

Tubercular disease caused by bacillus

of Calmette-Guérin administered as a local adjuvant treatment of relapsing bladder carcinoma. Pathogenetic, diagnostic and therapeutic issues, and literature review

Short title: Bacillus Calmette-Guérin disease after intravesical instillation

Roberto Manfredi¹, MD, Nicola Dentale¹, MD, Benedetta Piergentili¹, MD, Cristian Pultrone², MD, Eugenio Brunocilla², MD

¹Department of Internal Medicine, Aging, and Nephrologic Diseases, Division of Infectious Diseases, "Alma Mater Studiorum" University of Bologna, S. Orsola-Malpighi Hospital, Bologna, Italy

²Department of Surgical and Anesthesiological Sciences, Division of Urology, "Alma Mater Studiorum" University of Bologna, S. Orsola-Malpighi Hospital, Bologna, Italy

Conflict of interest, sponsorship, fundings, acknowledgements: none

Correspondence:

Roberto Manfredi, MD

Associate Professor of Infectious Diseases, University of Bologna

c/o Division of Infectious Diseases, S. Orsola Hospital. Via Massarenti, 11

I-40138 Bologna, Italy. Telephone: +39-051-6363355 / Telefax: +39-051-343500

E-mail: Roberto.manfredi@unibo.it

Recibido: 08/08/2009

Aceptado: 02/10/2009

Abstract

Two exemplary case reports of respiratory granulomatous infection caused by bacillus of Calmette-Guérin (BCG) in patients who were repeatedly treated with local, intravesical adjuvant BCG therapy for a relapsing transitional bladder carcinoma, are outlined and discussed, on the ground of the cumbersome diagnostic and differential diagnostic process (especially when a prior tuberculosis and a concurrent chronic obstructive pulmonary disease are of concern), and an updated literature revision. Only four cases of respiratory BCG-itis (pulmonary tuberculosis-like forms), have been reported until now to the best of our knowledge (two of them following bladder instillation of BCG). One episode of ours represents the first described case with a dual, concomitant granulomatous localization of BCG-itis, also involving the genitourinary tract.

Key words: Bacillus of Calmette-Guérin, bladder carcinoma, local therapy, infection dissemination, BCG-itis, pulmonary and genito-urinary localizations, differential diagnosis

Introduction

Bladder carcinoma is represented in around 90% of cases by urothelial forms (characterized by transitional cells), which usually have a multifocal occurrence and course. At the time of diagnosis, over two thirds of these malignancies have a superficial (mucosal or laminar) localization. The conventional management of localized bladder carcinoma relies on the trans-urethral resection, followed by an endovesical therapy (either cytotoxic or immune therapy, especially recommended in more advanced forms).

The bacillus of Calmette-Guérin (BCG) is an attenuated strain of *Mycobacterium bovis* (a potentially pathogenic *Mycobacterium* in humans), initially produced as a vaccine against tuberculosis, and largely employed with this indication since over seven decades, until now¹⁻⁶. Given to its local immunomodulatory properties, BCG preparations are administered as a part of an adjuvant treatment of bladder adenocarcinoma since the year 1972⁷, through repeated local intravesical instillations. During the last 36 years, a number of clinical trials confirmed the efficacy of local BCG treatment in reducing both progression and recurrences of bladder carcinoma⁸⁻¹². In particular, the rationale of local adjuvant treatment carried out with cycles of intravesical instillations of BCG solution, aims to strengthen the specific anti-neoplastic immune response, in the attempt to eradicate residual disease foci, and reduce the risk of subsequent cancer relapses^{11,12}. The BCG preparations administered in form of intravesical instillations are indicated until now for the adjuvant management of bladder carcinoma with superficial localization, i.e. *in situ* carcinoma, papillary carcinoma limited to mucosa (stage

Ta), papillary carcinoma extended to lamina propria, but not involving muscular layers (stage T1), or every combination of the above-mentioned conditions^{11,12}. During the subsequent urological follow-up, despite specific treatment, around 50-70% of these neoplasms have a relapse, often burdened by a progression of tumoral grading¹¹⁻¹³.

As to the immunopathologic rationale of BCG administration against bladder carcinoma, the local immune response elicited by BCG starts with phagocyte cell activation¹⁰. After recognizing some BCG antigens the phagocytes trigger the secretion of a cascade of numerous cytokines, including interleukin-12, interferons, and the tumoral necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). The next step in the elicited immune response is represented by the induced polarization of T-helper-0 (Th-0) lymphocytes towards T-helper-1 (Th-1) lymphoid cells. The expansion and activation of Th-1 lymphocyte subset is able to potentiate the anti-neoplastic response carried out by T-cytotoxic lymphocytes (CTL) and that of the so-called natural killer (NK) cells, through the release of a series of other cytokines, with a relevant role played by interleukin-2^{10,12,14,15}.

Aim of our work is to present two exemplary case reports of patients treated with local BCG immunotherapy for a relapsing urothelial bladder carcinoma, who developed a severe *M. bovis* respiratory infection, whose diagnostic pathway was particularly complicated due to co-existing chronic pulmonary diseases (prior pulmonary tuberculosis, and chronic obstructive pulmonary disease or COPD), and a second, BCG-related isolated genito-urinary lesion retrieved in one case of ours.

Case reports

First case report

A 77-year-old patient with a superficial, relapsing bladder adenocarcinoma (stage T1, grade 2), known since three years, suffered from three local relapses of the urothelial cancer, always managed with local endoscopic surgery, and later submitted to an adjuvant BCG treatment, lasting since 18 months. After his last month of his weekly cycles of local, endovesical immunotherapy with BCG instillations (75 mcg of BCG diluted with 50 mL of saline), he was hospitalized in the year 2008 because of the appearance and the rapid worsening of hyperpyrexia, malaise, weight loss, and toxemia, which were not responsive to two attempts of empiric broad-spectrum antimicrobial chemotherapy, carried out with levofloxacin (10 days), followed by ceftriaxone (three days).

After an initial standard chest X-ray study which showed a comprehensive picture of COPD, and multiple upper lobes fibrotic lesions compatible with a prior pulmonary tuberculosis, a high-resolution CT scan (HRCT) and a contrast-enhanced thorax CT scan demonstrated a diffuse involvement of all lung parenchima by an extremely elevated number of small, punctiform nodular lesions, extremely suggestive of miliary mycobacterial/tubercular disease (**Figure 1**). Multiple radiological signs of a prior lung tuberculosis were present at upper lobes: they included extensive fibrosis, diffuse centrilobular emphysematous lesions, and diffuse pleural thickening with sparse calcifications, while mediastinal lymph nodes were within normal limits, although some calcified nodes were shown.

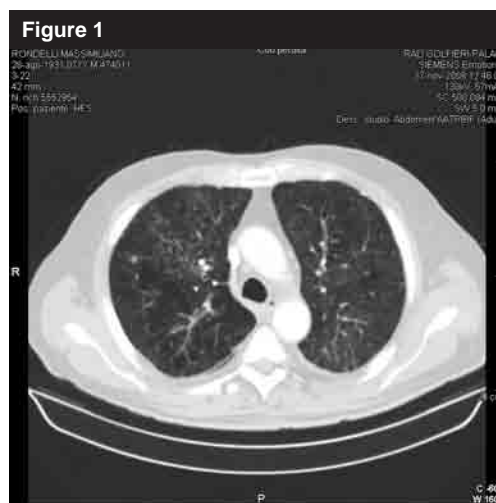
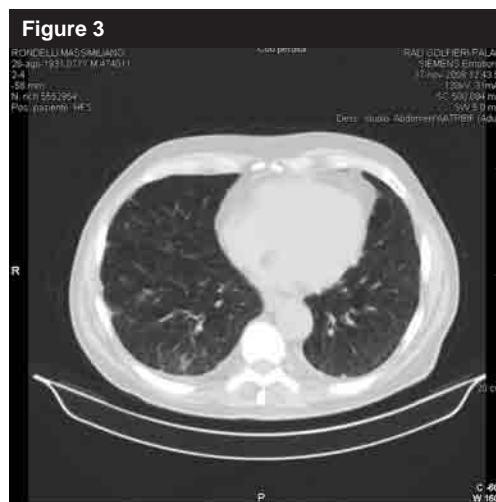
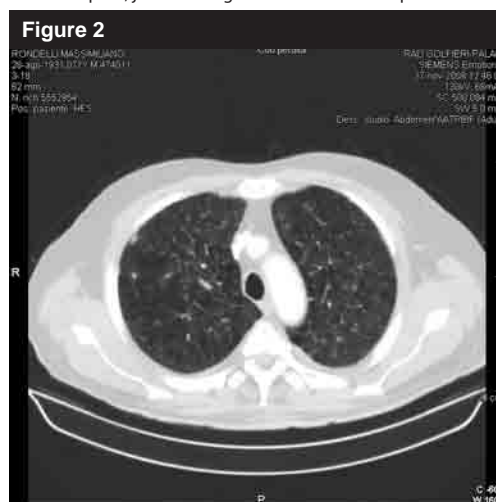


Figure 1. A contrast-enhanced CT scan of the thorax of our first patient. Multiple, micronodular miliary BCG localizations are shown, reproducing the picture of a miliary tuberculosis. A concurrent chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and fibrotic remnants of a prior, juvenile lung tuberculosis are also present.



A contrast-enhanced CT scan of the abdomen and pelvis did not show lesions compatible with further miliary BCG lesions involving abdominal organs: an uniform, mild thickening of bladder walls was evident, as expected by the known underlying, relapsing urothelial carcinoma.

Blood and urine cultures, and also microbiological examination of a transbronchial biopsy specimen and bronchoalveolar lavage (BAL) fluid, did not allow the recognition and

culture of any microorganisms, including mycobacteria. On the other hand, an elevated number of lymphoid cells, histiocytes, reactive bronchial cells, and cylindrical cells of bronchial epithelium was demonstrated at BAL study, while a granulomatous-tubercular like picture with lymphoid-histiocyte-giant cell infiltrate was demonstrated at histopathology.

On the other hand, a mild positivity of Mantoux intradermal reaction, was confirmed by a frankly positive interferon-gamma-release assay (IGRA, QuantiFERON-TB Gold, Cellestis, Vic., Australia)¹⁶.

General laboratory examinations showed only an elevated serum C-reactive protein (6.76 mg/dL), but a normal ESR, and no significant abnormalities of total leukocyte count and differential.

On the ground of a diagnosis of miliary pulmonary BCG-itis, a treatment was immediately started with associated rifampicin, isoniazid, ethambutol, and levofloxacin. The treatment was well tolerated from a clinical and laboratory point of view, and after three weeks our patient achieved a progressive defervescence, an amelioration of respiratory signs and symptoms, and a slowly progressive resolution of pathological signs at subsequent imaging examinations, allowing hospital discharge and an outpatient follow-up. Anti-tubercular therapy lasted for a comprehensive period of 9 months (during the last three months it was conducted with rifampicin-isoniazid only), and was well tolerated. A novel HRCT, repeated after six weeks, showed an almost complete disappearance of parenchymal miliary lesions, while the remaining abnormalities, mostly referred to COPD and prior tuberculosis, remained unchanged. Bladder carcinoma remained under control until the last urological visit end endoscopy, carried out two months after hospital discharge.

Second case report

A 58-year-old man with a superficial, multifocal, transitional carcinoma of the bladder already relapsed since 4-5 years, started a local immunotherapy with endovesical BCG instillations around one year before the occurrence of the BCG-related complications. After a first cycle of six weeks of BCG administrations followed by a three-month interval, the treatment was resumed with one BCG instillation per month, and always proved sufficiently well tolerated, save some intercurrent episode of mild and self-limiting hematuria. Three months later, after demonstrating a local tumoral recurrence, which required a cycle of intravesical mitomycin therapy at standard dosages, a further series of BCG immunotherapy cycles was proposed (81 mcg of BCG diluted with 50 mL of saline solution). During this last adjuvant BCG therapy, our patient showed a fastidious, minimally productive cough, associated with overwhelming fever, not responsive to large-spectrum empiric antibiotic therapy with ciprofloxacin and beta-lactams. Owing to the persistence of these signs and symptoms, our patient was hospitalized at the end of year 2002.

The clinical history pointed out a probable pulmonary tuberculosis three decades before, whose diagnosis was mainly based on imaging and clinical remnants. Three years before

admission, a spontaneous pneumothorax (as a complication of a chronic, bullous pulmonary emphysema), required a surgical intervention, which included a pleural decortication. Upon admission, a first chest X-ray film showed multiple specific sequelae, including bilateral, apical pleural thickening, together with a diffuse chronic obstructive pulmonary disease (COPD), with co-existing chronic bronchitis and an evident emphysematous evolution. A HRCT of the thorax gave a better picture of the diffuse, emphysematous COPD prevailing at upper lobes, where areas of paramediastinic, paracardiac, and centrilobular emphysema determined a number of bullous lesions, with underlying extensive fibrous hyperdense bands. Multiple calcified lymph nodes were detected in various thoracic sites, as signs of the prior, juvenile tubercular disease.

Notwithstanding a negative Mantoux intradermal reaction, the clinical picture of cough, fever, and later dyspnea posed a suspicion of pulmonary BCG-itis, in a patient with prior lung tuberculosis, a concomitant COPD, and a moderately elevated ESR (30, first hour). As a consequence, an initial association therapy including rifampicin, isoniazid, ethambutol, streptomycin and ciprofloxacin was started, together with supportive treatments. A bronchoscopy with transbronchial biopsies and BAL, allowed to recognize a histopathological picture of multiple-foci chronic granulomatous pneumonia with evidence of nodular-epithelioid and necrotizing evolution, a macrophage and giant-cell tubercular-like infiltrate, with associated diffuse endoalveolar fibrosis. Further investigations performed on BAL fluid showed a prevalence of macrophage and lymphoid cells, together with cylindrical bronchial cells, but both microscopical and culture search tested negative, for mycobacteria too.

One week later, a second HRCT pointed out the appearance of a dishomogeneous parenchymal infiltrate at the right side, associated with a modest homolateral pleural reaction. Both blood and urine cultures performed upon hospitalization tested negative, while a specific mycobacterial serodiagnosis performed with the TB-test A60 available at that time¹⁷ proved frankly positive, demonstrating elevated specific IgG-IgM antibody titers. Due to persisting of irregular hyperpyrexia, and the worsening of cough and dyspnea, complicated by hypoxemia (PaO₂ 70 mmHg), a low-dose steroid therapy was added. Three weeks after the first HRCT, a further thorax imaging showed a worsening, due to a diffuse centro-alveolar emphysema at upper lobes, associated with multiple consolidative parenchymal areas involving medium and lower lobes, with predominant sub-pleural localization. Diffuse central-lobular micronodules were present together with a diffuse gross interstitial involvement, compatible with a subacute pneumopathy, complicated with a fibrotic evolution. Despite ongoing antimicrobial and steroid treatment, two weeks later another HRCT showed an extension of consolidative infiltrates at postero-lateral segments of lower pulmonary lobes.

After a slow, but progressive amelioration of clinical-respiratory picture, after 5 weeks of hospitalization our patient was discharged with the indication to continued anti-tubercular therapy for one comprehensive year. The subsequent follow-up included a satisfactory tolerability of anti-tubercular therapy (reduced to isoniazid and ethambutol only,

during the last three months). One year after discharge, a novel HRCT showed an advanced, diffuse centro-lobular and subpleural emphysematous lesions, in absence of parenchymal infiltrates and nodular lesions, and relevant, novel mediastinal adenopathies. However, a functional respiratory assessment pointed out a limitation of respiratory flow at low-medium pulmonary volumes, and a compromised alveolar-capillary diffusion, when compared with the same evaluation performed one year before. A perfusional scintigraphy documented a diffuse dishomogeneity of distribution of labelled macroalbumin aggregates, with a pulmonary differential diffusion limited to 50%.

From the urologic point of view, a double biopsy of an indolent, penile nodule performed three months before discharge, confirmed another localization of a tuberculosis-like granulomatous lesion at histopathologic studies. Therefore, BCG-itis was responsible for two, concurrent different disease localizations (pulmonary, and genital ones), both following a potential hematogenous dissemination of attenuated BCG bacilli.

Six years after discharge (in December 2008), our patient has a stable remission of his bladder carcinoma, and no sign of activity of prior BCG-caused distant-site localization was appreciated. The penile lesion was cured, while the HRCT control confirmed a severe COPD, complicated by multiple fibrous-calcific reliquates, and the functional respiratory tests remained significantly compromised.

Discussion

The anti-tubercular vaccine BCG, largely employed in the immunization of children and adults in areas which are endemic for tuberculosis, and in the prevention of disseminated, miliary, and central nervous system disease in health care personnel and other subjects with a potential professional or familial exposure to tuberculosis¹⁻⁴, suffers from a non-negligible rate of untoward events, more frequently represented by local inflammatory lesions interesting the injection and regional sites, usually associated with fever and satellite adenopathy (sometimes evolving into a suppurative form), while focal, long-distance localizations are significantly more infrequent, followed by extremely rare episodes of systemic dissemination of the attenuated *M. bovis* bacillus (the so-called BCGitis), usually developing in patients with an underlying primary-secondary immunodeficiency^{5,18}, but sometimes observed also in apparently immunocompetent subjects³⁻⁵.

A recent surveillance project conducted in Ireland on a broad pediatric population which underwent BCG vaccination⁴, after a median latency of 13 weeks showed the onset of either lymphadenitis (suppurative or non-suppurative forms), or abscesses at the inoculum site, or both complications, with a crude frequency of one case every 931 children who received BCG (while one subject of 1,543 developed a suppurative adenitis, which required surgical intervention in around one half of cases)⁴.

Again in developmental ages, a Canadian study⁵ allowed to observe also cases of bone localization and systemic dissemination of vaccinal BCG, which in some cases led to a

fatal evolution in subjects belonging to selected local native communities (Inuit citizens)⁵.

However, episodes of BCG-itis with thoracic and in particular respiratory, simil-tubercular localization have been reported with an extremely low frequency by the international literature^{18,19,21,22}, while the cases of pulmonary-extrapulmonary tuberculosis caused by *M. tuberculosis* and occurring despite prior BCG vaccination are not so infrequent, so that the overall effectiveness of BCG vaccination remains under discussion²⁰.

Among the extremely rare episodes of BCG-induced pulmonary tuberculosis, a careful literature search shows: one episode in a patient with a malignant hematological disease who underwent a prolonged immunosuppressive treatment with alemtuzumab¹⁹, an anecdotal case of systemic, lethal BCG-itis in a 18-year-old patient with a primary immunodeficiency, who also experienced a respiratory localization¹⁸, one episode of pulmonary and disseminated BCG disease occurred just in a patient treated with intravesical BCG instillations²¹, and a second case of granulomatous BCG pneumonia diagnosed after several cycles of local BCG therapy of an urothelial bladder carcinoma²², leading the published episodes to a global number of four cases only^{18,19,21,22}, two of them caused by intravesical BCG administration^{21,22}, as occurred in both our patients.

As a consequence, a respiratory BCG infection, especially when isolated, represents an extremely infrequent occurrence, burdened by a very cumbersome differential diagnosis, especially when the involved patients are affected by concomitant chronic respiratory disorders (i.e. COPD), or suffered from a prior lung tuberculosis (as in both cases reported by ours), or when immunodeficiency-related conditions or a severe general wasting caused by underlying illness are of concern. In all these circumstances, the BCG invasiveness is greater, whereas a rapid recognition and a timely differential diagnosis and specific treatment may be delayed.

When focusing our attention on the therapeutic use of BCG in the local management strategies of superficial, urothelial carcinoma of the bladder, an extensive study performed by Lamm *et al.* in the year 1992²¹, for the first time faced systematically the untoward events following BCG instillation in a population of even 2,602 treated patients. In the 95% of reported BCG courses, fever and malaise were commonly registered in the days immediately following BCG therapy. Severe BCG complications regarded a minority of cases. With regard to the genito-urinary district, a granulomatous prostatitis occurred in 0.9% of treated patients²¹ (while no cases of penile localization occurred, as compared with the second case of ours), while long-distance localizations proved extremely rare: a pneumonia or a granulomatous hepatitis were recognized in 0.7% of overall examined patients (only one case of BCG pneumonia was reported), while a BCG sepsis and disseminated infection was an extremely rare occurrence (0.4% frequency)²¹.

In the year 1997, Allouc *et al.*²³ reported their series which included 148 urologic patients who received local BCG due

to a relapsing superficial bladder carcinoma, followed for a mean period of 40 months. Local, intravesical, and/or follicular reactions were detected in 46% of cases, but they had a favorable prognosis, since only slightly more than 10% of episodes required a specific anti-tubercular treatment²³. Of interest in relationship with both our case reports, the authors observed that the BCG complications which involved these cancer patients were significantly more frequent when a prior tuberculosis was recognized (on either clinical or especially imaging basis) (up to 50% of cases), when compared with patients with a negative clinical history and chest imaging of a previous tubercular illness 13.8% of cases only²³.

From a pathogenetic point of view, also reliable animal models have demonstrated that the exposure to mycobacterial antigens (including those of *M. bovis*), may exacerbate the clinical expression of a pulmonary *M. tuberculosis* disease (and mycobacterial diseases as a whole), due to the demonstrated immune activation mechanisms which increase the respiratory inflammation process via the secretion of large amounts of TNF-alpha and other proinflammatory cytokines, concurrently blunting most of defense mechanism, and the containment of local pulmonary mycobacterial load²⁴.

After the first relevant survey conducted on over 2,600 urologic cancer patients by Lamm *et al.*²¹, single case reports have been published in the international literature regarding anecdotal episodes of respiratory involvement (BCG pneumonia)²², granulomatous hepatitis^{25,26}, renal involvement (granulomatous nephritis)²⁷, bone marrow invasion concurrent with liver disease²⁸, local ocular involvement (corioretinitis)²⁹, and also vascular damage, mostly represented by aneurismatic lesions (of either native or prosthetic large vessels)^{30,31}, in one single episode associated with vertebral osteomyelitis, too³¹. Finally, secondary to the local (intravesical) BCG administration, also isolated episodes of severe sepsis and disseminated BCG infection occurred anecdotally^{21,32,33}.

From a practical point of view, when BCG preparations are used as a local adjuvant therapy (mostly repeated cycles of endovesical instillation), these attenuated mycobacteria may gain access to the local hematic-lymphatic vessels, and subsequently have a systemic dissemination, in rare (but non impossible) occurrences. Although infrequently, these events may find a support when uroepithelial lesions are present (as happens in subjects treated for a bladder carcinoma with either surgery or chemotherapy), and when a state of general immunosuppression or reduced defence favored by the underlying disease and its treatment (either surgical, invasive, or cytotoxic ones), are of concern. When these subjects treated with local BCG instillations develop a local, distant, or disseminated inflammatory process, which sometimes may start with an apparently isolated fever and in absence of organ-site signs-symptoms, and it is refractory to an empirical wide-spectrum antimicrobial chemotherapy, an organ or disseminated BCG infection (although rare), should be always taken into careful consideration^{33,34}. As anticipated, particular attention should be deserved to subjects with a history of tuberculosis (as happened in both our patients), since they seem to have a greater risk to develop mycobacterial disease related to

BCG administration²³. In fact, also physicians' and patients' informations included in the drug package commercialized in Italy, in its 2007 update, underline that "...patients must alert their physician as soon as possible when a worsening or a persistence of pre-existing signs and symptoms occur, and also when one of these symptoms becomes evident..., including cough. A persisting cough after vesical BCG instillation might be a sign of a severe BCG infection; should a BCG infection is confirmed, an immediate treatment with appropriate anti-tubercular drugs is needed...".

As to specific treatment options, the *M. bovis* strain contained in BCG preparations, proves *in vitro* susceptible to almost all available anti-tubercular compounds, save the relevant exception of pyrazinamide and some other agents expressing anti-mycobacterial activity, like some aminoglycosides and some fluoroquinolone derivatives³⁵. In the current clinical practice, a three-month long therapy conducted with at least two active drugs (i.e. rifampicin and isoniazid), tested effective in the majority of cases of local (urinary) BCG disease, according to an extensive French experience²³, but in our patients the severe pulmonary localizations were overlapped by an underlying COPD, while in the second presented case a concurrent penile BCG granulomatous lesion required up to 8-12 months of anti-tubercular treatment, which was well tolerated from a clinical-laboratory point of view.

When considering possible preventive measures in urological patients, a recent randomized study conducted in France allowed to observe that the administration of the fluoroquinolone ofloxacin after every endovesical BCG instillation, significantly reduced the most severe and the systemic complications linked to this adjuvant therapy³⁶; unfortunately, no other literature evidences are present, to support this procedure.

In the particular case reports observed by us, both patients had concurrent radiological (HRCT) sequelae of a prior pulmonary tuberculosis, and both subjects were also affected by a long-lasting COPD (with a severe emphysematous-bulbous evolution in the second case), which made the recognition of a pulmonary BCG-itis characterized by an extensive miliary or interstitial-nodular involvement, more difficult. The histopathological studies pointed out a granulomatous-necrotizing nodular-epithelioid pneumonia with diffuse macrophage, histiocyte, and giant cell infiltration, followed in the second patient by endoalveolar fibrotic organization. In both patient, the BAL examination demonstrated a prevalence of lymphoid cells, histiocytes, reactive bronchial cells, and cylindrical cells of bronchial epithelium, in the apparent absence of mycobacteria at both microscopic and culture examinations.

At a moderately positive Mantoux intradermal reaction (first case) and a negative Mantoux testing (second case), were added a positive *in vitro* T-lymphocyte testing (Quantiferon) in the first reported case¹⁷, and an elevated, positive specific serodiagnosis for mycobacteriosis in the second patient, according to the available laboratory testing in that period (year 2001)¹⁶. With regard to the positive interferon-gamma-release assay (IGRA) of our first patient, we underline that our case report is the first one with a BCG-related organ complication

diagnosed with the contribution of such a laboratory testing, to the best of our literature knowledge.

With regard to the clinical course and outcome, in both our cases the miliary and nodular-infiltrative picture of the first patient, and the granulomatous-fibrosant evolution of the second patient, had a slowly progressive clinical and imaging amelioration thanks to the well-tolerated associated anti-tubercular therapy, although the follow-up time of our first patient is limited to two months, compared with the more prolonged observation time of the second patient of ours. In this last patient, no residual infiltrates were present at HRCT control after one year, but functional lung examinations showed evident abnormalities especially under physical exercise, which represented a permanent sequela of the BCG pneumonia, since they remained unchanged after a six-year follow-up.

When discussing the potential pathogenetic links between intravesical BCG immunotherapy and BCG disease with pulmonary and pulmonary-genitourinary localization (in the first and in the second patient, respectively), after the careful exclusion of other etiologies no doubt can raise, although a respiratory localization mimicking tuberculosis (a miliary form in the first case), have been described very infrequently. After a careful revision of international literature, we found only four episodes of respiratory disease induced by BCG^{18,19,21,22}, two of them apparently caused by local BCG immunotherapy of urothelial bladder carcinoma^{21,22}. As a consequence, our case reports represent the fifth and the sixth absolute described cases of pulmonary BCG-itis observed until now, and the third and fourth absolute episodes following BCG instillation as adjuvant, local therapy of a relapsing bladder carcinoma. Furthermore, the penile granulomatous BCG lesion makes our second reported case unique, since in this last patient the BCG-itis following local immunotherapy interested another distant site with a localized granulomatous involvement, other than the respiratory one.

When assessing the pathogenetic mechanisms which relate the local BCG immunotherapy with an eventual occurrence of tuberculosis-like localizations, we have to remind that BCG preparations are based on attenuated *M. bovis* strains, which have lost most of their virulence, but still remain alive microorganisms. Interestingly, a localized and/or systemic BCG-itis may be not necessarily linked to a massive, direct mycobacterial infection, but it usually depends on an exceedingly elevated hypersensitivity reaction to a gross mycobacterial antigenic load: this perspective may also explain the frequent difficulty to retrieve BCG strains from pathological lesions by current microbiological techniques (i.e. microscopy and culture search), as happened in both our case reports. In the particular circumstance of neoplastic patients who underwent repeated local BCG instillation through invasive local interventions (i.e. cystoscopy, bladder catheterization), or during or after cytotoxic chemotherapy with secondary mucosal lesions, all these conditions may contribute to a hypersensitization against BCG antigens (beyond the possible hematogenous and/or lymphatic dissemination, as happens in the spontaneous miliary disease). Anyway, the massive mycobacterial antigen load, may lead *per se* to the formation of the characteristic giant-cell tubercular granulomas also in

distant organs and sites, especially should a prior tuberculosis has been suffered in the past²³.

As anticipated, local-regional adverse reactions to BCG vaccine used to prevent tuberculosis in endemic areas or among exposed subjects, are proportionally common also in otherwise healthy people of each age³⁻⁵, while a systemic involvement including hyperpyrexia, severe cough, respiratory distress, hemodynamic imbalance and mental status disturbances strongly suggest a pulmonary and/or disseminated BCG disease, which needs an elevated clinical suspicion for a prompt recognition, a rapid diagnostic confirmation, and a tempestive and prolonged association anti-tubercular therapy, with the preliminary workout to be realized preferably under a hospitalization regimen.

At the start of the third millennium, given the limits of efficacy and the non-negligible risks related to the continued use of BCG in the general population (as a vaccine), and in selected patients (i.e. adjuvant immunotherapy of bladder carcinoma), the need to prosecute research projects which may lead to the development of novel vaccines for the prevention of tuberculosis (an emerging and re-emerging disease in the last years, also in industrialized countries)³⁷, become more and more warranted. More immunogenic compounds, improved protection against tuberculosis and ameliorated clinical efficacy as an adjuvant therapy, and especially more safe preparations when compared with standard BCG preparations (used since over 70 years), are strongly needed^{1-3,6}.

References

1. Hoft DF. Tuberculosis vaccine development: goals, immunological design, and evaluation. *Lancet* 2008; 372:164-175
2. Ritz N, Hanekom WA, Robins-Browne R, Britton WJ, Curtis N. Influence of BCG vaccine on the immune response and protection against tuberculosis. *FEMS Microbiol Rev* 2008; 32:821-841
3. Brimnes N. BCG vaccination and WHO's global strategy for tuberculosis control 1948-1983. *Soc Sci Med* 2008; 67:863-873
4. Bolger R, O'Connell M, Menon A, Butler J. Complications associated with the bacille Calmette-Guérin vaccination in Ireland. *Arch Dis Child* 2006; 91:594-597
5. Deeks SL, Clark M, Scheifele DW, Law BJ, Dawar M, Agmandipour N, Walop W, Ellis CE, King A. Serious adverse events associated with bacille Calmette-Guérin vaccine in Canada. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24:538-541
6. Brennan MJ. The tuberculosis vaccine challenge. *Tuberculosis (Edinb)* 2005; 85:7-12.
7. Morales A, Eiding D, Bruce AW. Intracavitary bacillus Calmette-Guérin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol* 1976; 116:180-183
8. Baniel J, Grauss D, Engelstein D, Sella A. Intravesical bacillus Calmette Guérin treatment for Stage T1 grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 1998; 52:785-789
9. Iori F, Di Seri M, De Nunzio C, Leonardo C, Franco G, Spalletta B, Laurenti C. Long term maintenance bacille Calmette Guérin therapy in high-grade superficial bladder cancer. *Urology* 2002; 59:414-418
10. Simons MP, O'Donnell MA, Griffith TS. Role of neutrophils in BCG immunotherapy for bladder cancer. *Urol Oncol* 2008; 26:341-345

11. Dalbagni G. The management of superficial bladder cancer. *Nat Pract Urol* 2007; 4:254-260.
12. Irani J. Management of Ta, T1, and *in situ* bladder carcinoma; what is new? *Prog Urol* 2008; 18 (Suppl. 5):S94-S98
13. Jakse G, Loindi W, Seeber G. Stage T1 grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder: an unfavorable tumor? *J Urol* 1987; 137:39-43
14. Mungan NA, Witjes JA. Bacille Calmette-Guérin in superficial transitional cell carcinoma. *Br J Urol* 1998; 82:213-223
15. Schamhart DHJ, De Boer EC, De Reijke TM, Kurt KH. Urinary cytokines reflecting the immunological response in the urinary bladder to biological response modifiers: their practical use. *Eur Urol* 2000; 37:16-23
16. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med* 2008; 149:177-184
17. Okuda Y, Maekura R, Hirotani A, Kitada S, Yoshimura K, Hiraga T, Yamamoto Y, Itou M, Ogura T, Ogihara T. Rapid serodiagnosis of active pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* by analysis of results from multiple antigen-specific tests. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1136-1141
18. Mackay A, Macleod T, Alcorn MJ, Laidlaw M, Macleod IM, Millar JS, Stack BH, White RG. Fatal disseminated BCG infection in an 18-year-old boy. *Lancet* 1980; ii:1332-1334
19. Abad S, Gyan E, Moachon L, Bouscary D, Sicard D, Dreyfus F, Blanche P. Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* after alemtuzumab administration. *Clin Infect Dis* 2003; 37:e27-e28
20. Kato Y, Horikawa Y, Nishimura Y, Shimoda H, Shigeto E, Ueda K. Sternal tuberculosis in a 9-month-old infant after BCG vaccination. *Acta Paediatr* 2000; 89:1495-1497.
21. Lamm DL, Van der Meijden PM, Morales A, Brosman SA, Catalona WJ, Herr HW, Soloway MS, Steg A, Debruyne FM. Incidence and treatment of complications of bacillus Calmette-Guérin intravesical therapy in superficial bladder cancer. *J Urol* 1992; 147:596-600
22. Martín Escudero JC, Pérez Peredes G, Asensio Sánchez T, Herreros Fernández V. Granulomatosis pneumonitis due to BCG. *An Med Interna* 2003; 20:105-106
23. Allouc H, Benoit G, Paradis V, Blanchet P, Jardin A. Risk of complications during endovesical treatment with BCG for superficial tumor of the bladder. *Presse Med* 1997; 26:1284-1288
24. Moreira AL, Tsenova L, Aman MH, Bekker LG, Freeman S, Mangaliso B, Schröder U, Jagirdar J, Rom WN, Tovey MG, Freedman VH, Kaplan G. Mycobacterial antigens exacerbate disease manifestations in *Mycobacterium tuberculosis*-infected mice. *Infect Immun* 2002; 70:2100-2107
25. Hunt JS, Silverstein MJ, Sparks FC, Haskell CM, Pilch YH, Morton DL. Granulomatous hepatitis: a complication of BCG immunotherapy. *Lancet* 1973; ii:820-821
26. Leebeek FW, Ouwendijk RJ, Kolk AH, Dees A, Meek JC, Nienhuis JE, Dingemans-Dumas AM. Granulomatous hepatitis caused by bacillus Calmette Guèrin (BCG) infection after BCG bladder instillation. *Gut* 1996; 38:616-618
27. Soda T, Hori D, Onishi H, Miyakawa M. Granulomatous nephritis as a complications of intrarenal bacille Calmette-Guérin therapy. *Urology* 1999; 53:1228
28. Dederke B, Riecken EO, Weinke T. A case of BCG sepsis with bone marrow and liver involvement after intravesical BCG instillation. *Infection* 1998; 26:54-57
29. Guex-Croisier Y, Chamot L, Zografos L. Chorioretinitis induced by intravesical Bacillus Calmette-Guérin (BCG) instillations for urinary bladder carcinoma. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2003; 220:193-195
30. Wolf YG, Wolf DG, Higginbottom PA, Dille RB. Infection of a ruptured aortic aneurysm and an aortic graft with bacillus of Calmette-Guérin after intravesical administration for bladder cancer. *J Vasc Surg* 1995; 22:80-84
31. Rozenblit A, Wasserman E, Marin ML, Veith FJ, Cynamon J, Rozenblit G. Infected aortic aneurysm and vertebral osteomyelitis after intravesical bacillus Calmette-Guérin therapy. *Am J Roentgenol* 1996; 167:711-713
32. Paterson DL, Patel A. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) immunotherapy for bladder cancer: review of complications and their treatment. *Aust NZ J Surg* 1998; 68:340-344
33. Garyfallou GT. Mycobacterial sepsis following intravesical instillation of bacillus Calmette-Guérin. *Acad Emerg Med* 1996; 3:157-160
34. Di Comite G, Sabbadini MG. Poorly attenuated BCG: a case report. *Journal of Medicine & The Person* 2003; 1:29-32
35. Van der Meijden APM. Practical approaches to the prevention and treatment of adverse reactions to BCG. *Eur Urol* 1995; 27 (Suppl. 1):23-28
36. Colombel M, Picard A. Prevention of Bacillus Calmette-Guérin immunotherapy complications. *Prog Urol* 2008; 18 (Suppl. 5):S105-S110
37. Sabbatani S, Manfredi R, Legnani G, Chiodo F. Tuberculosis in a metropolitan area of northern Italy: epidemiological trends and public health concerns. *Eur J Epidemiol* 2004; 19:501-503

Micobacteriosis sistémica

por *Mycobacterium avium* en paciente con SIDA Systemic mycobacteriosis for *Mycobacterium avium* in a AIDS patient

Mederos Cuervo LM, Pomier Suárez O, Trujillo Avalos A, Fonseca Gómez C, Montoro Cardoso, EH
Laboratorio Nacional de Referencia e Investigación de TB y Micobacterias
Centro Colaborador OPS/OMS
Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK)
Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba
Autor por correspondencia: Mederos Cuervo LM
e-mail: mederos@jpk.sld.cu

Recibido: 07/07/2009

Aceptado: 29/09/2009

Resumen

Se analizaron repetidas muestras procedentes de un paciente cubano con SIDA, para descartar la presencia de bacilos ácido alcohol resistente (BAAR), pasadas 2-3 semana en las muestras de esputo, líquido cefalorraquídeo y de hemocultivo que habían sido procesadas y cultivadas se detecta la presencia de algunas colonias, como resultado se obtuvo el aislamiento de una cepa micobacteriana no pigmentada, de crecimiento lento perteneciente al Grupo III de Runyon, esta cepas fueron clasificadas como *Mycobacterium avium* por los métodos convencionales establecidos para la identificación de cepas micobacterianas, como técnica confirmativa diagnóstica se utilizó el análisis de las fracciones de ácido micólicos por la técnica de cromatografía en capa delgada bidimensional. El objetivo fundamental de este estudio ha sido reportar el primer caso de micobacteriosis sistémica en un paciente cubano con SIDA.

Palabras claves: micobacterias oportunistas, SIDA, *Mycobacterium avium*.

Abstract

Several sputum and blood culture samples from a Cuban HIV/AIDS patient were analyzed to discard the presence of alcohol acid resistant bacillus. After 2-3 weeks the culture revealed in both kinds of samples some colonies from non-pigmented mycobacterium strain with slow growth and belonging to III Runyon Group. This strain was classified as *Mycobacterium avium* by conventional methods established for mycobacterium identification. To diagnostic confirmative method was used the analysis of fraction mycolic acid by bidimensional thin layer chromatography. The main objective of this study was to report the first case of systemic mycobacteriosis in a Cuban HIV/AIDS patient.

Key words: opportunistic mycobacteria, AIDS, *Mycobacterium avium*

Introducción

Las infecciones producidas por micobacterias atípicas, ambientales u oportunistas han tenido un significativo aumento, esto ha condicionado un incremento paralelo en la investigación y conocimiento de estos microorganismos, que ha conllevado una estandarización en los criterios y técnicas diagnósticos, y en los ensayos terapéuticos para cada las diferentes especies^{1,2}.

En la gran mayoría de los países desarrollados se ha descrito también un aumento importante en la incidencia de infecciones producidas por micobacterias oportunistas incluso en niños, a esta infección se le denomina "micobacteriosis", este aumento se ha relacionado a diferentes factores; incremento en la prevalencia de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la mejora de las técnicas de diagnóstico

y sobre todo el reconocimiento clínico de la enfermedad y su descripción en pacientes inmunocomprometidos en los cuales están incluidos pacientes con neoplasias, receptores de trasplantes, administración de esteroides y pacientes infectados con el virus de Inmunodeficiencia Humana²⁻⁵.

Aviumosis es la entidad clínica que es producida por *Mycobacterium avium*, en las últimas décadas su incidencia a aumentado considerablemente, precisamente después de la aparición de la pandemia por el virus de Inmunodeficiencia Adquirida. El agente causal de la "aviumosis" es *Mycobacterium avium*, generalmente esta infección se manifiesta como un cuadro localizado normalmente pulmonar en un huésped inmunológicamente normal, el huésped con algún tipo de inmunodeficiencia puede llegar a presentar

diseminación de la infección, en pacientes SIDA los casos de micobacteriosis son más críticos, recientemente muchas han sido las patologías clínicas en que esta especie micobacteriana se ha visto involucrada⁶⁻¹².

Es evidente que dentro de las especies pertenecientes al grupo III según clasificación realizada por Runyon, *Mycobacterium avium* encabeza la lista de especies micobacterianas más virulentas sobre todo en pacientes con déficit en su barrera inmunológica⁴.

El objetivo de nuestro trabajo es reportar el primer caso de micobacteriosis sistémica en un paciente cubano con SIDA tratado en nuestro Hospital Nacional de Referencia a Atención a Pacientes VIH-SIDA del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK).

Reporte del caso:

Varón blanco de 42 años de edad, raza blanca, diagnosticado como portador de VIH en Septiembre/2005 por pruebas serológicas y W. Blott confirmatorios de infección por VIH, este paciente ingresa en nuestro centro en Enero/2006 refiriendo antecedentes de cuadro de diarreas crónicas y pérdida de peso de más de un 10 % de su peso corporal, astenia, anorexia y fiebre ocasional en los últimos tres meses, interpretándose en aquel ingreso que estas manifestaciones clínicas estuvieran en relación con infección por micobacterias, por el estado depauperado del paciente (Síndrome de desgaste) y la bancarrota inmunológica, dada por un conteo de linfocitos T CD4+ en 10 % -146 cel/mm³, con valores de Carga Viral de 550 000 cp/ml, se consideró como un caso de debút clínico de SIDA. Los resultados de los exámenes complementarios realizados fueron: Hb 8.7 g/l, Htco 0.28, Eritrosegmentación 141mms, Leucograma 12.7 x10⁹ Seg 0.92, Linfo 0.08, Mono 0.00, Eos 0.00, TGO 15 u/l, TGP 13 u/l, LDH 99 u/l, por lo que se decidió poner tratamiento Antirretroviral de Alta Eficacia (TARGA) con Lamivudina (150 mg) + Estavudina (40mg) + Abacavir (200mg) a razón de una tableta de cada una cada 12 horas. En aquel momento se decidió además comenzar tratamiento anti tuberculoso primera fase con las cuatro drogas establecidas en el Programa Nacional de Tuberculosis: Isoniacida (150mg) 2 tabletas/día, Rifampicina (300mg) 2 tabletas/día, Ethambutol (200mg) 5 tabletas/día, y Piracinamida (500mg) 3 tabletas/día. Egresó el 25 de febrero/2006 con significativa mejoría clínica y de los parámetros hematológicos.

Posteriormente tuvo múltiples ingresos por cuadros de infección respiratoria baja, asociado a diarreas crónicas, síndrome febril prolongado, sudoración nocturna, además de referir mala adherencia a la TARGA.

El último ingreso fue el 24 de mayo/ 2008 presentando pérdida de peso importante, cuadro de toma sistémica de órganos como pulmón, riñón, médula ósea, peritoneo, hígado, con cuadros de hipoglicemia frecuentes, ascitis, derrame pleural, anemia importante que motivaron el empleo de múltiples esquemas de tratamiento antimicrobiano. Se concluye como caso SIDA con posible micobacteriosis diseminada, su último conteo de células CD4 fue de 9%-31 cel/mm³.

Repetidas muestras biológicas del paciente pulmonares como extrapulmonares fueron analizadas tanto para su cultivo bacteriológico, como también incluyendo la búsqueda de bacilos ácido alcohol resistente (BAAR) para descartar la posibilidad de una micobacteriosis, todas estas muestras fueron procesadas en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigación de TB y Micobacterias del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Todas las muestras fueron cultivadas a 37°C, las lecturas de los cultivos se realizaron semanalmente. En específico en las muestras de esputo, líquido cefalorraquídeo y hemocultivo, entre los 14-20 días se detectó en todos los tubos de cultivo el crecimiento de colonias cremosas, lisas, no pigmentadas, de crecimiento lento, la codificación de los cultivos osciló entre 6-7, para descartar la presencia de BAAR a partir de las colonias aisladas se realizó la coloración de Ziehl-Neelsen.

Para la clasificación e identificación de la cepa en estudio se utilizó el test de pruebas bioquímicas establecidas¹³. Para la confirmación diagnóstica se utilizó el estudio de las fracciones de ácidos micólicos micobacterianos mediante la técnica de cromatografía en capa delgada bidimensional según técnica descritas. La cepa aislada fue identificada como *Mycobacterium avium* tanto por las pruebas diagnóstica convencionales como por el patrón de las fracciones de ácidos micólicos micobacteriano encontrado¹⁴⁻¹⁶.

Tras de haber obtenido el diagnóstico realizado por el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de TB y Micobacterias del (IPK) el paciente fue sometido a tratamiento con Ciprofloxacina (500mg)/12 horas, Amikacina (500mg)/diario, Ethambutol (250mg)/4 tabletas diarias, Claritromicina (500mg)/ 12 horas, tratamiento que mantiene durante 8 semana a excepción de la Amikacina que solo se utilizó durante 45 días.

El paciente egresó el 20/10/08 ya con mejoría considerable de su estado general y de los valores de los estudios hematológicos. Hasta el momento el paciente ha mantenido la negatividad en todos los cultivos realizados.

La incidencia de infecciones por micobacterias no tuberculosas se ha incrementado dramáticamente en las últimas décadas en paralelo al incremento de la población de inmunocomprometidos, especialmente después del advenimiento de la pandemia de SIDA⁷. La frecuencia de la infección oportunista por el complejo MAC aumentó dramáticamente aunque, en la actualidad, el tratamiento con las combinaciones de antirretrovirales de alta potencia ha aliviado la situación. En estos pacientes se produce frecuentemente la infección diseminada, asociada a una gran mortalidad, sobre todo en los que presentan recuentos de linfocitos CD4 <100 células/mm³. Este agente infeccioso afecta principalmente al tracto gastrointestinal y al pulmón, se manifiesta con fiebre, diarrea, pérdida de peso, dolor abdominal, sudación nocturna, tos, en la enfermedad pulmonar pueden predominar lesiones fibrocavitarias, micronódulos y bronquiectasias¹⁷.

El Laboratorio de Micobacteriología juega un papel importante contra las enfermedades ocasionadas por micobacterias oportunistas principalmente en pacientes con deterioro en su barrera inmunológicas los cuales constituyen el mayor

grupo de riesgo. Estudios como este reafirman la importancia de fusionar los métodos convencionales diagnósticos establecidos para la clasificación e identificación micobacteriana, con algún método alternativo diagnóstico como es el estudio del patrón de las fracciones de ácidos micólicos, pues esto aporta una mayor información diagnóstica

References

1. Caminero JA. Micobacterias Atípicas. BSCP Can Ped 2001;25:237-248.
2. Medina Cruz MV, Sauret J, Caminero JA. Enfermedades producidas por micobacterias ambientales. Méd Clin (Barc) 1999;113:621-630.
3. Martín-Casanova N, Bahrmand AR, Benndsen J, Ostergaar V, Curcio M, Fauville-Dufaux M, Feldman K, Havelkova M, Katila ML, Pa-reira MF, Rodríguez F, Pfyffer GE, Portaels, Rosselló Urgell, Rusch-Gerdes, SGNTM, Tortoli E, Vincent V, Watt B. Non-tuberculous mycobacteria: patterns of isolation. A multi-country retrospective survey. Int J Tuberc Lung Dis 2004;8:1186-1193.
4. Katoch, VM. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM) Indian J Méd Res 2004;120:290-304.
5. Randall J O, Cernoch PL. Mycobacterial synovitis caused by show-growing nonchromogenic species: eighteen cases and a review of the literature. Arch Pathol Lab Med 2006;130:783-791.
6. Casal M. La aviomosis como infección emergente y su quimioterapia. Rev Esp Quimioterapia 1997;10:131-137.
7. Guthertz, I., B. Damsker, E., E. J. Bottone, E. G. Ford, T. F. Midura, and J. M. Janda. Mycobacterium avium and Mycobacterium intracellulare infections in patients with and without AIDS. J. Infect. Dis. . 1989;160:1037-1041.
8. Mederos LM, Rodríguez F, Blanco F, Cabrera J, Echemendia M, Montoro EH. Reporte de Mycobacterium avium-intracellulare asociado a micobacteriosis renal. Rev Cub Med Trop 2003;55:58-60.
9. Valerga M, Cugliari M, Cefalo E, Martín M. Infección por Mycobacterium avium en un paciente trasplantado renal. Enferm Infecc Microbiol Clin 2007;25:294-295.
10. Pérez I, Quintana-Beltrán P. Linfadenitis cervical por Mycobacterium avium en adulto. Enferm Infecc Microbiol Clin 2007;25 159-161.
11. Clark D, Lambert CM, Palmer K, Strachan R, Auki G. Monoarthritis caused by Mycobacterium avium complex in a liver transplant recipient. Br J Rheumatol 1993;32:1099-1100.
12. Barcat D, Mercie P, Constans J. Disseminated Mycobacterium avium complex infection associated with bifocal synovitis in a patient with dermatomyositis. Clin Infect Dis 1998;26:1004-1005.
13. Casal M, Guerrero A, Martín N, Moreno S, Nogales MC. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por micobacterias. En: Picazo JJ, editor. Procedimientos de la Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 1999.
14. Levy-Frebault V, Goh KS, David HL. Mycolic acid analysis for clinical identification of Mycobacterium avium and related mycobacteria. J Clin Microbiol 1986;24:835-839.
15. Valero-Guillén PL, Martín-Luengo F. Cromatografía en capa delgada y cromatografía de gases en la identificación de micobacterias de importancia clínica. Enferm Infecc Microbiol Clin 1987;5:67-72.
16. Leite CQF, Souza CWO, Leite SRA. Identification of mycobacteria by thin layer chromatography analysis of mycolic and conventional biochemical method: four years of experience. Mem Insts Oswaldo Cruz. 1998;93:801-805.
17. Han XY, J J Tarrand R, Infante K, L Jacobson, Truong M. Clinical significance and epidemiologic analyses of Mycobacterium avium and Mycobacterium intracellulare among patients without AIDS. J. Clin. Microbiol. 2005;43:4407-4412.

Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica

Órgano Oficial de las Sociedades Venezolanas
de Farmacología y de Farmacología Clínica y Terapéutica

Revista Internacional, arbitrada por expertos, de circulación internacional con áreas de interés en ciencias básicas y clínicas en Bioquímica, Fisiología, Fisiopatología y Farmacología, como también en Terapéutica médica, ensayos clínicos, ensayos toxicológicos, fármaco vigilancia.

Dando relevancia a estudios farmacológico clínicos y terapéuticos de drogas nuevas en hipertensión, enfermedad coronaria, diabetes, obesidad, síndrome metabólico, infecciones locales y sistémicas, procesos articulares degenerativos, enfermedades crónicas del sistema nervioso central.

Envíe su manuscritos de revisión, originales, cartas al editor al e-mail:

manuel.veloscom@gmail.com
veloscom@cantv.net

AVFT esta indexada en:

- 1) LIVECS
- 2) LILACS
- 3) BIREME
- 4) REDALYC
- 5) PERIODICA (UNAM, MEXICO)
- 7) LATINDEX
- 8) EXTRAMED
- 9) SCIELO

www.scielo.org.ve

Calidad de prescripción

de antimicrobianos en servicios seleccionados en hospitales clínico quirúrgicos

Quality of antimicrobials prescription in selected services in clinical surgical hospitals

Ioana Mir Narbona^a, Humberto Guancho Garcell^a, Yanet Chappi Estévez^b, Addys Díaz Piñera^{3b}, Sandra Rodríguez Uribe^{3b}, Irene Fiterre Lancis^c, Raimy Enseñat Sánchez^d, José Pisonero Sosias^e, Gilberto Pardo Gómez^e

Master en enfermedades infecciosas, ²Master en Epidemiología, ³Especialista en Higiene y Epidemiología, ⁴Master en Infectología, ⁵Licenciada en Farmacia, ⁶Especialista en Cirugía General, ⁷Doctor en Ciencias⁸Departamento de Epidemiología Hospital Docente Clínico Quirúrgico "Joaquín Albarrán, ^bInstituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, ^cServicio de Medicina Interna Hospital Docente Clínico Quirúrgico "Joaquín Albarrán, ^dDepartamento de Farmacia Hospital Docente Clínico Quirúrgico "Joaquín Albarrán, ^eServicio de Cirugía General Hospital Docente Clínico Quirúrgico "Joaquín Albarrán,

Dirección para correspondencia

Humberto Guancho Garcell

Apdo Postal 14072, Marianao 14. La Habana, Cuba

guancho@infomed.sld.cu

Recibido: 03/07/2009

Aceptado: 28/09/2009

Resumen

Objetivo: Evaluar la calidad de prescripción de antimicrobianos en dos hospitales universitarios clínico quirúrgicos de La Habana. **Método:** Estudio de prevalencia puntual de pacientes ingresados en los servicios de cirugía general, medicina interna, urología, y unidades de cuidados críticos, en junio 2008. Se obtuvo información de aquellos que utilizaban antimicrobianos, la que fue analizada por expertos, que determinaron aquellos con prescripción inadecuada. Se calculó la proporción uso de antimicrobianos y la proporción de prescripción inadecuada. **Resultados:** El 25,3% y 33,2% de los pacientes utilizaban antimicrobianos en los hospitales. El servicio de medicina interna del hospital B tuvo una proporción de uso (28.7%) superior al hospital A (6.06%). El hospital A tuvo frecuencias de uso inadecuado (77,1%) superiores ($p < 0,05$), siendo las causas fundamentales el uso sin evidencias de infección, la elección incorrecta del tratamiento y la profilaxis impropia. **Conclusión:** Se demuestran deficiencias en la calidad de prescripción que requieren fortalecer políticas institucionales, controles de calidad y programas formativos sobre antimicrobianos.

Palabras clave: antimicrobianos/calidad prescripción, hospitales

Abstract

Objective: To assess the quality of antimicrobials prescription in two university hospitals of Havana. **Method:** Punctual prevalence study were carry out in general surgery, internal medicine, urology, and critical care unit services, in June 2008. Information was obtained of those that used antimicrobials, the one that was analyzed by experts that determined those with inadequate prescription. It was calculated the proportion antimicrobials use and the proportion of inadequate prescription. **Results:** 25,3% and 33,2% of the patients used antimicrobials in hospitals. Internal medicine of the hospital B had an use proportion (28.7%) superior to the hospital A (6.06%). The hospital A highest frequencies of inadequate use (77,1%) ($p < 0,05$), being the fundamental causes the use without infection evidences, the incorrect election of the treatment and the inappropriate prophylaxis. **Conclusion:** Deficiencies are demonstrated in the quality of prescription that require to strengthen of political institutional, controls of quality and formative programs on antimicrobials.

Key Words: antimicrobials / quality, prescription, hospitals

Introducción

Los antimicrobianos constituyen un recurso valioso en el manejo de las infecciones en instituciones de salud. Su uso indiscriminado, junto a otros factores, ha favorecido el desarrollo de la resistencia antimicrobiana, que es hoy un problema mundial, con importantes consecuencias en la calidad de los servicios de salud y su eficiencia¹.

En pacientes hospitalizados se demuestran frecuencias variables de uso de antimicrobianos, ejemplos: en España (36%), Turquía (30,6%), Grecia (51,4%), Brasil (55,4%) y China (77,8%)²⁻⁶. En Cuba, evidencias de uso inadecuado fueron observadas en el estudio nacional de prevalencia de infecciones nosocomiales (2004) al demostrar que el

20,6 % de los pacientes que utilizaron antimicrobianos en hospitales cubanos no tenían evidencia de infección⁷. Asimismo, se ha demostrado el incremento de la resistencia antimicrobiana en el ámbito hospitalario, con especial referencia para las cefalosporinas de tercera generación^{8,9}.

El propósito de nuestro estudio fue evaluar la calidad de prescripción de antimicrobianos en servicios seleccionados de dos hospitales universitarios clínicos quirúrgicos de la Ciudad de La Habana.

Método

Se realizó un estudio descriptivo de prevalencia puntual sobre la calidad de prescripción de antimicrobianos en servicios seleccionados (cirugía general, medicina interna, urología, unidades de cuidados críticos), en dos hospitales universitarios clínicos quirúrgicos de Ciudad de La Habana. Ambos hospitales son instituciones de atención de adultos de segundo nivel. El hospital A cuenta con una dotación de 700 camas y atiende población urbana de la capital del país y población rural de la periferia de la ciudad. El Hospital B tiene una dotación de 400 camas y atiende población urbana de la capital.

Fueron evaluados la totalidad de los pacientes hospitalizados, en los servicios mencionados, un día para cada hospital, el mes de junio de 2008.

Procedimiento para la evaluación de la calidad de la prescripción

De los pacientes se obtuvo la siguiente información: edad, sexo, motivo de ingreso, presencia de infección y localización, enfermedades asociadas, estudios complementarios relativos a función renal y hepática, antimicrobianos utilizados (tipo, dosis, intervalo, duración del tratamiento) y los resultados de los estudios microbiológicos realizados.

En una primera etapa cuatro investigadores (YCE, ADP, SRU, HGG) obtuvieron la información e identificaron aquellos con probable prescripción inadecuada. Estos casos, en una segunda etapa, fueron analizados por expertos (IMN, RES, JPS, GPG, IFL), quienes basados en los principios de prescripción de antimicrobianos y las políticas institucionales, identificaron los pacientes con prescripción inadecuada de antimicrobianos. Finalmente los casos evaluados como prescripción inadecuada se clasificarán en una de las siguientes causas:

1. No indicado o no necesario. Se demuestra en pacientes en los cuales no existe proceso infeccioso que condicione el uso de antimicrobianos
2. Dosis o intervalo de dosis es incorrecta
3. Elección incorrecta del antimicrobiano: incluye cuando se utiliza una combinación impropia o no necesaria, se selecciona un antimicrobiano no apropiado para ese uso o es mas caro o tóxico
4. Cualquier combinación de los anteriores.
5. Indicación profiláctica incorrecta

Análisis estadístico

Toda la información fue incluida en una base de datos elaborada en JMP 5.1 (SAS Institute), donde se utilizara la técnica

estadística de análisis de distribución de frecuencias. Se calculó la proporción de uso de antimicrobianos (por 100 pacientes pesquisados) y la proporción de uso inadecuado de antimicrobianos (por 100 pacientes con antimicrobianos). Para identificar diferencias entre los hospitales se utilizó la prueba t de Student y la prueba χ^2 , en tanto aplicables, considerándose significativo cualquier valor de p menor del 5 %.

Resultados

Fueron evaluados 138 pacientes en el hospital A, de los cuales utilizaron antimicrobianos 35 pacientes (25,3%), mientras en el hospital B en 133 pacientes ingresados, 44 utilizaron antimicrobianos (33,2%).

Los pacientes con antimicrobianos, en ambos hospitales, tuvieron características generales (antecedentes patológicos personales, diagnóstico principal al ingreso, tipo y localización de la infección) similares con excepción de la edad, la cual fue superior en el hospital B ($p < 0,05$). (Tabla 1)

Tabla 1. Características generales de los pacientes que utilizaron antimicrobianos en servicios seleccionados de hospitales clínicos quirúrgicos

características	hospital A n = 35	hospital B n = 44
Edad (media \pm DE)(años)	60.7 (14.2)	66.8 (20.8)*
Antecedentes patológicos personales (No (%))		
Hipertensión Arterial	17 (48.6)	16 (36.4)
Diabetes mellitus	10 (28.6)	10 (22.7)
Insuficiencia Respiratoria	7 (20.0)	8 (18.2)
Insuficiencia Coronaria	6 (17.1)	7 (15.7)
Cáncer	1 (2.9)	8 (18.2)
Insuficiencia Renal Crónica	1 (2.9)	1 (2.3)
Insuficiencia Hepática	0	2 (4.5)
Diagnóstico principal al ingreso (No (%))		
Bronconeumonía	11 (31.4)	16 (36.4)
Enfermedad Cerebrovascular	3 (8.6)	4 (9.1)
Cáncer	1 (2.9)	3 (6.8)
Insuficiencia Coronaria	2 (5.7)	1 (2.3)
Otros Diagnósticos	17 (48.6)	20 (45.5)
Tipo de infección al ingreso (No (%))		
adquirida en la comunidad	21 (60.0)	25 (56.8)
nosocomial	0	1 (2.3)
Localización de la infección (No (%))		
Respiratoria	13 (37.1)	19 (43.2)
Urinaria	1 (2.9)	3 (6.8)
Piel	2 (5.7)	0
Otras	5 (14.3)	4 (9.1)

* $P < 0.05$

Las frecuencias de uso de antimicrobianos fueron ligeramente superiores en el Hospital B ($p > 0,05$), sin diferencias destacables entre los servicios, con excepción del servicio medicina interna de este hospital, en que la frecuencia fue muy superior (28,7%)($p < 0,001$). En ambas instituciones las unidades de cuidados críticos (UCC) mostraron las frecuencias superiores (tabla 2).

Referido a las frecuencias de uso inadecuado es evidente la mayor frecuencia en el hospital A ($p < 0,05$) (tabla 2). Por servicios, aunque se observan frecuencias superiores en los servicios de cirugía, UCC y urología en el hospital A, estas no son estadísticamente significativas entre hospitales (tabla 2).

Tabla 2. Proporción de uso de antimicrobianos según servicio en hospitales clínico quirúrgicos

Servicio	Hospital A					Hospital B				
	N ₁	N ₂	% ₂	N ₃	% ₃	N ₁	N ₂	% ₂	N ₃	% ₃
Cirugía	30	7	23.3	6	85.7	13	5	38,5	1	20,0
Medicina	66	4	6.06	2	50	94	27	28,7	16	59,3
UCC	35	20	57.1	16	80	13	7	53,8	3	42,9
Urología	7	4	57.1	3	75	13	5	38,5	3	60,0
Total	138	35	25.3	27	77.1	133	44	33,1	23	52,3

N₁ Pacientes ingresados
 N₂ Pacientes que utilizaron antimicrobianos
 %₂ Proporción de pacientes que utilizaron antimicrobianos
 N₃ Pacientes con uso irracional
 %₃ Proporción de pacientes con uso irracional de antimicrobianos

Al observar las causas de prescripción inadecuada, se constata que el uso de antimicrobianos sin evidencias de infección, la elección incorrecta del tratamiento y la indicación profiláctica incorrecta, son causas fundamentales en ambos hospitales. Se destaca la mayor frecuencia de elección impropia del tratamiento en el hospital A, debido fundamentalmente a la combinación de ceftriaxona, amikacina y metronidazol en el manejo de infecciones adquiridas en la comunidad (tabla 3).

Tabla 3 .Causas de uso irracional por servicio en hospitales clínico quirúrgicos

Causas	Hospital A					Hospital B				
	Med	Cir	UCC	Uro	Total	Med	Cir	UCC	Uro	Total
No indicado o no necesario	-	3	2	-	5	8	1	-	3	12
Dosis o intervalo de dosis incorrecta	-	-	1	-	1	-	-	1	-	1
Elección incorrecta del antimicrobiano	1	1	11	-	13	4	-	1	-	5
Cualquier combinación de las anteriores	-	1	1	-	2	2	-	-	-	2
Indicación profiláctica incorrecta	1	1	1	3	6	4	-	1	-	5

(Endnotes)

- 1 Master en enfermedades infecciosas
- 2 Master en Epidemiología
- 3 Especialista en Higiene y Epidemiología
- 4 Master en Infectología
- 5 Licenciada en Farmacia
- 6 Especialista en Cirugía General
- 7 Doctor en Ciencias

Discusión

Las frecuencias de uso de antimicrobianos en los servicios evaluados en los hospitales clínicos quirúrgicos son similares o menores a las reportadas en otros estudios²⁻⁶. Es importante destacar que entre los factores relacionados con la resistencia antimicrobiana, la frecuencia de uso de estos medicamentos parece ser un elemento de relevante importancia¹⁰.

La mayor proporción de uso en el servicio de medicina interna puede depender de las características de las poblaciones que atienden ambas instituciones, con especial énfasis en la edad, que en hospital B fue una población mas envejecida, en la cual la incidencia de infecciones respiratorias asociadas a otras enfermedades no transmisibles es mayor^{11,12}.

Otros factores que determinan la complejidad de los pacientes, no evaluados en este estudio, pueden ser determinantes de estos resultados.

Al analizar el uso para los servicios es evidente la mayor proporción de uso de antimicrobianos en las UCC, lo que esta en relación con la severidad de las enfermedades de los pacientes y la presencia de enfermedades infecciosas adquiridas en la comunidad o relacionadas con los cuidados de salud^{13,14}. Como parte del estudio de prevalencia nacional de infección nosocomial⁷, se evaluó la frecuencia de uso de antimicrobianos en hospitales demostrándose en UCC de adultos el 40 % de los pacientes los utilizaban.

En los servicios de urología, las frecuencias se muestran elevadas, lo cual está en relación a la calidad de la prescripción, fundamentalmente en relación a la adherencia a la profilaxis perioperatoria, lo que se ha demostrado en otros estudios, y requieren acciones formativas¹⁵.

Aun cuando el estudio evaluó la calidad de prescripción en servicios seleccionados, las proporción de uso inadecuado se demostró elevada en ambos hospitales, sin lo comparamos con otras referencias, que reportan frecuencias de prescripción inadecuada menores del 50%^{8,16}, demostrándose que las causas observadas son similares a lo reportado con anterioridad

en las que se destaca el uso de antimicrobianos cuando no existe evidencia de infección, la elección incorrecta del tratamiento y la indicación profiláctica incorrecta^{6,16}.

Es importante considerar, en la evaluación de los resultados, que el estudio realizado fue producto de una evaluación puntual a servicios seleccionados en instituciones de salud, y que la información obtenida no permite un mayor nivel de profundidad en el análisis de los factores determinantes de las diferencias entre los hospitales.

No obstante, podemos concluir que es evidente que el uso inadecuado fue muy frecuente en ambas instituciones, lo que denota deficiencias en las políticas institucionales de usos de antimicrobianos y en los controles sobre la calidad su prescripción.

Referencias

1. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Organización Mundial de la Salud.2001. WHO/CDS/CSR/2001.2.
2. Asensio A, Cantón R, Vaqué J, Roselló J. Utilización de antimicrobianos en los hospitales españoles (EPINE 1990-1999). Med Clin (Barc) 2002; 118(19):731-6.
3. Ulsuer G, Ozgunes I, Leblebicioglu H, and the Turkish antibiotic utilization study group. A multicenter point prevalence study of antimicrobial prescription frecuencies in hospitalized patient in Turkey. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2005;4:16.

4. Guimarães Fonseca L, de Oliveira Conterno L. Audit of Antibiotic Use in a Brazilian University Hospital. *Braz J Infect Dis* 2004;8(4):272-280.
5. Hu S, Iiu X, Peng Y. Assesment of antibiotic prescription in hospitalized patients at a Chines University hospitals. *J Hosp Infect* 2003;46:161-3.
6. Hadi U, Duarink DO, Lestari ES, Ángel Kerke NJ, Keuter M, Hub in't Veld d, et al. Audit of antibiotic prescribing in two governmental teaching hospitals in Indonesia. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:698-707.
7. Guanche H, Izquierdo-Cubas F, Zambrano A, Frómeta I, Bastanzuri M, Malpica J, Rodríguez D, Gutiérrez F. Uso de Antimicrobianos en Instituciones de Salud de Cuba. *Medicrit* 2009; 6(1):24-30.
8. Alemán Mondeja L, Guanche Garcell H. Etiología de la infección del sitio quirúrgico en pacientes egresados del hospital clínicoquirúrgico docente "Joaquín Albarrán" enero a marzo del 2000. *Rev Cub Cir* 2001; 40(4):291-6.
9. Hernández Pedroso W, Ramos Godínez A, Nodarse Hernández R, Padrón Sánchez A, De Armas Moreno E. Resistencia bacteriana en las bacterias productoras de betalactamasas extendidas (BLEE). *Rev Cub Med Int Emerg* 2006; 5(1):256-264.
10. Paladino JA, Sunderlin JL, Price CS, Schentag JJ. Economic consequences of antimicrobial resistance. *Surg Infect (Larchmt)*. 2002;3(3):259-67.
11. Shalit I, Low M, Levy E, Chowers M, Zimhony O, Riesenber K, Bishara J, Raz R.. Antibiotic use in 26 departments of internal medicine in 6 general hospitals in Israel: variability and contributing factors. *J Antimicrob Chemother* 2008 62(1):196-204.
12. Raj Paudel K, Sharma M, Prasad Das B. Prevalence of antimicrobial chemotherapy in hospitalized patients in the department of internal medicine in a tertiary care center. *Nepal Med Coll J*. 2008;10(2):91-5.
13. Dos Santos EF, Lauria-Pires L, Pereira MG, Silva MG, Rodrigues I, Maia MO. Use of Antibacterial Agents in an Intensive Care Unit in a Hospital in Brazil. *Braz J Infec Dis* 2007;11(3):355-359.
14. Meyer E, Schwab F, Jonas D, Rueden H, Gastmeier P, Daschner FD. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in intensive care units (SARI): 1. Antimicrobial use in German intensive care units. *Intensive Care Med* 2004; 30(6):1089-96.
15. Malavaud S, Bonnet E, Atallah F, El Farsaoui R, Roze J, Mazerolles M, Massip P, Rischmann P, Plante P, Malavaud B. Evaluation of clinical practice: audit of prophylactic antibiotics in urology. *Prog Urol*. 2008 Jun; 18(6):395-401.
16. Apisarnthanarak A, Danchaivijitr S, Khawcharoenporn T, Limsrivilai J, Warachan N, Bailey TC, Fraser VJ, and the Thammasart University Antibiotic Management Teama Effectiveness of Education and an Antibiotic-Control Program in a Tertiary Care Hospital in Thailand. *Clin Infect Dis* 2006; 42:768-75.

Diabetes

Internacional



Diabetes Internacional es una revista científica que publica las investigaciones en Nefropatía, disfunción endotelial, cirugía, trastornos psiquicos, patología cardiovascular, retinopatía, nuevas insulinas, fármacos antidiabéticos en proceso de investigación básica y clínica, de nuestro país y América Latina, así como la investigación en otras ciencias básicas como Bioquímica, Fisiología, Fisiopatología e Inmunología en el área de diabetes.

E-mail: diabetesinternacional@gmail.com

www.diabetesinternacional.com



Efectos de la administración crónica de alcohol sobre la conducta motora y su relación con el sistema colinérgico muscarínico en ratas Sprague Dawley bajo estrés discontinuos

Chacón Lozán Francisco J¹, Bonfante-Cabarcas Rafael Armando¹, Damelis Daza² y Douglas García²

¹Unidad de Bioquímica, ²Unidad de Salud Pública. Decanato de Ciencias de la Salud. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto, Lara. Venezuela

*Autor de correspondencia.

Dr. Douglas García.

Unidad de Salud Pública, Decanato de Ciencias de la Salud.

Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado

Avenida Libertador con Andrés Bello,

Barquisimeto, Lara, Venezuela.

Código Postal: 3001.

Teléfonos: 0251-2591854

Email: dmgarcia13@yahoo.com

Este proyecto fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto, Venezuela bajo el proyecto número 015-ME-2005

Recibido: 06/07/2009

Aceptado: 28/09/2009

Resumen

El alcohol y el estrés son problemas de salud pública que afectan el Receptor Colinérgico Muscarínico (RCM). En el presente trabajo se estudia el efecto de ambos fenómenos sobre la funcionalidad y densidad del RCM. Métodos: 43 ratas Sprague Dawley se dividieron en 4 grupos: Control (n=12), Estrés (n=11), Alcohol (n=10) y Alcohol-Estrés (n=10). A los grupos alcohol se le administró diariamente etanol al 10 % *ad libitum* y los grupos Estrés se sometieron a nado forzado a 5°C por 5 min tres veces/semana. Resultados: las ratas tratadas con alcohol presentaron adicción e hipermotilidad, siendo el efecto mayor en el grupo alcohol-estrés. Escopolamina incremento la motilidad en todos los grupos. No hubo diferencias significativas entre los grupos en el desempeño en el Rotarod. La densidad de los RCM estuvo disminuida significativamente en Hipocampo en el grupo alcohol. Conclusión: el alcohol induce trastornos del RCM relacionados a hipermotilidad.

Palabras Clave: Alcohol, Estrés, Receptor Muscarínico, Nado Forzado, Motilidad.

Abstract

Alcohol consumption and stress are health problems, which affects the Cholinergic Muscarinic Receptor (CMR) system. Here we studied the effect of both phenomena on CMR functionality and densities. Methods: 43 Sprague Dawley rats were divided in 4 groups: Control (n=11), Stress (n=10), Alcohol (n=10) and Alcohol-Stress (n=9). Alcohol groups received 10% ethanol *ad libitum* in substitution of water every day, stress groups were submitted 3 days at week to 5 min force swimming at 5°C. Results: rats that had alcohol displayed addiction and hypermotility, the effect was higher at alcohol-stress group. Scopolamine significantly increased motility in all groups. No differences were observed at Rotarod performance. CMR density was decreased in hippocampus of rats belonging to alcohol group. Conclusion: alcohol induces motor disturbances related to CMR system.

Key Words: Alcohol, Stress, Muscarinic Receptor, Forced Swimming, Motility.

Introducción

Los receptores Colinérgico Muscarínico (RCMs) pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G, distribuidos a lo largo del Sistema Nervioso Central (SNC) donde han sido involucrados en memoria y conducta motora. La relación entre alcoholismo y Sistema Colinérgico Muscarínico (SCM) ha sido abordada por diferentes autores. Freund

y Ballinger (1988) encontraron una disminución del 40% en la densidad de los RCM en corteza frontal de autopsias de pacientes con historia de alcoholismo. Brandão y colaboradores (1995, 1999) encontraron una disminución en la expresión de la enzima colinacetiltransferasa en animales con consumo prolongado de etanol, asociado a una disminución

de la inervación colinérgica en hipocampo y destrucción de fibras colinérgicas, que no mejoraron al cesar el consumo de alcohol (Beracochea y colaboradores, 1992).

Desde el punto de vista conductual se ha observado que el consumo crónico de alcohol produce alteraciones en el SNC. En éste sentido, Nagahara y Handa (1999) observaron que los agonistas colinérgicos fueron incapaces de incrementar la memoria en ratas expuestas al alcohol durante el período fetal, mientras que los antagonistas producían un severo déficit de memoria. Beracochea y colaboradores (1992) demostraron que el consumo crónico de alcohol produce en animales un acelerado déficit para la resolución de un laberinto en T, cuando los intervalos entre los ensayos eran aumentados, efecto que fue revertido por agonistas colinérgicos administrados antes del ensayo. Hodges y colaboradores (1991) observaron que la ingesta de alcohol al 20% disminuía el desempeño de las ratas en el laberinto radial y en los test asociativos, el déficit cognitivo estuvo asociado al nivel de alcohol en sangre. Los animales tratados con alcohol mostraban mejoría al ser tratados con drogas colinérgicas y empeoraban con el uso de antagonistas.

Entre los motivos más frecuentes para el consumo de bebidas alcohólicas se reportan: la ansiedad, los conflictos personales, el estrés y el estilo de vida. En ratas el estrés induce hipersensibilidad del SCM expresada en hipomotilidad horizontal y vertical (Carrizo y colaboradores., 1997), en inmovilidad durante el test de nado forzado o después de un estímulo eléctrico plantar, lo cual es potenciado si se produce una supersensibilidad colinérgica previa (Overstreet y colaboradores., 1986). Srikman y colaboradores (2006) relacionaron al SCM con la reversión del déficit de memoria producido por el estrés crónico. Además de existir cambios a nivel de las características cinéticas del RCM, el estrés agudo induce cambios en los marcadores colinérgicos pre-sinápticos (Fatranska y colaboradores, 1987) y post-sinápticos (Estévez y colaboradores, 1984).

En el presente trabajo se evalúa funcionalmente y molecularmente el RCM en ratas albinas sometidas simultáneamente a estrés y a consumo de alcohol.

Materiales y Métodos

Muestra. Se utilizaron 43 ratas Sprague Dawley con edades entre 1 y 2 meses, obtenidos del Bioterio Central de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), divididas en 4 grupos: Control (6 hembras y 6 machos), Alcohol (5 hembras y 5 machos), Estrés (6 hembras y 5 machos) y Alcohol Estrés, (6 hembras y 4 machos). Los grupos Alcohol y Alcohol-estrés consumieron etanol al 10% en sustitución de agua a libre demanda y los grupos Estrés y Alcohol-Estrés se sometieron a nado forzado. Los individuos fueron mantenidos en un bioterio con una temperatura promedio de 25°C centígrados, con ciclos diurnos y nocturnos de 12 horas, en jaulas de metal no oxidable de 41x51x15cm. El alimento basado en comprimidos de Ratarina fué suministrado *ad libitum*.

Inducción de estrés. Consistió en colocar por 5min a cada individuo, en un recipiente de plástico de 1m de altura y

50 cm de diámetro, llenado hasta 30cm con agua a 5°C. El estrés fue realizado 3 veces/semana (lunes miércoles y viernes) entre 12 y 2 pm.

Actividad locomotora. Fue medida individualmente en una caja de motilidad de 48x48x40cm, dividida en 4 cuadrantes, por un periodo de 10min, precedido de 5min de adaptación no cuantificable. El desplazamiento horizontal fue cuantificado como el número de veces que la rata se trasladaba de un cuadrante a otro. El desplazamiento vertical se cuantificó observando el número de veces que la rata levantaba sobre sus patas posteriores.

Movimientos estereotipados. Se realizó en un recipiente de vidrio transparente de 31 cm de diámetro y 31cm de altura en un cuarto aislado de ruido; después de 5 min de adaptación, se cuantificó la exploración vertical, el olfateo, el rascado con las patas posteriores, la actitud de limpieza de la nariz y de la cabeza con las patas anteriores, y el mordisqueo.

La actividad locomotora y los movimientos estereotipados fueron medidos bajo tratamiento farmacológico con NaCl 0.9% o con escopolamina a dosis de 1 ml/Kg y 1mg/Kg, respectivamente, vía intraperitoneal. Las drogas fueron administradas posterior a una experiencia basal cuantificada, se espero 30min para proceder a iniciar la experiencia bajo el efecto de la droga.

Memoria motora. Fue utilizado un Rotarod UGO47600 Ugo Basile Biological research apparatus. Inc). Los individuos fueron sometidos a 1 sesión diaria de 5min, por 3 días. Las rotaciones del Rotarod fueron mantenidas constantes en cada sesión e incrementadas cada día 5 rpm, iniciando el primer en 5rpm y terminan en 15rpm. En ésta prueba se midió el tiempo que permaneció cada individuo en el eje sin caer.

Adicción al alcohol. Previo a la realización de ésta prueba los individuos fueron sometidos a ayuno total durante 24 horas. Cada individuo por separado fue colocado en jaulas metálicas de 29x26x26 cm, donde tuvieron acceso simultáneo en dispensadores diferentes a 100ml de agua y a 100 ml de etanol 10%. Se cuantificó diariamente el volumen de agua y alcohol consumido.

Unión de Radioligandos. La densidad de Receptores Colinérgico Muscarínicos fue determinada a partir de homogeneizados de Corteza Frontal, Hipocampo, Tronco Encefálico y Corazón, utilizando [³H]-QNB como marcador a concentraciones saturantes (1000pM) y atropina 2 μM como ligando frío para cuantificar la unión inespecífica, de acuerdo a metodología descrita por Bonfante-Cabarcas y colaboradores (2002).

Análisis de los datos. Los resultados fueron expresados en promedio ± el error estándar. La significancia estadística de la diferencia observada para determinada variable entre los grupos fue establecida mediante el test ANOVA seguido del post-test de Bonferroni, aceptándose como significativo un valor de p < 0.05.

Resultados

Ensayo de Adicción. El grupo Control presentó mayor consumo de agua durante el primer día el cual disminuyó hasta ser similar al consumo de alcohol. En el grupo Estrés el consumo de agua fue mayor al de alcohol. En el grupo Alcohol el consumo de alcohol fue mayor que el de agua los días 2 y 3. En el grupo Alcohol-Estrés el consumo de alcohol fue significativamente mayor al tercer día (figura 1).

Actividad Locomotora. El grupo Alcohol y Alcohol-Estrés presentaron un mayor número de desplazamientos horizontales y verticales respectivamente al ser comparados con los grupos Control y Estrés, siendo la diferencia significativa. Escopolamina indujo un incremento significativo en la motilidad en ambas conductas en todos los grupos, habiendo una tendencia a igualarse las motilidades del grupo Control con respecto a los grupos Alcohol y Alcohol-Estrés, siendo la motilidad del grupo Estrés la menor, sin embargo, no se constató que estas diferencias fueran estadísticamente significativas (Tabla I).

Movimientos Estereotipados. En la exploración vertical los grupos Estrés y Alcohol-Estrés presentaron un mayor

número de movimientos, los cuales fueron estadísticamente significativos al ser comparados con el grupo Control (Tabla II). En los grupos Alcohol, Estrés y Alcohol-Estrés se observó un mayor número de olfateos, los cuales fueron estadísticamente significativos respecto al grupo Control (Tabla II). Para los movimientos de rascado, limpieza de cabeza y mordisqueo no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p > 0.05$) (Tabla II). La escopolamina incrementó significativamente la exploración vertical y olfateo en todos los grupos, no observándose bajo efecto de la droga diferencias significativas entre los grupos.

Memoria Motora. En la Figura 2 se muestra el promedio global del tiempo de permanencia en el eje para los tres días, no observándose diferencias significativas.

Ensayo de Radioligandos. El hipocampo de ratas sometidas a tratamiento con alcohol mostró una disminución significativa en la densidad de RCM, al ser comparados con los restantes grupos experimentales. En corteza frontal, tronco encefálico y corazón no se observaron diferencias (Figura 3).

Figura 1

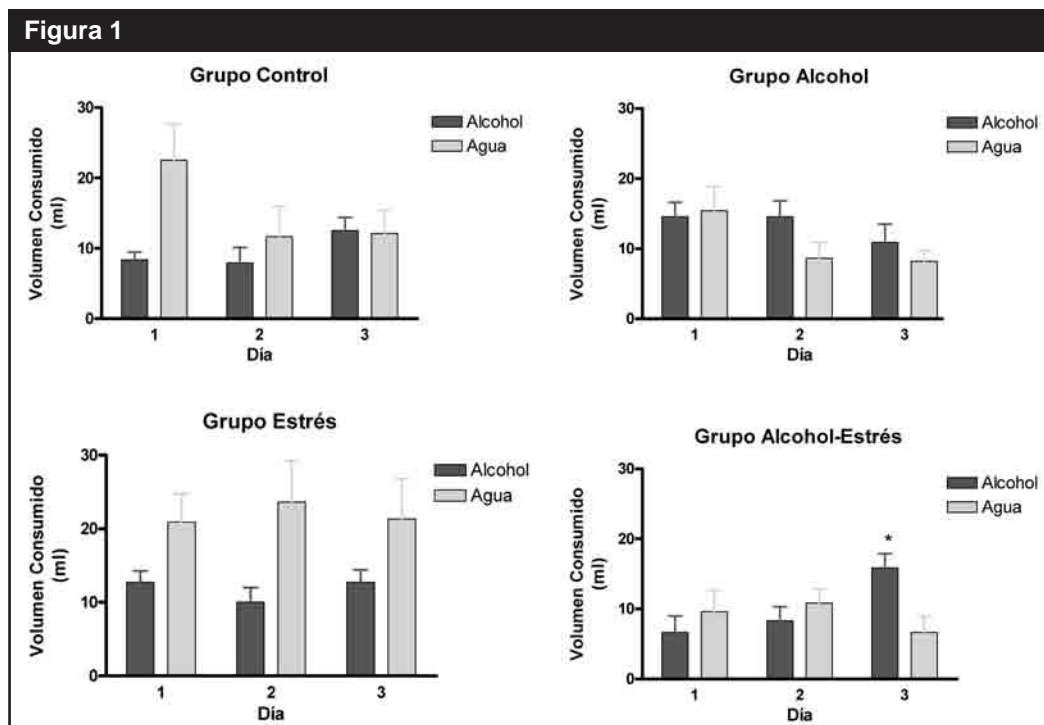


Figura 1. Ensayo de adicción. Posterior a 45 de administración etanol en sustitución de agua, a los individuos de cada grupo se les ofreció simultáneamente agua y alcohol en dispensadores separados, durante 3 días consecutivos, cuantificándose el volumen consumido para cada líquido por día. Observamos que el grupo Alcohol-Estrés tendió a tomar menos líquidos, sin embargo, al tercer día el consumo de alcohol fue significativamente mayor, indicando una habituación al consumo de este líquido. *significa $p < 0.05$ al comparar respecto al consumo de alcohol el primer día.

Tabla I. Efectos del consumo de alcohol y el estrés sobre la motilidad espontánea en ratas albinas con y sin escopolamina

Grupo	Horizontales		Verticales	
	Salina	Escopolamina	Salina	Escopolamina
Control	7,25 ± 2.27	24,58 ± 6.43*	7,75 ± 2.73	22,75 ± 4.17*
Alcohol	11,18 ± 2.16	22,64 ± 4.60*	18,45 ± 2.67 ^A	29,45 ± 4.48*
Estrés	6,4 ± 1.29	13,9 ± 4.64*	7,9 ± 1.37	16,1 ± 2.97*
Alcohol-Estrés	14,2 ± 1.61 ^A	30 ± 5.21*	19 ± 4.05	25,50 ± 4.62

* $p < 0.05$ al analizar el efecto de escopolamina en cada grupo para cada movimiento; ^A $p < 0.05$ al realizar análisis inter-grupo por ANOVA

Tabla II. Efectos del consumo de alcohol y el estrés sobre los movimientos estereotipados en ratas albinas. Efecto de la escopolamina

Grupo	Exploración Vertical		Olfatear		Mordisquear		Limpiar Hocico	
	Salina	Droga	Salina	Droga	Salina	Droga	Salina	Droga
Control	11,17 ± 1.47	29,17 ± 3.79*	14.75 ± 1.5	28,83 ± 3.46*	3,25 ± 1.23	3,67 ± 0.92	5 ± 0.84	5,33 ± 1.3
Alcohol	16.1 ± 2.54	36.3 ± 4.68*	21.6 ± 1.61 [^]	32.4 ± 2.03*	3.2 ± 1.59	3.5 ± 1.59	4.9 ± 0.88	5.6 ± 1.45
Estrés	21.3 ± 3.41 [^]	35.1 ± 5.03*	23.8 ± 1.22 [^]	32.7 ± 4.21*	3.7 ± 1.13	3.5 ± 0.99	5.6 ± 1	6 ± 1.34
Alcohol Estrés	21 ± 2.47 [^]	43.44 ± 4.5*	23.11 ± 2.18 [^]	40.89 ± 2.95*	3.11 ± 1.4	2 ± 0.82	4.22 ± 1.1	5.22 ± 1.34

*p < 0.05 al analizar el efecto de escopolamina en cada grupo para cada movimiento; [^]p < 0.05 al realizar análisis inter-grupo por ANOVA

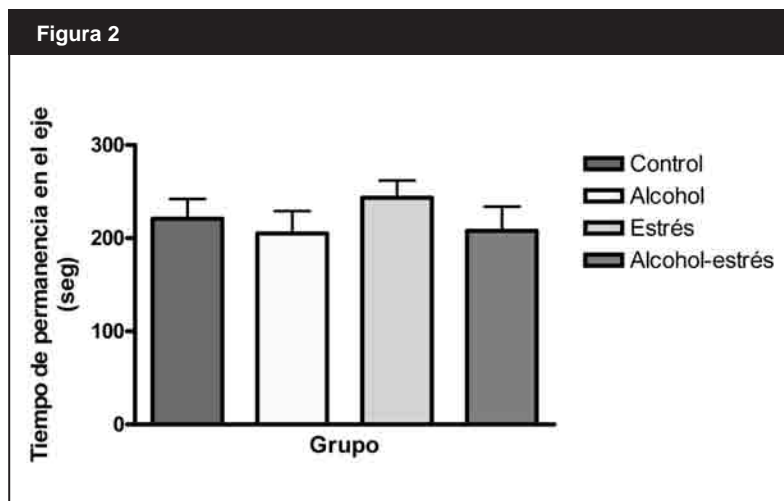


Figura 2. Efectos del alcohol y el estrés sobre la memoria motora en ratas albinas. En ésta prueba los individuos fueron sometidos a 1 sesión diaria de 5 minutos, por 3 días en un rotarod. Las rotaciones fueron mantenidas constantes en cada sesión e incrementadas cada día 5 rpm, iniciando el primer en 5 rpm y terminando en 25 rpm; se midió el tiempo de permanencia sobre el eje del Rotarod. En la figura se muestra el promedio global del tiempo de permanencia en el eje, no observándose diferencia significativa entre los grupos.

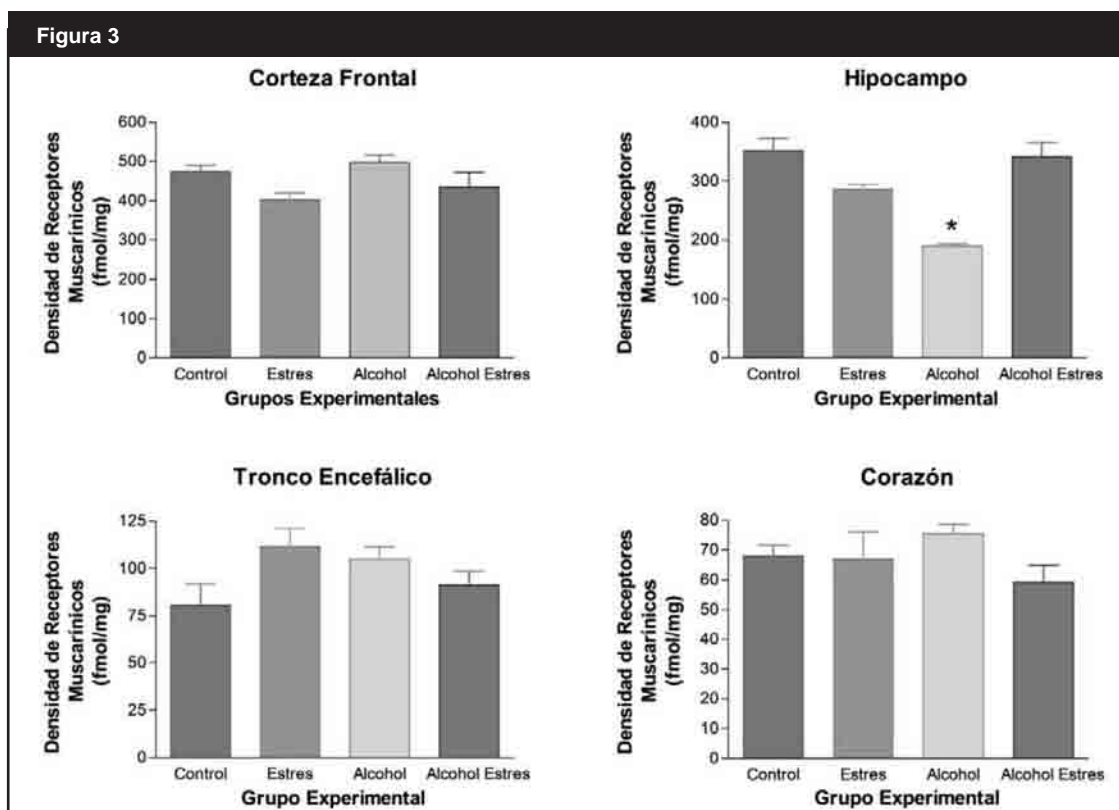


Figura 3. Ensayo de Radioligando. La densidad de Receptores Colinérgico Muscarínicos fue determinada a partir de homogeneizados de Corteza Frontal, Hipocampo, Tronco Encefálico y Corazón, utilizando [³H]-QNB como marcador a concentraciones saturantes (1000 pM) y atropina 2 μM como ligando frío. Se observa que en el hipocampo de ratas sometidas a tratamiento con alcohol hubo una disminución significativa en la densidad de Receptores Colinérgico Muscarínicos al ser comparados con los restantes grupos experimentales. * significa p < 0.05.

Discusión

En este trabajo observamos que el alcohol indujo un aumento de la motilidad en ratas Sprague Dawley, lo cual fue potenciado por estrés. En este sentido, Phillips y Shen (1996) demostraron que el alcohol administrado crónicamente produce un incremento de la motilidad en roedores. De la misma manera, Scibelli y Phillips (2009) demostraron que la administración aguda de etanol incrementa la actividad locomotora en ratones, efecto potenciado por escopolamina, indicando que ambas drogas actúan sinérgicamente regulando la motilidad. Dicho incremento podría estar relacionado con disfuncionalidad del SCM reflejo de la pérdida de fibras colinérgicas, tal como ha sido demostrado en el SNC (Costa y Guizzetti, 1999), en la corteza somatosensorial (Miller y Rieck, 1993) y en el hipocampo (Beracochea y colaboradores, 1992). La demostración de que los niveles de la enzima colinacetyltransferasa y el transportador de colina de alta afinidad se encontraran bajos en individuos que han consumido alcohol, confirman la idea de la degeneración de neuronas colinérgicas causadas por el alcohol, ya que, ambas proteínas son marcadores presinápticos colinérgicos (Beracochea y colaboradores, 1992 y 1995).

A nivel molecular observamos una disminución de los RCMs en hipocampo de ratas con administración crónica de alcohol. Similarmente, Freund y Ballinger (1991) encontraron en autopsias de pacientes con historia de alcoholismo una disminución del 30% en la densidad de los RCM en hipocampo, sin embargo, también observaron una subsensibilidad del 40% en la corteza frontal, en la corteza temporal y en el putamen. La subsensibilidad de los RCM, especialmente en hipocampo, podría estar relacionados con los déficits cognoscitivos (Beracochea y colaboradores, 1992) y al desarrollo de demencia tipo Alzheimer observados en individuos alcohólicos (Freund y Ballinger, 1992).

En este trabajo los efectos del alcohol sobre la conducta motora fueron consistentemente observados en ratas sometidas a estrés (ver tablas I y II, grupo alcohol-estrés). El hecho de que las ratas sometidas a estrés presenten hiper-motilidad, sustenta la noción de que el alcohol induce neurodegeneración colinérgica muscarínica que supera las acciones tróficas del estrés. Dicho esto podemos sugerir que los aumentos de la motilidad espontánea y estereotipada observados en el presente trabajo son reflejo de una destrucción de las células colinérgicas en el SNC por consumo crónico de alcohol.

Referencias

1. Freund G, Ballinger WE. Loss muscarinic cholinergic in the frontal cortex of alcohol abusers. *Alcohol Clin Exp Res*. 1988 oct; 12(5) 630-8
2. Brandão F, Ribeiro da Silva A, Cadete Leite A. GM1 and piracetam do not revert the alcohol induced depletion of cholinergic innervation of rat hippocampal formation as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry. *Neuroscience* 1995 jan; 64(2) 357-74
3. Brandão F; Ribeiro-Da-Silva A.; Cadete-Leite A. GM1 and piracetam do not revert the alcohol-induced depletion of cholinergic fibers in the hippocampal formation of the rat. *Alcohol*, Volume 19, Number 1, August 1999, pp. 65-74(10)
4. Beracochea D, Micheau J, Jaffard R. Memory deficit following chronic alcohol consumption in mice: Relationship with hippocampal and cortical cholinergic activities. *Pharmacol Biochem Beba*. 1992 aug; 42(4) 749-53
5. Nagahara AH, Handa RJ. Fetal alcohol exposed rats exhibit differential response to cholinergic drugs on a delay dependent memory task. *Neurobiol Learn Mem*. 1999 nov; 72(3): 230-43
6. Hodges H, Allen Y, Siden J, and Collaborators. The effects of cholinergic drugs and cholinergic rich foetal neural transplants on alcohol induced deficits in radial maze performance in rats. *Behav Brain Res*. 1991 apr; 43(1) 7-28
7. Carrizo E, Cano G, Suarez Roca H. Motor activity and qualitative autoradiographic analysis of muscarinic receptors in the brain of rat subjected to the forced swimming test. *Brain Res Bull*. 1997; 42(2):133-9.
8. Overstreet DH, Janowsky DS, Gillin JC. Stress induced immobility in rats with cholinergic supersensitivity. *Biol Psychiatry*. 1986 jun; 21(7): 657-64
9. Srikumar BN, Raju TR, Shankaranarayana Rao BS. The involvement of cholinergic and noradrenergic systems in behavioral recovery following oxotremorine treatment to chronically stressed rats. *Neuroscience*. 2006 Dec;143(3):679-88. Epub 2006 Sep 27.
10. Fatranska MM, Budai D, Oprsalova Z, Kvetnansky R. Acetylcholine and its enzymes in some brain areas of the rat under stress. *Brain Res*. 1987 oct; 424(1): 109-14
11. Estévez EE, Jerusalinsky D, Medina JH, De Robertis E. Cholinergic muscarinic receptors in rat cerebral cortex, basal ganglia and cerebellum undergo rapid and reversible changes after acute stress. *Neuroscience*. 1984 Dec;13(4):1353-7
12. Bonfante-Cabarcas R, Bravo I, Nello C, Gutiérrez-Reyes E, Loureiro Dos Santos NE, Moreno-Yanes JA. Pharmacological doses of Zn²⁺ induce muscarinic cholinergic supersensitivity. *J Biomed Sci*. 2002 Nov-Dec;9(6 Pt 2):639-44
13. Costa LG, Guizzetti M. Muscarinic cholinergic receptor signal transduction as a potential target for the developmental neurotoxicity of ethanol. *Biochem Pharmacol*. 1999 Apr 1;57(7):721-6.
14. Phillips TJ, Shen EH. Neurochemical bases of locomotion and ethanol stimulant effects. *Int Rev Neurobiol*. 1996;39:243-82
15. Scibelli AC, Phillips TJ. Combined scopolamine and ethanol treatment results in a locomotor stimulant response suggestive of synergism that is not blocked by dopamine receptor antagonists. *Alcohol Clin Exp Res*. 2009 Mar;33(3):435-47.
16. Miller MW, Rieck RW. Effects of chronic ethanol administration on acetylcholinesterase activity in the somatosensory cortex and basal forebrain of the rat. *Brain Res*. 1993 Nov 5;627(1):104-12.
17. Freund G, Ballinger WE. Loss of synaptic receptors can precede morphologic changes induced by alcoholism. *Alcohol Alcohol Suppl*. 1991;1:385-91

Posible efecto antioxidante

de la atorvastatina en individuos hiperlipidemicos

Possible antioxidant effects of atorvastatin in hyperlipidemic individuals

Marielena Muñoz¹, Mercedes Elena Márquez², Maira Soledad Carrizales², Rosalía de Carmen Sutil de Naranjo³, María Esther Gómez⁴, Elias Sukkar⁵, Yulimir Khlaif⁶, Yudith Peña⁶. Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud Escuela de Medicina. Departamento de Farmacología. mmunoz@uc.edu.ve.

¹Especialista en Bioquímica Clínica. Supervisora del Laboratorio del Departamento de Farmacología. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo – Valencia. Venezuela.

²Dra. en Ciencias Médicas. Profesor Titular Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo – Valencia. Venezuela.

³Master en Educación. Mención Investigación. Profesor Titular Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo – Valencia. Venezuela.

⁴T.S.U. en Tecnología en Alimentos. Coordinadora del Laboratorio de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) y de Gases del Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo – Valencia. Venezuela.

⁵Lic en Bioanálisis.

⁶Lic. en Bioanálisis. Supervisora del Laboratorio del Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo – Valencia. Venezuela.

Recibido: 06/07/2009

Aceptado: 02/10/2009

Resumen

La Atorvastatina es usada en el tratamiento de hiperlipidemias por su acción de inhibición de la 3-Hidroxi-3-Metilglutaril Coenzima A reductasa. Adicionalmente, se ha demostrado que pueden reducir el estrés oxidativo y la susceptibilidad de la LDL-C a la oxidación. Considerando estos efectos pleiotrópicos de la Atorvastatina, se propuso esta investigación con el **Objetivo:** Evaluar el posible efecto antioxidante de la Atorvastatina, sobre los niveles séricos de α -Tocoferol y Retinol en individuos hiperlipémicos. **Metodología:** previo consentimiento informado, a 30 individuos hiperlipidémicos, se les determinó el perfil lipídico, (enzimático-colorimétrico) y vitaminas A y E (HPLC) antes y después de tratamiento por un corto período (7 días) con dosis diferentes de Atorvastatina según criterio médico. **Resultados:** el tratamiento con 10 mg disminuyó significativamente los Triglicéridos, el Colesterol Total y LDL-C, ($p=0.0308$), ($p=0.031$) y ($p=0.0193$), con un incremento del 2,26% en las HDL-C. La dosis de 20 mg intensificó significativamente el efecto mencionado para los triglicéridos, Colesterol total y LDL-C ($p=0.0211$), ($p=0.0001$) y ($p=0.0001$) respectivamente. Los valores de Vitaminas A y E presentaron un incremento significativo con la dosis de 20 mg. **Conclusión:** el tratamiento con Atorvastatina a las dosis de 10 y 20 mg disminuyó Triglicéridos, el Colesterol Total y LDL-C en una forma dosis-dependiente. Este efecto y el incremento de las vitaminas A y E reflejan no sólo un efecto hipolipidemiante, sino además a un efecto pleiotrópico, en este caso antioxidante.

Palabras Claves: Hiperlipidemia, Atorvastatina, Antioxidantes.

Abstract

The Atorvastatin is used in the treatment of hyperlipidaemia owing its action of inhibition 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. Additionally, they have showed to reduce oxidative stress and the susceptibility of LDL-C to oxidation. Considering these pleiotropic effects of Atorvastatin this research was proposed with the **Objective:** To evaluate the possible antioxidant effect of the Atorvastatin on the serum levels of α -Tocopherol and Retinol in hyperlipidemia individuals. **Methodology:** prior informed consent, 30 individuals with hyperlipidemia, was analyzed for lipid profile (enzymatic-colorimetric) and vitamins A and E (HPLC) before and after short-term treatment (7 days) with different doses of Atorvastatin. **Results:** Treatment with 10 mg significantly decreased triglycerides, total cholesterol and LDL-C, ($p = 0.0308$), ($p = 0.031$) and ($p = 0.0193$), an increase of 2.26% in HDL-C. The dose of 20 mg intensified significantly the mentioned effect, triglycerides, total cholesterol and LDL-C ($p = 0.0211$), ($p = 0.0001$) and ($p = 0.0001$), respectively. The values of Vitamins A and E showed a significantly increase with dose of 20 mg. **Conclusion:** Treatment with Atorvastatin at doses of either 10 or 20 mg decreased triglycerides, total cholesterol and LDL-C in a dose-dependent manner. The effect and the increase of Vitamin A and E levels could reflect not only a lipid lowering effect, but also a pleiotropic, in this case antioxidant effect.

Key words: Hyperlipidemia, Atorvastatin, Antioxidants.

Introducción

El efecto benéfico de la Atorvastatina, una estatina (inhibidora de la 3-Hidroxi-3-Metilglutaril Coenzima A reductasa) es atribuido a su eficacia en la disminución de los niveles de LDL-C; por otro lado, ha sido demostrado que puede reducir el estrés oxidativo y la susceptibilidad de la LDL-C a la oxidación; el conocimiento de dichos efectos constituye un aporte adicional al beneficio clínico del tratamiento^{1,2,3}.

Puesto que, las estatinas pueden bajar los lípidos y los antioxidantes disminuyen el estrés oxidativo, se ha sugerido que una combinación de estos fármacos puede verse como una propuesta atractiva en la reducción de los niveles de LDL oxidada y del riesgo de enfermedad cardiovascular^{1,4,5,6}.

Tomando en consideración el auge que han tenido las estatinas por sus efectos pleiotrópicos, es importante analizar los cambios que pueden experimentar algunos indicadores del balance oxidativo en el organismo después del tratamiento, a corto plazo, con Atorvastatina, sobre los niveles séricos de α -Tocoferol (Vitamina E) y Retinol (Vitamina A) en individuos hiperlipidémicos y de esta manera evaluar el posible efecto antioxidante de la Atorvastatina.

Metodología

Muestra: Estuvo constituida por 30 Funcionarios de una Policía Municipal en edades comprendidas entre 30 y 50 años, quienes previo consentimiento informado, presentaban Hiperlipidemia y no habían sido tratados con estatinas, no suplementados con antioxidantes, no fumadores, ni poseedores de otras patologías asociadas. Posteriormente se les aplicó tratamiento con Atorvastatina, a las dosis de 10-20 mg según criterio médico.

Se siguió un plan de trabajo de acuerdo al siguiente esquema:

- Toma basal: Donde se determinaron por métodos enzimático-colorimétricos: Colesterol Total, HDL-C, LDL-C, Triglicéridos TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico⁷ y por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) las Vitaminas A (Retinol) y E (α -tocoferol)
- 7 días de tratamiento con Atorvastatina 10-20 mg según criterio médico.
- 2da toma: Donde se determinaron: Colesterol Total, HDL-C, LDL-C, Triglicéridos, TBARS y Vitaminas A (Retinol) y E (α -tocoferol).

Se realizaron determinaciones de malondialdehído (MDA) por el método colorimétrico del ácido tiobarbitúrico modificado, indicador de estrés oxidativo. Valor de referencia **MDA:** 1.34 μ mol/L⁷

La cuantificación de la concentración de alfa tocoferol y Retinol sérico se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), según el método desarrollado por el Internacional Vitamin A Consultive Group y estandarizado para Vitamina A y E por Márquez y col. Valores de referencia antioxidante: **Retinol (R-OH):** Deficiente < 80 μ g/dl. Suficiente >80 μ g/dl **Tocoferol (T-OH):** Deficiente < 1300 μ g/dl. Suficiente >1300 μ g/dl⁸.

Técnicas de análisis estadístico:

Los resultados obtenidos fueron analizados a través del programa INSTAD 3 para Windows calculando medidas de tendencia central (promedios) y medidas de dispersión (desviación estándar). Se utilizaron métodos de análisis paramétricos ("t" de student), se aplicó el Kolmogorov-Smirnov encontrándose distribución normal de los datos.

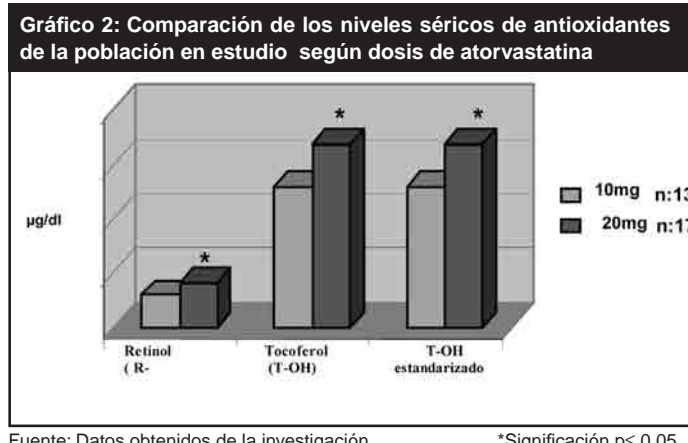
Resultados

La población en estudio estuvo constituida por 30 Funcionarios de una Policía Municipal en edades comprendidas entre 30 y 50 años. La distribución por sexo mostró un 57% del sexo masculino y 43% del sexo femenino (Gráfico I).

En la **Tabla 1**, se describen las características de la población en estudio presentados en promedios y desviaciones estándares así como también los valores máximo y mínimo de cada variable; el promedio de edad obtenido fue de 38,22 \pm 6,46; los valores de Glicemia y de Presión Arterial media estuvieron dentro de los valores referenciales. Los lípidos séricos evidencian niveles por encima de los valores referenciales a excepción del HDL-C cuyo valor promedio fue de 41,33 \pm 8,74mg/dl. Los valores de TBARS disminuyeron significativamente ($p \leq 0,05$) al aplicar el tratamiento. En cuanto a los antioxidantes estudiados se encontró que el promedio de Retinol fue de 150,64 \pm 56,52 μ g/dl, considerándose suficiente según los valores de referencia mientras que el Tocoferol mostró un nivel deficiente de acuerdo a los valores referenciales (667,20 \pm 306,54 μ g/dl). El Tocoferol estandarizado a los lípidos mostró un promedio de 667,20 \pm 297,57 μ g/dl.

La **Tabla 2** se refleja la comparación de los lípidos antes y después del tratamiento a corto plazo con 10 mg de atorvastatina, donde el Colesterol Total disminuyó significativamente **p= 0,0031**. Igual comportamiento mostraron los niveles de LDL-C **p=0,0193** y los Triglicéridos **p=0,0308**. Las HDL-C se mantuvieron en el tiempo siendo sus niveles semejantes a los valores basales. En el tratamiento con 20 mg de atorvastatina, (mostrados en la **Tabla 3**) se observó una disminución estadísticamente significativa para Colesterol Total **p= 0,0001**, LDL-C **p= 0,0001** y Triglicéridos **p= 0,0211**. Por el contrario para HDL-C se observaron valores muy semejantes con respecto a los obtenidos antes de aplicar el tratamiento. En la **Tabla 4 y 5** se comparan los antioxidantes antes y después del tratamiento a corto plazo con 10 mg y 20 mg de atorvastatina, no encontrándose diferencia estadísticamente significativa..

El **Gráfico 2**, se observa un aumento estadísticamente significativo entre los valores de Retinol con la dosis de 10 mg y 20 mg (**p=0,0142**) de atorvastatina. Esto también se encontró para los valores de Tocoferol para 10 mg y para 20 mg (**p=0,0156**). Así mismo, para el tocoferol estandarizado a los lípidos, se pudo observar aumento significativo con la dosis de 20 mg (**p=0,0152**).



Fuente: Datos obtenidos de la investigación.

*Significación $p \leq 0,05$

Tabla 1: Características de la población en estudio

Variables	n	Media	Desviación Estándar	Valor Mínimo	Valor Máxima
Edad	30	38,22	6,46	30	50
Glicemia (mg/dl)	30	90,23	9,71	72	109
Presión Arterial Sistólica	30	124	10,70	110	140
Presión Arterial Diastólica	30	74,33	7,28	60	80
Presión Arterial Media	30	90,88	7,47	76,67	100
Colesterol Total (mg/dl)	30	216,33	31,91	163	297
HDL Colesterol (mg/dl)	30	41,33	8,74	23	63
LDL Colesterol(mg/dl)	30	134,3	40,79	60	248
Triglicéridos (mg/dl)	30	216,96	101,15	85	465
TBARS Basal (µmol/L)	30	2,69	2,45	0,26	7,94
7 días	30	1,18	0,98	0,16	3,98
Retinol (R-OH) µg/dl	30	150,64	56,52	98,83	312,41
Tocoferol (T-OH) µg/dl	30	667,20	306,54	353,19	1741
TOH Estandarizado a los lípidos	30	667,20	297,57	335,02	1733,2

Tabla 2: Comparación de los lípidos séricos en individuos hiperlipidemicos antes y después del tratamiento a corto plazo con 10 mg de atorvastatina

Variables	n	Antes		Después		Valor de p
		Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar	
Colesterol Total (mg/dl)	13	202,84	22,88	165,23	34,92	*0,0031
HDL Colesterol (mg/dl)	13	41,07	7,62	42	8,17	0,6864
LDL Colesterol(mg/dl)	13	123,76	32,99	94,23	30,52	*0,0193
Triglicéridos (mg/dl)	13	179,92	62,44	146,15	42,45	*0,0308

*Significación $p \leq 0,05$

Tabla 3: Comparación de los lípidos séricos en individuos hiperlipidemicos antes y después del tratamiento a corto plazo con 20 mg de atorvastatina

Variables	n	Antes		Después		Valor de p
		Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar	
Colesterol Total (mg/dl)	17	226,64	34,54	162,23	29,85	*0,0001
HDL Colesterol (mg/dl)	17	41,52	9,74	39,88	8,83	0,5149
LDL Colesterol(mg/dl)	17	142,35	45,16	87,58	34,08	*0,0001
Triglicéridos (mg/dl)	17	245,29	116,85	174,52	74,72	*0,0211

*Significación $p \leq 0,05$

Tabla 4: Comparación de antioxidantes en individuos hiperlipidemicos antes y después del tratamiento a corto plazo con 10 mg de atorvastatina

Variables	n	Antes		Después		Valor de p
		Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar	
Retinol (R-OH) µg/dl	13	133,43	31,58	121,07	29,71	0,0919
Tocoferol (T-OH) µg/dl	13	577,19	127,97	519,65	117,64	0,1979
TOH estandarizado a los lípidos	13	556,13	151,56	519,64	110,29	0,4270

*Significación $p \leq 0,05$

Tabla 5: Comparación de antioxidantes en individuos hiperlipidémicos antes y después del tratamiento a corto plazo con 20 mg de atorvastatina

Periodo	Antes			Después		Valor de p
Variables	n	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar	
Retinol (R-OH) µg/dl	17	163,80	67,97	164,59	58,79	0,9711
Tocoferol (T-OH) µg/dl	17	736,03	382,65	676,86	210,49	0,4237
TOH estandarizado a los lípidos	17	736,03	375,32	676,87	214,32	0,4227

*Significación p ≤ 0,05

Discusión

La Hiperlipidemia mixta está asociada con un incremento de la incidencia en las enfermedades cardiovasculares (ECV). La misma cursa con un aumento en el Colesterol Total y de la fracción de su lipoproteína LDL-C así como también de los Triglicéridos^{9,10,11}. El abordaje terapéutico en estos pacientes debe iniciarse con un programa dietético, sin embargo en la mayoría de los casos hay que hacerlo farmacológicamente.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el posible efecto antioxidante de la Atorvastatina (inhibidor de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa). Para ello se seleccionó un grupo de estudio homogéneo de edad, no fumadores, con glicemia y presión arterial dentro de la normalidad según Séptimo Informe del Comité Nacional sobre Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial¹², constituido por individuos con hiperlipidemia a los cuales, se les aplicó un tratamiento a corto plazo (agudo) con atorvastatina en dosis de 10 y 20 mg.

Al analizar el perfil lipídico de la población estudiada, los valores promedio de Colesterol Total, LDL-C y Triglicéridos, se ubicaron fuera de los valores referenciales según el Consenso Venezolano de lípidos¹³, por lo tanto se partió de un grupo de pacientes hiperlipidémicos. Una vez aplicado el tratamiento a corto plazo con atorvastatina, se observó una disminución significativa en dichos lípidos; al desglosarlos se observa que el Colesterol Total disminuyó en un 81,4% con la dosis de 10 mg, efecto menor es reportado por Cangemi y cols.⁴, quienes administraron atorvastatina también en dosis de 10 mg y a los 3 días observaron una disminución del colesterol en 24,9%. En este orden de ideas, otros investigadores¹⁴, estudiaron 41 pacientes dislipidémicos de los cuales 26 eran hipercolesterolémicos y 21 cursaban con hiperlipidemia mixta (aumento de Colesterol Total y Triglicéridos) los cuales recibieron 10 mg de atorvastatina por 6 semanas observando un efecto mayor como hipocolesterolémico. En contraste con este último estudio, los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la atorvastatina a 10 mg disminuyó significativamente tanto Colesterol Total como Triglicéridos. En relación a la LDL-C (lipoproteína altamente aterogénica), estudios realizados por Poli, A¹⁵ encontraron que la atorvastatina fue una de las estatinas más efectivas no solo por sus efectos sobre la LDL-C, sino también por su capacidad de disminuir los niveles de Triglicéridos y la capacidad de modificar la composición de la lipoproteína en una forma no aterogénica; reportando una sustancial disminución de los niveles de LDL-C (entre 40-60 mg/dl) en pacientes con eventos cardiovasculares, comparado con altos niveles previos. Los resultados obtenidos en esta investiga-

ción muestran una disminución significativa de los valores de LDL-C, luego de aplicado el tratamiento a corto plazo con atorvastatina en un 76,13% con la dosis de 10 mg/día y con la dosis de 20 mg diarios descendieron las LDL-C en un 61,52% en tan solo 7 días de tratamiento reforzando lo antes dicho sobre la efectividad del fármaco, y coincidiendo con lo ya reportado por Marchesi y col.¹⁶, quienes encontraron una disminución del 75% en las LDL-C después de tratamiento con 10 mg de atorvastatina por 7 días. Igualmente en los niveles de Triglicéridos fue encontrada una disminución del 81,2% y de 71,14% con el tratamiento a corto plazo de la atorvastatina en dosis de 10 y 20 mg respectivamente.

Así mismo, la eficacia de la atorvastatina sobre los lípidos en general (Triglicéridos, Colesterol Total y sus fracciones: LDL-C y HDL-C) fue reportada por Jeetesh y cols.¹⁷, quienes realizaron un estudio de 33 pacientes hiperlipidémicos por 4 semanas los cuales recibieron 10 mg/día del fármaco observando una reducción significativa de Colesterol Total, LDL-C y Triglicéridos, mientras que no observaron cambios en las HDL-C, en el presente estudio, a esta dosis la atorvastatina incremento en un 2,26% la HDL-C.

En estudios recientes, las estatinas han sido señaladas como potentes inhibidoras de estrés oxidativo; de hecho Violi y col¹⁸ demostraron que en pacientes con hipercolesterolemia, la administración de una estatina tuvo relación con la reducción de isoprostanos urinarios, marcadores de estrés oxidativo y con la normalización de los niveles circulantes de Vitamina E, indicando que estos fármacos contribuyen a modificar el estado antioxidante. En investigaciones realizadas⁴, en 30 pacientes hipercolesterolémicos, a los cuales se les administró dieta más atorvastatina en dosis de 10 mg/día encontraron un incremento en los niveles de Vitamina E y una disminución de Colesterol Total indicando un independiente y temprano efecto antioxidante de la atorvastatina al modificar los niveles de Vitamina E.

En relación a los resultados obtenidos en este estudio se observó que los individuos hiperlipidémicos luego del tratamiento a corto plazo con atorvastatina, mostraron una leve disminución de los niveles séricos de las Vitaminas A y E, debido probablemente a que la hiperlipidemia indujo incremento de la peroxidación lipídica en un 43,86% reflejado en los valores de TBARS, lo que trajo como consecuencia el consumo de las vitaminas antioxidantes. Sin embargo se observa una tendencia al aumento, cuando se administra la atorvastatina en 20 mg/día, siendo significativo cuando es analizado estadísticamente, lo que indica que a mayor dosis se modifican los valores de las vitaminas. Es necesario recordar que este estudio es a corto plazo y que los resultados obtenidos pudieran conllevar a un aumento en los

niveles séricos de las vitaminas en estudios a largo plazo donde posiblemente al disminuir los lípidos por efecto de la atorvastatina, desciende la peroxidación lipídica, por ende el estrés oxidativo y por lo tanto el consumo de las vitaminas antioxidantes tendiendo a mejorar la circulación de las vitaminas en el tiempo. En este sentido, ya en el 2000 Kawai y cols.¹⁹, señalaron que los niveles de vitaminas disminuyeron durante el estrés oxidativo debido a que los glóbulos rojos utilizan los almacenes séricos para protegerse del daño producido por los procesos oxidativo; en este orden de ideas en el 2004 Kolwalski y col⁶ encontraron una reducción significativa en los valores de MDA en eritrocitos y plasma, concluyendo que la capacidad antioxidante de la atorvastatina condujo a disminuir el estrés oxidativo, hallazgo semejante observado en la presente investigación. Otros estudios sobre como interviene la atorvastatina en el estrés oxidativo fue descrito por Delliaux y cols.²⁰, quienes analizaron los efectos de la atorvastatina sobre el estado oxidante-antioxidante inducido por el ejercicio en 10 pacientes dislipidémicos que recibieron 10 mg/día del fármaco por 6 meses y 13 sujetos sedentarios a los cuales les fue medido las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), encontrando que la atorvastatina redujo la actividad oxidante-antioxidante y el estrés oxidativo inducido por el ejercicio.

La mejora del estrés oxidativo, observado en esta investigación y reflejado con el retorno de los lípidos a los valores de referencia, pudiera ser atribuido al tratamiento con la atorvastatina, coincidiendo con los estudios realizados por Kural y cols²¹, quienes concluyeron que la terapia con la atorvastatina en pacientes hiperlipidémicos disminuye el estrés oxidativo especialmente en pacientes con valores de HDL-C ubicados dentro de los valores referenciales considerados normales., situación semejante a la observada en el presente estudio.

Numerosos investigadores han analizado el rol de las vitaminas A, E y C en los procesos oxidativos denominándolas incluso barredoras de radicales libres^{1,22,23,24}. Adicionalmente, a la Vitamina E se le han atribuido efectos regulatorios de la agregación plaquetaria, inhibición de las fosfolipasa A₂, modulación de prostaglandinas y leucotrienos actuando de esta manera en los procesos inflamatorios^{23,25,26}.

En el mismo orden de ideas, Tousoulis y cols.²⁷ evaluaron el efecto de la administración de bajas dosis de atorvastatina (10mg/día), y Vitamina E (400 UI/día) sobre marcadores inflamatorios asociados a un elevado estatus de estrés oxidativo en pacientes con hipercolesterolemia y aterosclerosis avanzada; para ello estudiaron 38 pacientes, donde unos recibieron atorvastatina y otros atorvastatina más vitamina E, encontrando una disminución significativa de los marcadores inflamatorios con atorvastatina concluyendo entonces que el tratamiento con bajas dosis del fármaco mejoran la función endotelial y reducen la expresión de citoquinas proinflamatorias, efectos también deprimidos por la vitamina E.

En consecuencia y basándose en los resultados obtenidos en los pacientes hiperlipidémicos, el tratamiento con atorvastatina por un corto período de tiempo (7 días) a la dosis de 10 y 20mg disminuyó los Triglicéridos, el Colesterol Total

y su fracción LDL-C en una forma dosis-dependiente, con un incremento del 2,26% en las HDL-C solo con la dosis de 10mg de atorvastatina. Similar a estos hallazgos, se observó que con las vitaminas antioxidantes A y E, a la dosis de 10mg de atorvastatina, la concentración de dichas vitaminas disminuyó discretamente; asumiendo la depleción de los depósitos de Vitaminas A y E como un mecanismo compensatorio del organismo, ante el incremento del estrés oxidativo inducido por la hiperlipidemia. Al analizar el comportamiento a la dosis de 20 mg de atorvastatina, se encontró un aumento significativo en los valores de ambas vitaminas, lo cual permite inferir que a mayor dosis de atorvastatina se incrementan las concentraciones séricas de las vitaminas antioxidantes A y E y por ende ofertan su mayor disponibilidad para controlar el estrés oxidativo. Estos efectos reflejan no solo un efecto hipolipidemiante, sino además un efecto pleiotrópico: antioxidante de la atorvastatina.

Referencias

1. Rosenson, R. (2004) Statins in atherosclerosis: lipids lowering agents with antioxidant capabilities Review. *Atherosclerosis* 173, 1-12.
2. Cangemi R. Loffredo L. Carnevale R. Pignatelli P. Violi F. (2008a). Statins enhance circulating vitamin E. *Int J Cardiol.* 11:123(2):172-4.
3. Liao, J.K. Laufs U. (2005). Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 45:89-118.
4. Cangemi R. Loffredo L. Carnevale R. Perri L. Patrizi MP. Sanguigni V. Pignatelli P. Violi F. (2008b). Early decrease of oxidative stress by atorvastatin in hypercholesterolaemic patients: effect on circulating vitamin E. *Eur Heart J.* 29(1): 54-62.
5. Kapur, NK.; Musunuru, K. (2008). Clinical efficacy and safety of statins in managing cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag.* 4(2):341-53.
6. Kowalski, J.; Pawlicki, L.; Grycewicz, J.; Blaszczyk, J.; Irmanski, R.; Ceglinski, T.; Kowalczyk, E. (2004) Plasma antioxidative activity during atorvastatin and fluvastatin therapy used in coronary Herat disease primary prevention. *Fundam Clin Pharmacol.* 18(1):93-6.
7. Cano C, Bermúdez V, Sulbarán G, Morales R, Medina M, Amell A, Souki A, Ambard M, Nuñez M, García D, Restrepo H, Vargas M.E, Seyfi H y Cruz S. (2001). Influencia de la edad y el sexo en el balance oxidación/antioxidación. *Arch. Ven. Farmacol. Ter.* 20(1):63-68.
8. Márquez, M.; Yépez, C.E.; Sutil-Naranjo, R.; Rincón, M. (2002). Aspectos básicos y determinación de las vitaminas antioxidantes E y A. *Investigación Clínica* 43:191-204.
9. Van Ganse, E.; Laforest, L.; Burke, T.; Phatak, H.; Souchet, T. (2007) Mixed Dyslipidemia among patients using lipid-lowering therapy in French general practice: an observational study. *Clin Ther.* 29(8): 1671-81.
10. Avisar I.; Brook JG. Wolfovitz E. (2008). Atorvastatin monotherapy vs. combination therapy in the management of patients with combined hyperlipidemia. *Eur J Intern Med.* 19(3):203-8.
11. Nicholls, S.J.; Tuzcu, E.M.; Sipahi, I.; Grasso, A.W.; Schoenhagen, P.; Hu, T.; Wolski, K.; Crowe, T.; Desai, M.Y.; Hazen, S.L.; Kapadia, S.R.; Nissen, S.E. (2007) Statins high-density. Lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis. *JAMA* 7.297(5): 499-508.
12. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC7).

Traducción de la Versión Original en inglés publicada en 2003.

13. Consenso Venezolano de Lipidos. International Lipid Information Bureau. Capitulo Venezuela. Park Davis, 2000. pp 1-39.
14. Cihan Örem, Hüseyin Avni Uydu, Remzi Yılmaz, Mustafa Gökce, Mehri Baykan, Selcuk Eminagaoglu and Asim Örem (2004) The Effect of Atorvastatin Treatment on the Fibrinolytic System in Dyslipimemic Patients Japanese Hear Journal. 45(6):977-987.
15. Poli A (2007). Atorvastatin: pharmacological characteristics and lipid-lowering effects. *Drugs*. 67(1): 3-15.
16. Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D, Schillaci G, Vaudo G, Roscini AR, Sinzinger H, Mannarino E. (2000) Short-term atorvastatin treatment improves endothelial function in hypercholesterolemic women. *J. Cardiovasc Pharmacol*. 36(5):617-21.
17. Jeetesh, V. Patel, Sandeep Gupta, Frank Lie, and Hughes Elizabeth A. (2005). Efficacy and Safety of Atorvastatin in South Asian Patients with Dyslipidemia: An Open Label Noncomparative Pilot Study. *Vasc Health Risk Manag*.; 1(4): 351-356.
18. Violi, F.; Cangemi, R. (2008) Statin treatment as a confounding factor in human trial with vitamin E. *J Nutr*. 138(6):1179-81.
19. Kawai, Y.; Shimomitsu, T.; Takanami Y.; Murase, N.; Katsumura, T.; Maruyama, C. (2000). Vitamine E Levels Changes in Serum and Red Blood Cells Due To Acute Exhaustive Exercise in Collegiate Women. *Journal of Nutritional Sciences*. 46. 119-124.
20. Delliaux, S.; Steinberg JG.; Bechis, G.; Paganelli, F.; Oliver, C.; Lesavre, N.; Jammes, Y. (2007). Statins alter oxidant-antioxidant status and lower exercise-induced oxidative stress. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 45(4):244-52.
21. Kural, B.V.; Orem, C.; Uydu, H.A.; Alver, A.; Orem, A. (2004). The effects of lipid-lowering therapy on paraoxanase activities and their relationships with the oxidant-antioxidant system in patients with dyslipidemia. *Coron Artery Dis*. 15(5):277-83.
22. Yépez, R.D.; Rivas de Yépez, C.E.; Sutil de Naranjo R.; Márquez, A. (2006) Vitaminas antioxidantes y catarata. *Revista Oftalmológica Venezolana*. 62(2):55-64.
23. Barbosa K, Bressan J, Zulet M, Martínez Hernández J. (2008) Influence of dietary intake on plasma biomarkers of oxidative stress in humans. *An Sist Sanit Navar*. 1;31(3):259-280.
24. Durant, R; Klouche, K; Delbosc, S; Morena, M; Amigues, L; Beraud, J; Canaud, B; Cristol, J. (2004.) Superoxide anion overproduction in sepsis: effects of vitamin E and simvastatin. *Shock*. 22(1):34-39.
25. Márquez, M; Yépez, C; Sutil de Naranjo, R; Rincón, M. (2003) Vitaminas E y A: Aspectos Básicos y su importancia en la Aterosclerosis. *Clínica de Dislipidemias*. Dpto. de Farmacología, Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud. Editado por Universidad de Carabobo-Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Venezuela.
26. Tam, L.S.; Li, E.K.; Leung, V.Y.; Griffith, J.F.; Benzie, I.F.; Lim, P.L.; Whitne, B.; Lee, V.W.; Lee, K.K.; Thomas, G.N.; Tomlinson, B. (2005). Effects of vitamins C and E on oxidative stress markers and endothelial function in patients with systemic lupus erythematosus: a double blind, placebo controlled pilot study. *J Rheumatol*. 32(2):275-82.
27. Tousoulis, D.; Antoniades C.; Vassiliadou, C.; Toutouza, M.; Pitsavos, C.; Tentolouris, C.; Trikas, A.; Stefanadis, C. (2005). Effects of combined administration of low dose atorvastatin and vitamin E on inflammatory markers and endothelial function in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail*. 7(7):1126-32.

La Revista Latinoamericana de Hipertensión es indexada por:

**SCIENCE CITATION INDEX EXPANDED (SciSearch)
JOURNAL CITATION REPORTS/SCIENCE EDITION
LATINDEX**

**LIVECS (Literatura Venezolana para la Ciencias
de la Salud)**

**LILACS (Literatura Latinoamericana y del Caribe
en Ciencias de la Salud)**

ELSEVIER BIBLIOGRAPHIC DATABASES:

EMBASE

Compendex

GEOBASE

EMBIology

Elsevier BIOBASE

FLUIDEX

World Textiles

Scopus

www.lash-hipertension.org

Solicítela a través del e-mail:

latinoamericanadehipertension@gmail.com



www.lash-hipertension.org

Iatrogenic equine

metabolic syndrome in thoroughbred horses

Abelardo Morales, Francisco García, Víctor Bermúdez, María Morales, Luís Leal, Pedro López, Gilberto Planas, Carlos Rodríguez.

Department of Veterinary Pathology Faculty of Veterinary Science, Central University of Venezuela, Aragua State (AM, FG, VB); National Racetrack "La Rinconada" Caracas Venezuela (LL, PL, GP, CR). Maternity "Concepción Palacios" Caracas, Venezuela (MM).

Corresponds author: Abelardo Morales Department of Veterinary Pathology Faculty of Veterinary Science, Central University of Venezuela, Aragua State. Building 3, office 3, Campus Maracay.

Phone: 058 0243 550 60 29. Telefax: 058 0243 550 60 29. Cell phone: 058 0414 4563101

Recibido: 08/09/2009

Aceptado: 02/10/2009

Summaries

Reasons for performing study: Equine metabolic syndrome (EMS) is a cluster of problem that includes obesity, insulin resistance and laminitis. In EMS peripheral adipocytes synthesize adipokines which are analogous to cortisol, resulting in Cushing syndrome like-signs and insulin resistance. The used of dexamethasone and triancinolone is very common and not permitted.

Hypothesis or Objectives: The objective of this study was to describe metabolic syndrome iatrogenic in Thoroughbred horses.

Methods: Were studied 22 Thoroughbred horses (12 female and 10 male), between 2-5 years old, in the national race Track "La Rinconada" Caracas-Venezuela. All equine were euthanized and study by necropsy. Samples were collected from the adrenal glands, gastric mucosa, pancreas, kidneys, liver, spleen, lungs, heart and adenohipofisis. Tissue sections were prepared and stained with Hematoxilín & Eosin (H&E) for light microscopy.

Results: Clinical signs were polyuria, polydipsy and secondary diabetes mellitus, recurrent infection, lethargie, laminitis and weight loss syndrome. Were isolates of recurrent in-

fection: *Salmonella sp.*, *E. coli*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus*, *Enterococcus faecalis* and *Enterobacter cloacae*. Necropsy revealed: weight loss, loss fatty subcutaneous, xantomatosis of subcutaneous tissue. Abscess in coxal tuberos, facial and shoulder region. Liver was swollen, friable and icteric. Renal cortical and papillary necrosis. Equine gastric ulcer syndrome severed. Liver with periacinar necrosis with a prominent acinar pattern and fatty degeneration severed. Necrosis and vacuolar (glycogen) degeneration islets of langerhans, fibrosis and chronic. Renal cortical and medullary necrosis, acute tubular necrosis and glycogen nephrosis, glomerulonephritis membranous. Hemorrhages in adrenal cortex and atrophy cortical.

Conclusions: These results suggest a iatrogenic EMS in Thoroughbred associated with overdose and chronic dexamethasone and triancinolona.

Potential relevance: This article is a clinical study, laboratory, bacterial, macroscopic and histopathological describing the clinical pathologic presentation of metabolic syndrome pathological in Thoroughbreds horses associated with overdose and chronic dexamethasone and triancinolona.

Keys words: Equine, metabolic, Thoroughbred, iatrogenic.

Introduction

The term metabolic syndrome (MS) refers to a clustering of risk factors of metabolic origin that promote the development of cardiovascular disease and type 2 diabetes. Metabolic syndrome includes such pathological factors as insulin resistance, hyperinsulinemia, abdominal obesity, impaired glucose tolerance, type 2 diabetes, microalbuminuria, high level of triglycerides, low level of HDL cholesterol, elevated blood pressure, and proinflammatory and prothrombotic state (Pacholczvk et al 2008). Equine metabolic syndrome (EMS) is a cluster of problem that includes obesity, insu-

lin resistance and laminitis. In EMS peripheral adipocytes synthesize adipokines which are analogous to cortisol, resulting in Cushing syndrome like-signs and insulin resistance. In Venezuela phenylbutazone and furosemide only are permitted in the racecourse of Thoroughbred horses. The used of dexamethasone and triancinolone is very common in horses and not permitted in national race trak from Venezuela. Certain management practices tend to promote the development of obesity (metabolic syndrome) in mature horses as they enter their teenage years. These manage-

ment practices include the provision of starch-rich (high glycemic index) and fat-supplemented rations to healthy horses that are relatively inactive. Some horse breeds and ponies appear to be genetically predisposed to metabolic syndrome. The accretion of intra-abdominal adiposity by equids is associated with the development of insulin insensitivity (hyperinsulinemia), glucose intolerance, dyslipidemia, hypertension, and insidious-onset laminitis (Johnson 2002; Eustace 2002). Omental adipocytes are metabolically active, secreting free fatty acids and hormonally active mediators including cortisol, leptin, and resistin that might contribute to persistence and worsening of insulin refractoriness and the obese phenotype. We have hypothesized that obesity-associated laminitis arises as a consequence of vascular changes and a hypercoagulable state, similar to the development of atherosclerosis in human type 2 diabetes (Johnson 2002). Several molecular mechanisms that might serve to explain the development of insulin insensitivity as a result of excessive adiposity have been incriminated (Johnson 2002). Obesity, insulin resistance, hyperinsulinemia and hypertriglyceridemia are components of an equine metabolic syndrome phenotype associated with increased laminitis risk in horses. Links between these conditions and laminitis must still be elucidated, but human medicine provides candidate mechanisms for future study, including inflammation associated with obesity, vascular compromise induced by insulin resistance, and endothelial dysfunction (Geor and Frank 2009). Clinically affected horses range in age from 6 to 20 years, but rarely are these horses presented initially as geriatric horses, unless undiagnosed until this time. Breed predilection has been observed and has been reported for some pony breeds, domesticated Spanish mustangs, Peruvian Paso's, Paso Fines, European Warmbloods, American Saddlebreds, and Morgan Horses. One common similarity among affected horses is a tendency for obesity; specific locations of fat deposition include crest of the neck, over the gluteus region, and in geldings commonly the prepuce is quite thickened with adipose tissue. Affected female horses are noted for their difficulty in being successfully bred and demonstrate abnormal ovarian cycling activity. Managers of affected horses describe these horses to "live on air" and in many cases this is despite a significant effort implemented to try to improve the horses' body condition. Upon examination of these horses, either with an ultrasound or during exploration of the peritoneal cavity significant intraabdominal fat is observed. In many cases, the presenting complaint includes a history of laminitis, many clinicians have observed the strong association between the development of laminitis in horses with EMS. The objective of this study was to describe metabolic syndrome iatrogenic in Thoroughbred horses.

Material and methods

Animals: Were studied 22 Thoroughbred horses (12 female and 10 male), between 2-5 years old, in the National Race Track "La Rinconada" Caracas-Venezuela.

Clinical signs: were polyuria, polydipsy, secondary diabetes mellitus, recurrent infection of skin, lethargy, laminitis and weight loss syndrome (Figure 1). All equine were treatment

with dexamethasone (2,2 mg/kg IA weekly for 2 months) and triamcinolone (0,09 mg/kg IM weekly for 2 months).

Hematological and Biochemistry: Bloods of sample were collected ante mortem (Aluja and Constantino 2002). Samples were processed to measure with automatic prosecution equipment: Hemoglobin g/L, Hematocrit %, Protein g/L, Leucocytes $\times 10^9$ /L. Urea Nitrogen mmol/L, Creatinine μ mol/L, Glucose mmol/L, cholesterol mmol/L, Cortisol nmol/L, Bilirubin Total μ mol/L, Unconj μ mol/L, Conj μ mol/L. Alkaline phosphatase U/L, Lactate dehydrogenase U/L, Sorbitol dehydrogenase U/L, Creatin Phosphokinase U/L, Transaminases Aspartate amino U/L, Alanine amino UL, Albumin and Globulin.

Necropsy and histology: All equine were euthanized and study by necropsy (Aluja and Constantino 2002). Samples of tissue were collected from the adrenal glands, gastric mucosa, pancreas, kidneys, liver, spleen, lungs, heart, skin and adenohypofisys (Aluja and Constantino 2002).. Tissue sections were prepared and stained with Hematoxilin & Eosin (H&E) for light microscopy (Banks 1996)

Culture: Were isolates of recurrent infection: Salmonella sp., E. coli, Streptococcus sp, Staphylococcus, Enterococcus faecalis and Enterobacter cloacae. Antibiogram revealed whose resistance to gentamicin, ciprofloxacin and nalidixic acid.

Results

Necropsy: revealed weight loss, loss fatty subcutaneous, xantomatosis of subcutaneous tissue (Figure 1). Abscess in coxal tuberos, facial and shoulder region. Multiples hemorrhages in the adrenal cortex (Figure 2). Liver was swollen, friable with fibrosis chronic and icteric. Multifocal necrotic areas were present in the other lobes (Figure 8). Renal cortical and papillary necrosis, acute tubular necrosis (Figure 4). Nine equine (female) presented pyelonefritis abscess and cystitis. Spleen presented severed congestion, hemorrhage. Equine gastric ulcer syndrome severed and ten with colitis chronic (Figure 6). Edema and hemorrhage pulmonary. Petchiae epicardial hemorrhage. Two horses with epicardial abscess. Severe laminitis chronic were observed in all cases with the distal phalanx is torn from the inner hoof wall cells of the lamellar epidermis survive, proliferate to form the weak, flaky lamellar wedge. The hoof distal phalangeal bond had weakened and the distal phalanx had descended into the hoof capsule. Crescent-shaped zone of necrosis. Osteomyelitis were observed in 16 equine.

Histology: Liver with periacinar necrosis with a prominent acinar pattern and fatty degeneration severed (Figure 9). Centre-acinar necrosis and bilirubin cluster. Necrosis and vacuolar (glycogen) degeneration islets of langerhans, fibrosis and chronic. Renal cortical and medullary necrosis, acute tubular necrosis, degeneration vacuolar and glycogen nephrosis, glomerulonephritis membranous (Figure 5). Hemorrhages in adrenal cortex, capsule thickening and atrophy cortical with coagulation necrosis of zona glomerulosa, coagulation necrosis focal zona fasciculata and coagulation necrosis, congestion of the zona reticularis (Figure 3). Spleen germinal center development within the lymphoid follicles should be noted as decreased. Reactive extramedullary hematopoiesis may be seen in conjunction with conditions that

target the destruction of lymphocytes. Decreased cellularity of the lymphoid follicles, marginal zone and red pulp region were presented. Chronic gastritis surface, erosion focal and hyperkeratosis infiltrated of lymphocytes in the lamina propria (Figure 7). Chronic colitis lymphoplasmocytic. Laminitis and osteomyelitis were showed cause failure of the hoof-distal phalanx bond the epidermal lamellae are stretched beyond their normal limits and significant epidermal lamellar necrosis.

Hematology and biochemistry: value average were Hemoglobin 52-60 g/L, Hematocrit 30-28%, Protein 25-32 g/L, Leucocytes 5,3-6,2 x 10⁹/L. Urea Nitrogen 19-21 mmol/L, Creatinine 125-130 µmol/L, Glucosa 7,27-8,8 mmol/L, cholesterol 4,7-5,4 mmol/L, Cortisol 450-520 nmol/L, Bilirrubin Total 25,2-29,5 µmol/L, Unconj 16,6-18,2 µmol/L, Conj 9,6-11,3 µmol/L. Alkaline phosphatase 61,0 -62 U/L, Lactate dehydrogenase 17,7-18,1 U/L, Sorbitol dehydrogenase 2,2-3,6 U/L, Creatin Phosphokinase 46,4-48,1 U/L, Transaminases Aspartate amino 167,2- 170 U/L, Alanine amino 3,8-4,7 UL. Albumin 22-26 g/L, Globulin 21-25 g/L.

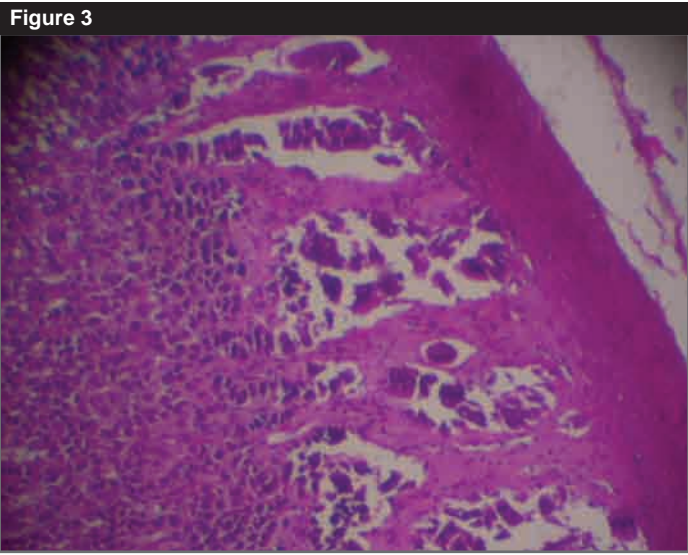
Culture: Were isolates of recurrent infection: *Salmonella sp.*, *E. coli*, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus*, *Enterococcus faecalis* and *Enterobacter cloacae*. Antibiogram revealed whose resistance to gentamicin, ciprofloxacin and nalidixic acid.



Equine with iatrogenic equine metabolic syndrome with weight loss. Abscess in coxal tuberous, facial and shoulder region and lesion of skin.



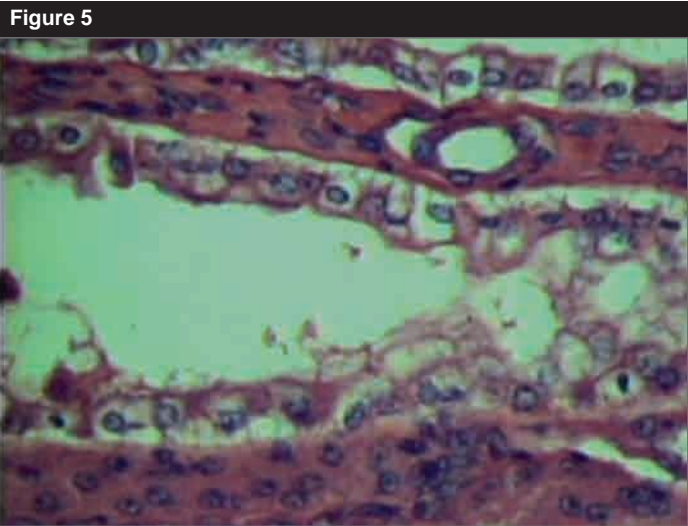
Adrenal glands of equine with atrophic and multiples hemorrhages in the adrenal cortex



Adrenal glands histology of equine with iatrogenic equine metabolic syndrome showed hemorrhages in adrenal cortex, capsule thickening and atrophy cortical with coagulation necrosis of zona glomerulosa, coagulation necrosis focal zona fasciculata and coagulation necrosis, congestion of the zona reticularis (Hematoxilin & Eosin 10X)



Kydney of equine with iatrogenic equine metabolic syndrome Renal cortical and papillary necrosis, acute tubular necrosis.



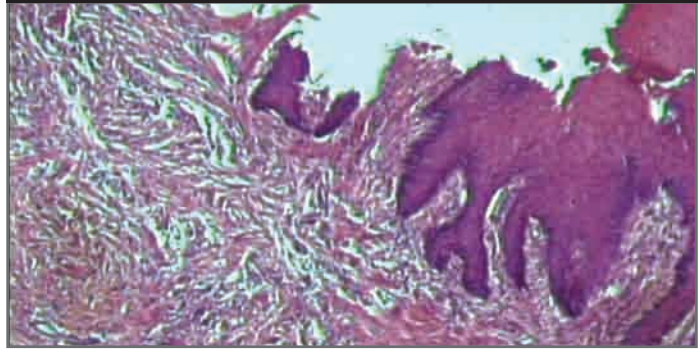
Kidneys histology of equine with iatrogenic equine metabolic syndrome acute tubular necrosis and severed degeneration vacuolar. (Hematoxilin & Eosin 20X).

Figure 6



Gastric mucosa of equine with iatrogenic equine metabolic syndrome with equine gastric ulcer syndrome severe, multiple ulcers and focal erosion with exposition of lamina propria

Figure 7



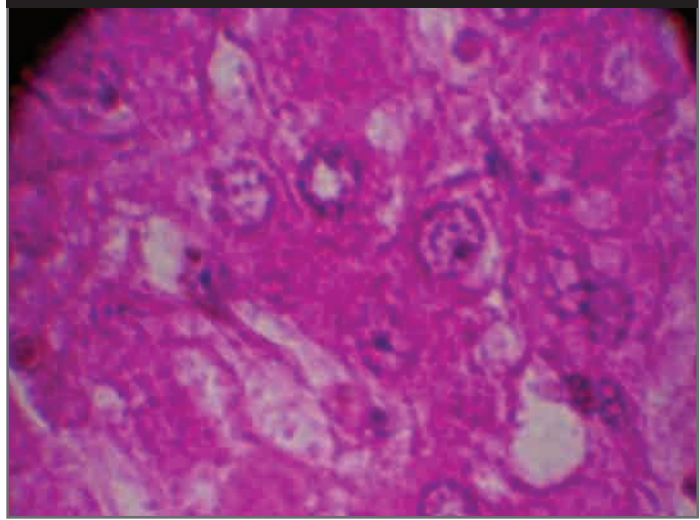
Gastric mucosa histology of equine with iatrogenic equine metabolic syndrome showed chronic gastritis surface, focal ulcer, erosion focal and hyperkeratosis infiltrated of lymphocytes in the lamina propria. (Hematoxylin & Eosin 10 X).

Figure 8



Liver of equine with iatrogenic equine metabolic syndrome, swollen, friable with fibrosis chronic and icteric. Multifocal necrotic areas were present in the other lobes

Figure 9



Liver histology of equine with iatrogenic equine metabolic syndrome with peri-acinar necrosis with a prominent acinar pattern and fatty degeneration severe (Figure 9). Centre-acinar necrosis and bilirubin cluster (Hematoxylin & Eosin 20X).

Discussion

These results suggest of an iatrogenic EMS in Thoroughbred. The metabolic syndrome is a common and complex disorder combining obesity, dyslipidemia, hypertension, and insulin resistance. It is a primary risk factor for diabetes and cardiovascular disease. We showed for the first time that the metabolic syndrome is associated with a higher fraction of oxidized LDL and thus with higher levels of circulating oxidized LDL. Hyperinsulinemia and impaired glycaemic control, independent of lipid levels, were associated with increased in vivo LDL oxidation, as reflected by the higher prevalence of high oxidized LDL. High levels of oxidized LDL were associated with increased risk of future myocardial infarction, even after adjustment for LDL-cholesterol and other established cardiovascular risk factors (Jubb et al 1984; Pacholczvk et al 2008). Situations of glucocorticoid excess such as stress or pituitary dysfunction may stimulate the production of hormonally active adipocytes that lead to metabolic syndrome (Botana et al 2002; Eustace 2008;

Hardman J and Limbird 2003). Interestingly the active adipocytes contain an enzyme called 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type-1 (11betaHSD-1). This enzyme has the critical function of turning inactive cortisone into active cortisol which is the active glucocorticoid. This production of cortisol occurs locally and exerts both paracrine (local) and autocrine (back to the originating cell) effects. Therefore, these adipocytes, due to the presence of 11betaHSD-1 have the capacity to maintain and perpetuate themselves. The overall extent to which 11betaHSD-1 generated cortisol exerts effects in the body as a whole, remains to be determined. New strategies aimed at inhibiting omental 11betaHSD-1 production are believed to be potentially useful for the management of metabolic syndrome. Moreover, although the effects of GC are apparent it is important to recognize that this is not a condition of abnormal adrenal function. Even though glucocorticoid are involved in the pathogenesis of disease, since adrenal function is normal, diagnostic assays designed for detection of altered circulating cortisol levels are within normal limits; subsequently,

therapeutic strategies aimed at treating pituitary dysfunction will have no effect on horses with EMS unless there is concurrent pituitary dysfunction present. Studies are now required to determine the exact mechanisms responsible for the increased predisposition to laminitis observed in horses with equine metabolic syndrome (Geor and Frank 2009). In Venezuela is a very common the chronic treatment of dexamethasone and triamcinolone in Thoroughbreds. Cumulative doses of dexamethasone and triamcinolone induce EMS, possibly associated with training, and career management practices. The lesions, necropsy and histology observed in this study are similar to the EMS, with the exception of obesity (Donald 1996; Jubb et al 1984). The multiple organ failures complicating the clinical and compromises the horse's life. Immunosuppression appears to be one of the consequences that lead to chronic and recurrent in these horses, not responsive to therapy. This syndrome leads to huge economic losses each year in the equine industry. In conclusion our reported a iatrogenic equine metabolic syndrome in Thoroughbred horses from Venezuela associated with overdose and chronic dexamethasone and triamcinolone.

References

- Aluja A, Constantino C. (2002). Technical of Necropsy in domestic animals. 2nd ed., pp 103. Manual Moderno. México.
- Banks W. (1996). Veterinary Applied Histology. 2nd ed., 487-492. Manual Moderno México.
- Botana L, Landoni F, Martín T. (2002). Veterinary Pharmacology and therapeutical. 1 ed., pp 3-690. Madrid España.
- Eustace R. (2008). Equine metabolic syndrome and Cushing's disease clinical trial. Vet Rec. 2, 163-164.
- Donald M. (1996). Special Veterinary Pathology. 3rd ed., 24-29. Mosby, USA.
- Geor R, Frank N. (2009). Metabolic syndrome-from human organ disease to laminar failure in equids. Vet Immunol Immunopathol. 129, 141-151.
- Hardman J & Limbird L. (2003). Pharmacology and therapeutical bases. 10th ed., vol. 2, pp 1237-1251. Mc Graw-Hill. Mexico-Mexico.
- Johnson PJ. (2002). The equine metabolic síndrome peripheral Cushing's syndrome. Vet Clin North Am Equine Pract. 16, 271-93.
- Jubb K, Kennedy P. y Palmer N. (1984). Domestic animal pathology. 3 ed., vol. 2., 59-90. Hemisferio Sur, S.R.L. Uruguay.
- Pacholczvk M, Ferenc T, Kowalski J. (2008). The metabolic syndrome. Part I: definitions and diagnostic criteria for its identification. Epidemiology and relationship with cardiovascular and type 2 diabetes risk. Postepy Hig Med Dosw. 62, 36-42.

libros
publicaciones
volantes
papelaria
Imagen corporativa
tarjetas de presentación
carpetas
folletos
encartes
revistas
afiches
trípticos

Comunicación Visual

Diseño Gráfico



mayraespino@gmail.com

Índices acumulativos de autores

Volumen 28 - 2009

Aguzzi Alejandra,	2009; 28(1): 19, 28	Majano Mendoza Amanda,	2009; 28(1): 23
Almaguer Marisol Díaz,	2009; 28(2): 51	Manfredi Roberto,	2009; 28(1): 12
Aramburú Guillermo,	2009; 28(1): 19	Manfredi Roberto,	2009; 28(2): 48, 54
		María Esther Gómez,	2009; 28(2): 71
Benedetta Piergentili,	2009; 28(2): 54	Márquez M. A.	2009; 28(1): 43
Bermúdez Víctor,	2009; 28(2): 77	Márquez Mercedes Elena,	2009; 28(2): 71
Bonfante-Cabarcas Rafael Armando,	2009; 28(2): 66	Martínez Motas Isabel,	2009; 28(1): 23
Bravo Fariñas Laura,	2009; 28(1): 23	Martínez Romero María Rosarys,	2009; 28(2): 51
Brunocilla Eugenio,	2009; 28(2): 54	Mederos Cuervo Lilian,	2009; 28(1): 23
		Mederos Cuervo LM,	2009; 28(2): 61
Carrizales Maira Soledad,	2009; 28(2): 71	Mir Narbona Ioana,	2009; 28(2): 63
Castro-Escarpulli, Graciela,	2009; 28(1): 23	Montoro Cardoso Ernesto,	2009; 28(2): 51, 61
Correa María Fernanda,	2009; 28(1): 36	Morales Abelardo,	2009; 28(2): 77
Chacón Lozán Francisco J,	2009; 28(2): 66	Morales María,	2009; 28(2): 77
Chappi Estévez Yanet,	2009; 28(2): 63	Motta Norma,	2009; 28(1): 40
Chávez E. Paredes C,	2009; 28(1): 43	Mújica Andrés,	2009; 28(1): 36
		Muñoz Marielena,	2009; 28(2): 71
Daubront Yumar Vanessa,	2009; 28(1): 40	Núñez Fidel,	2009; 28(1): 23
Daza Damelis,	2009; 28(2): 66		
Dentale Nicola,	2009; 28(2): 54	Peña Yudith,	2009; 28(2): 71
Díaz Piñera Addys,	2009; 28(2): 63	Pisonero Sosias José,	2009; 28(2): 63
		Planas Gilberto,	2009; 28(2): 77
Enseñat Sánchez Raimy,	2009; 28(2): 63	Pomier Suárez O,	2009; 28(2): 61
		Pultrone Cristian,	2009; 28(2): 54
Fernández Abreu Anabel,	2009; 28(1): 23		
Fiorino Sirio,	2009; 28(2): 48	Ramírez A.,	2009; 28(1): 43
Fiterre Lancis Irene,	2009; 28(2): 63	Ramírez Álvarez Margarita,	2009; 28(1): 23
Fonseca Gómez C,	2009; 28(2): 61	Ricco Verónica,	2009; 28(1): 19
		Rodríguez Carlos,	2009; 28(2): 77
García Douglas,	2009; 28(2): 66	Rodríguez María,	2009; 28(1): 40
García Francisco,	2009; 28(2): 77	Rodríguez Uribe Sandra,	2009; 28(2): 63
García Grechen,	2009; 28(2): 51	Rondón J Cristians G. C.,	2009; 28(1): 43
Gómez Gilberto Pardo,	2009; 28(2): 63		
Gómez-Barrios Juan Vicente,	2009; 28(1): 2	Sabbatani Sergio,	2009; 28(2): 48
González-Mujica Freddy,	2009; 28(1): 40	Sánchez M María del Rosario.	2009; 28(1): 31, 36
Guanche Garcell Humberto,	2009; 28(2): 63	Sardiña Aragón Misleidis,	2009; 28(2): 51
		Sukkar Elias,	2009; 28(2): 71
Hasegawa Masahisa,	2009; 28(1): 40	Sutil de Naranjo Rosalía de Carmen,	2009; 28(2): 71
Khloid Yulimir,	2009; 28(2): 71	Tortorici Víctor,	2009; 28(1): 2
		Trujillo Avalos A,	2009; 28(2): 61
Leal Luís,	2009; 28(2): 77		
López Pedro,	2009; 28(2): 77	Virga Carolina,	2009; 28(1): 19, 28