Introducción: Los tumores submucosos (TSM) del tracto digestivo sólo requieren tratamiento quirúrgico o endoscópico ante la aparición de complicaciones como la hemorragia, la obstrucción, o ante la sospecha de malignidad. Un aspecto relevante de la ecoendoscopia o ultrasonografía endoscópica (USE) es su aportación al tratamiento de los TSM mediante técnicas endoscópicas (polipectomía y enucleación). Se acepta que las lesiones menores de 2 cm, sin ulceración profunda, y localizadas en las tres primeras capas, son susceptibles de resección endoscópica con mínimo riesgo.

Objetivo: El objetivo de este trabajo retrospectivo es evaluar el papel y valor de la USE en nuestra experiencia, como ayuda a las técnicas de resección endoscópicas en el tratamiento de los TSM del tracto digestivo alto y bajo.

Pacientes y metodología: Quince enfermos (7 mujeres y 8 varones) de 30 a 76 años con 19 TSM (8 carcinoides, 3 Abrikossoff, 3 pólipos fibroides, 2 t. estromales, 1 páncreas ectópico, 1 linfangioma y 1 lipoma) fueron estudiados con videoendoscopia y biopsias, y evaluados y estadificados con USE radial de 7,5-12 y 20 MHz, y con MS (2,6 mm) radial y lineal de 12 y 20 MHz introducidas a través del canal de trabajo del videoendoscopio (2,8 mm). Fundamentalmente se evaluó la profundidad y el tamaño de la lesión (0,3 a 3 cm), la capa de la que derivan (segunda y tercera), las características ecográficas y la presencia de adenopatías (benignidad/malignidad). En ningún caso se detectaron adenopatías.

La técnica de resección endoscópica empleada fue la polipectomía clásica. Como mínimo, al cabo de un mes se valoró con endoscopia y ecoendoscopia la resección completa del tumor, comparándola con la histología de la pieza de resección.

Resultados: De los 15 enfermos que componen la serie (3 con hemorragia previa, 10 con posibilidad de degeneración, 2 con dudas diagnósticas, y ninguno con obstrucción) se trataron endoscópicamente mediante polipectomía 14 enfermos con 18 TSM, ya que un enfermo rehusó la técnica. No hubo ninguna perforación (0%), y sólo 2 hemorragias, una autolimitada (5,5-11%). La resección fue completa en el 89% de los casos.

Conclusiones: La resección endoscópica mediante polipectomía asistida por USE puede ser más fácil y segura que cuando no se utiliza el estudio ultrasónico. La USE define y asegura el tratamiento endoscópico y permite el seguimiento.