Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor / Copyright

Contacto/Contact:

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:1-85

Enero - Abril 2008 / January - April 2008

EDITORIALS / EDITORIALES

3-5.- ANÁLISIS MUTACIONAL DE K-Ras EN CARCINOMA COLORRECTAL METASTASICO. IMPLICACIONES TERAPEÚTICAS.

6-8.- MUTATIONAL ANALYSIS OF K- Ras IN METASTATIC COLORECTAL CANCERS AND THERAPEUTIC IMPLICATIONS.
Marta Herreros-Villanueva and Carlos García-Girón
Unidad de Investigación y Servicio de Oncología. Hospital General Yagüe. Burgos. España

ORIGINALS / ORIGINALES

9-19.- EFECTO TERAPÉUTICO DE QUINOLONAS EN 29 PACIENTES CON TUBERCULOSIS GENITOURINARIA: 18 AÑOS DE SEGUIMIENTO
Armando Alberte Castiñeiras, Pilar Pérez Pascual, Cristina Alberte Pérez, José M Martinez-Sagarra Oceja
Microbiología y Urología. Hospital del Río Hortega, Valladolid. Gerencia de Atención Primaria, Segovia.

20-26.- HISTOLOGICAL STUDIES OF THE EFFECTS OF ORAL ADMINISTRATION OF ARTESUNATE ON THE MEDIAL GENICULATE BODY OF ADULT WISTAR RATS.
A.O.Eweka, J.O. Adjene
Department of Anatomy. School of Basic Medical Sciences. College of Medical Sciences, University of Benin. Benin City. Edo State. Nigeria.

27-35.- FIRST DIGIT DISTRIBUTION IN SOME BIOLOGICAL DATA SETS. POSSIBLE EXPLANATIONS FOR DEPARTURES FROM BENFORD'S LAW.
José Luis Hernández Cáceres, Jorge Luis Pollo García, Carlos M. Martínez Ortiz, and Luis García Domínguez
Center for Cybernetics Applications to Medicine, Havana, Cuba. Hospital for Sick Children, Toronto, Canada

36-42.- LA DENSIDAD ÓPTICA APLICADA AL ESTUDIO LECTINHISTOQUÍMICO DE RADICALES GLUCÍDICOS NÉFRICOS EN RATAS DIABÉTICAS TIPO 2
Ana V Frontini, Noriyuki Hisano, Alberto E D'Ottavio.
Facultad de Ciencias Médicas y Consejo de Investigaciones. Universidad Nacional de Rosario. Rosario. Argentina

43-53.- EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO (EGFR) EN EL CARCINOMA COLORRECTAL PRIMARIO Y METASTÁSICO.
Manuel Claver Criado, Marta Herreros Villanueva, Carlos García Girón,Celina Echevarria Iturbe, Belen Perez Mies, María Jesús Coma-del-Corral
Servicio de Patología, Unidad de Investigación, Servicio de Oncología Médica. Hospital General Yagüe, Complejo Asistencial de Burgos. Burgos. España

CASE REPORTS / CASOS CLÍNICOS

54-60.- RESECCIÓN DEL EXTREMO PROXIMAL DEL PERONÉ (TÉCNICA DE MALAWER). A PROPÓSITO DE UN CASO
Alfredo Martín Acosta Inguanzo, Lázaro González Robaina, Rafael Echevarria Castillo, Manuel González Reina.
Ortopedia y Traumatología. HMC "Dr. Carlos J. Finlay". La Habana. Cuba

INTERNET REVIEWS / REVISIONES EN INTERNET

61-66.-FISIOPATOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA RENAL AGUDA. NUEVAS CLAVES PARA UN VIEJO DILEMA

67-71.- PHYSIOPATHOLOGY OF ACUTE RENAL FAILURE. NEW CLUES FOR AN OLD DILEMMA
Carlos G. Musso, Juliana Reynaldi, Juan F. Macías Núñez
Nephrology Division, Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina. Nephrology Division, Hospital Universitario de Salamanca. España.

72-76.- HACIA UNA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA
Enrique García Toro MD.
Servicio de Anatomía Patologica. Complejo Asistencial de Burgos. España

LETTERS TO THE EDITOR / CARTAS AL EDITOR

77-78.- INTESTINAL DIALYSIS IN VERY OLD PATIENTS

79-80.- DIÁLISIS INTESTINAL EN PACIENTES MUY ANCIANOS
Musso CG, Michelangelo H, Reynaldi J, Martinez B, Vidal F, Quevedo M, Parot M, Waisman G, Algranati L
Nephrology and Internal Medicine Divisions. Hospital Italiano de Buenos Aires - Argentina

81-85.- FRACTURA AVULSIVA DE LA TUBEROSIDAD ISQUIÁTICA.
Alfredo Martín Acosta Inguanzo, Lázaro González Robaina, Manuel González Reina, Jesús Carlos Uranga Gafas, Virginia Fernández Niebla.
Ortopedia y Traumatología. HMC "Dr. Carlos J. Finlay", Ciudad de la Habana. Cuba.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:3-5

Editorial:

ANÁLISIS MUTACIONAL DE K-Ras EN CARCINOMA COLORRECTAL METASTASICO. IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS.

Marta Herreros-Villanueva* y Carlos García-Girón .**

* Unidad de Investigación y ** Servicio de Oncología.
Hospital General Yagüe. Burgos. España

mhv @ hgy.es

English version

El gen Ras, codifica para una proteína G de membrana que actúa como un interruptor molecular en la transducción de señales relacionadas con la proliferación y diferenciación celular. Hasta el momento se han descrito tres proto-oncogenes Ras que codifican pequeñas GTPasas (H-Ras, N-Ras, K-Ras4A y K-Ras4A). Estas proteínas se encuentran unidas a membrana y operan como moléculas binarias que se ciclan entre formas inactivas, unidas a GDP y formas activas que llevan unido GTP [1]. Cada GTPasa posee la capacidad de transducir señales desde los receptores hasta el citoplasma a través de rutas efectoras que regulan el crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis. La GTPasa, K-Ras se localiza en el cromosoma 12p12 y tiene aproximadamente 45 Kb de extensión[2]. La proteína codificada por este gen adopta una conformación estructural con un peso de 21 Kd, se localizan en la membrana plasmática y participa en la vía de transducción de señales y en diferenciación celular[3], [4].

La conformación activa de Ras depende de la tasa de recambio GDP/GTP, estando inactiva cuando lleva unido GDP y activa cuando posee unido GTP[5]. La unión de GDP o GTP depende de factores proteicos como el GEFs (factores de cambios de nucleótidos de guanina) que se une a Ras y acelera la disociación de GDP o de proteínas de unión de

actividad GTPasa (GAPs) que incrementa la actividad GTPasa intrínseca de Ras. Un defecto en la desactivación de este ciclo posee graves implicaciones sobre patologías humanas. Las proteínas que tienen puntos de mutación específicos que confieren insensibilidad GTPasa, permanecen bloqueadas en un estado permanente unido a GTP produciendo activación aberrante de cascadas de señalización dependientes de Ras[6].Esto puede promover proliferación celular y protección frente a la apoptosis, por lo que aproximadamente el 30% de los cánceres humanos poseen Ras mutado. Estas mutaciones son frecuentes en cáncer colorrectal, pancreático, pulmonar, de vejiga, conducto biliar y tiroideo y su estudio pueden indicar prognostico y predecir en parte, la respuesta a tratamientos. Las alteraciones cruciales de este gen, responsables de la alteración maligna, se encuentran en los codones 12, 13 y 61[7, 8].

Una de las dianas actuales en mCRC es el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), el cual esta activado en carcinogénesis colorrectal a través de la unión de un ligando en su dominio extracelular. La autofosforilación del dominio tirosin kinasa de EGFR activa las vías de señalización activadas incluyendo la constituida por Ras y en la que interfiere apoptosis, proliferación celular, angiogénesis y metástasis.

Estudios en los últimos años sobre tratamientos del de cáncer colorrectal metastático (mCRC) han mostrado buenas respuestas empleando terapias basadas en anticuerpos monoclonales como Panitumumab o Cetuximab, directamente relacionado con la activación de la ruta de señalización de K-Ras[9, 10, 11, 12]. Ambos anticuerpos están dirigidos contra el receptor de crecimiento epidérmico (EGFR): Cetuximab es un anticuerpo humanizado mientras que Panitumumab es humano.

Además, recientemente distintos trabajos muestran que las mutaciones de K-Ras en estos tumores pueden tener implicaciones en la respuesta clínica a Panitumumab. Estos estudios indican que la eficacia en mCRC está confinada a pacientes con tumores que carecen de mutaciones en K-Ras. Así, los pacientes con K-Ras salvaje que reciben Panitumumab presentan mejores respuestas que los pacientes que recibieron el mejor tratamiento de soporte. Por el contrario, no existen diferencias entre los pacientes con mejor tratamiento de soporte y los que reciben Panitumumab cuando poseen K-Ras mutado[13].

La conclusión es que Panitumumab y Cetuximab mejoran la tasa de supervivencia libre de progresión y mejoran la calidad de vida de pacientes con cáncer colorrectal que no poseen mutaciones en K-Ras. Debido a que se requiere K-Ras salvaje para observar eficacia en pacientes con mCRC, debe ser considerado el análisis mutacional de K-Ras como criterio de selección de pacientes candidatos a recibir terapia Panitumumab o Cetuximab.

REFERENCIAS

1.- Hancock JF. Ras proteins: different signals from different locations. Nature Rev Mol Cell Biol. 2003; 4, 373-384.

2.- Mu DQ, Peng YS, Xu QJ. Values of mutations of K-Ras oncogene at codon 12 in detection of pancreatic cancer: 15-year experience. World J Gastroenterol 2004;10:471 -475.

3.- Roa JC, Roa I, de Aretxabala X, Melo A, Faria G, Tapia O. Mutacion del gen K-Ras gene en el cáncer de la vesícula biliar. Rev Med Chil 2004;132:955-60.

4.- Walsh AB, Bar -Sagi D. Differential activation of the Rac pathway by Ha-Ras and K-Ras. J Biol Chem 2001;276:15609 -15615.

5.- Bourne HR, Sanders DA, McCormick F. The GTPase superfamily a conserved switch for diverse cell functions. Nature. 1990; 348:125-132.

6.- Downward J. Targeting Ras signalling pathways in cancer therapy. Nat Rev Cancer 2003;3:11-22.

7.- Kiaris H, Spandidos DA: Mutations of Ras genes in humantumours (Review). Int J Oncol. 1995; 7: 413-421, .

8.- Finkelstein SD, Sayegh R, Bakker A and Swalsky P: Determination of tumor aggressiveness in colorectal cancer by K-Ras-2 analysis. Arch Surg 1993; 128: 526-531.

9.- Hilger RA, Scheulen ME, Strumberg D. The Ras-Raf-MEK-ERK Pathway in the Treatment of Cancer. Onkologie 2002;25: 511-518.

10.- Pao W, Wang TY, Riely GJ, Miller VA, Pan Q, Ladanyi M, Zakowski MSF, Heelan RT, Kris MG, Varmus HE. K-Ras Mutations and Primary Resistance of Lung Adenocarcinomas to Gefitinib or Erlotinib. PloS Medicine. 2005; 2:57-61.

11.- Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Cote JF, Tomasic G, Penna C, Ducreux M, Rougier P, Penault-Llorca F, Laurent-Puig P. K-Ras Mutation Status is Predictive of Response to Cetuximab Therapy in Colorectal Cancer. Cancer Res 2006; 66: 3992-3995.

12.- Benvenuti S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Zanon C, Moroni M, Veronese S, Siena S, Bardelli A. Cancer Res 2007;67: 2643-2648.

13.- Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, Juan T, Sikorski R, Suggs S, Radinsky R, Patterson SD, Chang DD. Wild-Type K-Ras Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. J Clin Oncol. 2008 Mar 3; [Epub ahead of print]

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:6-8

Editorial:

MUTATIONAL ANALYSIS OF K-Ras IN METASTATIC COLORECTAL CANCERS AND THERAPEUTIC IMPLICATIONS.

Marta Herreros-Villanueva* and Carlos García-Girón**

* Research Unit and ** Oncology Department.
Hospital General Yagüe. Burgos. España

mhv @ hgy.es

Version española

Three human *Ras* proto-oncogenes encode small GTPases (HRas,N-Ras, K-Ras4A and K-Ras4B) that operate as binary molecular switches that cycle between an inactive GDP-bound form and an active GTP-bound form at the membrane[1]. K-Ras is localizated in cromosome 12p12 and has 45 Kb in extension[2]. The protein codificated by this gene have a structural conformation with 21 Kd in cytoplasm membrane.

Each GTPase has the capacity to transduce signals from cell-surface receptors into the cytoplasm through specific effector pathways that regulate cell growth, differentiation and apoptosis[3], [4].

Ras in an active conformation depends on the rates of GDP/GTP exchange. When Ras is bound to GDP is inactive and when it is bound to GTP is active[5].Guanine-nucleotide exchange factors (GEFs) bind to Ras and markedly accelerate the rate of GDP dissociation. By contrast, deactivation requires the binding of GTPase-activating proteins (GAPs) that significantly enhance the intrinsic GTPase activity. A defective 'off' switch in this cycle has major implications for human disease. Proteins that have specific point mutations that render the GTPase insensitive are locked in the GTP-bound state, causing aberrant downstream signalling[6].This can promote cell proliferation and

protection from apoptosis; indeed, approximately 30% of human cancers contain mutation in Ras genes.

The mutations are common in colorectal cancer, pancreatic cancer, lung adenocarcinoma, gall bladder cancer, bile duct cancer and thyroid cancer. Also can indicate prognosis and may be predictive of drug response. The crucial alterations of the K-Ras gene which are responsible for malignant transformation are point mutations in codons 12, 13 and 61 7, 8.

One of the most promising targets in mCRC is the epidermal growth factor receptor (EGFR), which is activated in colorectal carcinogenesis by the binding of a ligand on the extracellular part of it. The autophosphorylation of the intracellular tyrosine kinase domain of the EGFR activates downstream signaling pathways, including the Ras pathway, which interfere with apoptosis, cell proliferation, angiogenesis, and the metastatic process.

In particular, recent publications have shown that the successful treatment of metastatic Colorectal Cancer (mCRC), using monoclonal antibody therapies such as Panitumumab or Cetuximab, is directly linked to the oncogenic activation of the K-Ras signalling pathw9, 10, 11, 12.This monoclonal antibodies directed against the epidermal growth factor receptor (EGFR): Cetuximab is a chimeric antibody while Panitumumab is fully human.

Recent studies have suggested that mutations in K-Ras in tumors may impact the clinical response to Panitumumab. The efficacy in mCRC is confined to patiens with tumors lacking K-Ras mutations. Wild type K-Ras patients receiving Panitumumab have better CRC symptoms versus best supportive care patients. On the other hand there is no difference between patients treated with best supportive care and Panitumumab patients when they have K-Ras mutation13.

Panitumumab and Cetuximab improves overall survival and progression-free survival and preserves quality-of-life measures in patients with colorectal cancer in whom have no K-Ras mutations. As, wild type K-Ras is required for efficacy in patients with mCRC, K-Ras status should be considered in selecting patients with as candidates for Panitumumab or Cetuximab therapy.

REFERENCES

1.- Hancock JF. Ras proteins: different signals from different locations. Nature Rev Mol Cell Biol. 2003; 4, 373-384.

2.- Mu DQ, Peng YS, Xu QJ. Values of mutations of K-Ras oncogene at codon 12 in detection of pancreatic cancer: 15-year experience. World J Gastroenterol 2004;10:471 -475.

3.- Roa JC, Roa I, de Aretxabala X, Melo A, Faria G, Tapia O. Mutacion del gen K-Ras gene en el cáncer de la vesícula biliar. Rev Med Chil 2004;132:955-60.

4.- Walsh AB, Bar -Sagi D. Differential activation of the Rac pathway by Ha-Ras and K-Ras. J Biol Chem 2001;276:15609 -15615.

5.- Bourne HR, Sanders DA, McCormick F. The GTPase superfamily a conserved switch for diverse cell functions. Nature. 1990; 348:125-132.

6.- Downward J. Targeting Ras signalling pathways in cancer therapy. Nat Rev Cancer 2003;3:11-22.

7.- Kiaris H, Spandidos DA: Mutations of Ras genes in humantumours (Review). Int J Oncol. 1995; 7: 413-421, .

8.- Finkelstein SD, Sayegh R, Bakker A and Swalsky P: Determination of tumor aggressiveness in colorectal cancer by K-Ras-2 analysis. Arch Surg 1993; 128: 526-531.

9.- Hilger RA, Scheulen ME, Strumberg D. The Ras-Raf-MEK-ERK Pathway in the Treatment of Cancer. Onkologie 2002;25: 511-518.

10.- Pao W, Wang TY, Riely GJ, Miller VA, Pan Q, Ladanyi M, Zakowski MSF, Heelan RT, Kris MG, Varmus HE. K-Ras Mutations and Primary Resistance of Lung Adenocarcinomas to Gefitinib or Erlotinib. PloS Medicine. 2005; 2:57-61.

11.- Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Cote JF, Tomasic G, Penna C, Ducreux M, Rougier P, Penault-Llorca F, Laurent-Puig P. K-Ras Mutation Status is Predictive of Response to Cetuximab Therapy in Colorectal Cancer. Cancer Res 2006; 66: 3992-3995.

12.- Benvenuti S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Zanon C, Moroni M, Veronese S, Siena S, Bardelli A. Cancer Res 2007;67: 2643-2648.

13.- Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, Juan T, Sikorski R, Suggs S, Radinsky R, Patterson SD, Chang DD. Wild-Type K-Ras Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. J Clin Oncol. 2008 Mar 3; [Epub ahead of print]

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

EFECTO TERAPÉUTICO DE QUINOLONAS EN 29 PACIENTES CON TUBERCULOSIS GENITOURINARIA: 18 AÑOS DE SEGUIMIENTO

Armando Alberte Castiñeiras[1] Pilar Pérez Pascual[1],Cristina Alberte Pérez[2], José M Martinez-Sagarra Oceja[3]

[1]Microbiología y [3] Urología. Hospital del Río Hortega, Valladolid. [2]Gerencia de Atención Primaria. Segovia. España.

aalberte @ hurh.sacyl.es

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:8-19

Comentario del revisor Prof. Francisco Abad Santos, MD. PhD. Farmacología Clínica. Hospital la Princesa y Universidad Autónoma de Madrid. España.

Comentario del revisor Prof. José María Eirós Bouza MD. PhD. Titular de Microbiología de la Universidad de Valladolid. España

---

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. Valorar la eficacia bacteriológica de un tratamiento con quinolonas en tuberculosis genitourinaria, en un seguimiento de más de diez años.

MATERIAL Y MÉTODOS. Veinte y nueve pacientes con TBU, casos nuevos, fueron tratados con ofloxacino (200 mg cada 12 h. vo., 6 meses), rifampicina (600 mg/día vo., 3 meses) e isoniacida (300 mg/día vo., 3 meses), entre 1989 y 1992, diagnosticados por aislamiento de M tuberculosis de las orinas procesadas. Se asumió la conversión bacteriológica (negativización) como un signo clínico de eficacia, comparándola, como única variable, con un grupo control de 150 enfermos con tuberculosis genitourinaria que recibieron tratamiento convencional. El seguimiento fue realizado, en ambos grupos, mensualmente durante los seis primeros meses, seis meses más tarde y, posteriormente a lo largo de diez años después de la finalización del tratamiento.

RESULTADOS. El cultivo fue positivo con más de 100 colonias en el 62% de los pacientes, siendo el frotis positivo en el 56%. Todas las cepas de M tuberculosis fueron sensibles a rifampicina, isoniacida y ofloxacino. Tres pacientes abandonaron el tratamiento. La conversión bacteriológica (negativización) fue (en porcentajes) del 92.6 (primero y segundo mes) y 100 en los siguientes estudios. En el grupo control, con terapia tradicional, la conversión fue: 90, 87, 93 y 100 en los restantes. El tratamiento con ofloxacino mostró una conversión bacteriológica similar al tratamiento convencional (p>0.05, test exacto de Fisher).

CONCLUSIÓN. Ofloxacino, en combinación con rifampicina e isoniacida, mostró una respuesta bacteriológica y clínica eficaz, en la tuberculosis genitourinaria.

PALABRAS CLAVE: Tratamiento de la tuberculosis; Tuberculosis urinaria; Ofloxacino; Conversión bacteriológica, quinolonas.

SUMMARY

BACKGROUND. The aim of this study was to evaluate the antibiotic therapy efficacy of quinolones in genitourinary tuberculosis.

MATERIAL AND METHODS. Twenty nine patients with urinary tuberculosis were treated with ofloxacin (200 mg/12 h, 6 months), rifampin (600 mg/day, 3 months) and isoniazid (300 mg/day, 3 months) between 1989 and 1992. All patients, new cases, were diagnosed by isolation of Mycobacterium tuberculosis in one of the three morning urine samples. Bacteriological culture conversion

(negativization) was assesed as a clinical guide of efficacy, comparing it, as the only parameter, against a control group (150 patients) with genitourinary tuberculosis and conventional therapy. Bacteriological follow-up studies were performed in both groups monthly for 6 months, then again 6 months later and then every year for 10 years after completion of treatment.
RESULTS. In the 29 patients, the initial culture was positive with over 100 colonies per culture (62%), and the smear was positive in 56% of the patients. All strains were susceptible to rifampicin, isoniazid and ofloxacin. Three patients discontinued therapy, one due to liver disease and another due to an allergic reaction and the third for not compliance. Beginning with the first month of treatment, the bacteriological conversion was 92.6% (first and second month) and 100% in the remaining controls. In the control group, wich received conventional treatment, the conversion was: 90%, 87%, 93% and 100% in the remaining controls. Treatment with ofloxacin showed a bacteriological conversion similar to the conventional treatment (p>0.05, Fisher`s exact test).
CONCLUSION. After 10 years of patient follow-up, we conclude that ofloxacin, in combination with rifampin and isoniazid (both for 3 monts only) is effective in genitourinary tuberculosis, providing satisfactory bacteriological and clinical efficacy.

KEY WORDS: Tuberculosis therapy; Urinary tuberculosis; Ofloxacino; Tuberculosis conversion, quinolones.

INTRODUCCION

La tuberculosis (TB), enfermedad causada por *Mycobacterium tuberculosis*, puede ser mortal si no se la trata adecuadamente. La incidencia de tuberculosis está aumentando aproximadamente un 0.4% por año, observándose este incremento principalmente en el Africa subsahariana y en los diferentes países de la antigua Unión Soviética (WHO 2003a). En cuanto a la morbi-mortalidad, cada año contraen la enfermedad unos ocho millones de personas, muriendo aproximadamente dos millones[1].

En todas sus formas de presentación clínica, la tuberculosis continúa teniendo una incidencia alta en nuestro medio[2]. Actualmente, las pautas de tratamiento, que están bien definidas[3-5], tienen una duración de 6 meses (pauta corta) o de 9 meses. En la pauta corta se adiciona, piracinamida a la combinación de rifampicina (RMP) e isoniacida (INH). Aunque la eficacia de este tratamiento ha sido demostrada plenamente, su uso puede originar efectos secundarios indeseables. De ahí la búsqueda constante de nuevas posibilidades terapéuticas[7], cuyos objetivos pretenden reducir la duración del mismo, sin perder la eficacia, disminuyendo los efectos secundarios de los fármacos utilizados, propiciando la adhesión al mismo por parte del paciente[8].

La aparición de las quinolonas fluoradas, con actividad frente a M tuberculosis, las hace interesantes en el tratamiento de la TB, por disponer de una farmacocinética favorable y de una baja toxicidad[9-12]. Ofloxacino presenta una buena biodisponibilidad consiguiendo concentraciones sanguíneas altas, siendo la eliminación renal superior al 90% durante las primeras 24 horas después de su administración[13]. Por otra parte, también ha demostrado su eficacia en el tratamiento de la tuberculosis primaria, tanto en monoterapia como asociado a otros fármacos antituberculosos[14], con los cuales no presenta ni antagonismos ni reacciones cruzadas[15-16]. En general, las fluoroquinolonas pueden aportar los siguientes beneficios en los regímenes antituberculosos: por un lado, incrementan el efecto bactericida y esterilizador del tratamiento combinado al inhibir la girasa-ADN, aumentando la penetración en los focos de la infección, y, en segundo lugar, mejoran el cumplimiento del tratamiento, debido al perfil de seguridad que presentan[17].

Por todo ello, consideramos oportuno, en 1989, investigar la eficacia de ofloxacino, asociado a otros fármacos antituberculosos (isoniacida y rifampicina), en el tratamiento de la TB genitourinaria. Como marcador de la eficacia del tratamiento se consideró la conversión bacteriológica (negativización) de las muestras urinarias estudiadas, así como el seguimiento realizado en casi dos décadas a los 29 pacientes incluidos dentro del estudio con objeto de detectar recaídas o fracasos del mismo. Este estudio se comparó con un grupo control de 150 pacientes tratados con la pauta corta de seis meses. Finalmente, se valora la novedad que representó, en aquel momento, dicho régimen terapéutico en nuestro País.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes: criterios de inclusión

a. Pacientes tratados con ofloxacino

Fueron incluidos 29 pacientes (14 mujeres y 15 hombres), con edades comprendidas entre 16 y 67 años (media de 50.7 años) con tuberculosis genitourinaria confirmada bacteriológicamente. Se excluyeron embarazadas, madres en periodo de lactancia y menores de 15 años (Tabla 1). Todos eran casos nuevos, es decir, pacientes que no habían sido diagnosticados ni tratados previamente de tuberculosis. Todos los pacientes fueron informados según las normas establecidas, dando su consentimiento. La tuberculosis genitourinaria fue diagnosticada por aislamiento de *M tuberculosis* de una de las tres muestras de orina matutina remitidas al laboratorio.

TABLA 1. Pacientes incluidos en el protocolo y clínica inicial

Paciente nº	Edad	Sexo	Clínica
1	50	V	Cistitis
2	29	M	Cólico nefrítico
3	60	V	Epididimitis
4	50	M	Dolor lumbar. Cistitis.
5	64	V	Prostatitis
6	45	V	Dolor lumbar
7	16	M	Cistitis
8	64	M	Cistitis
9	64	M	Cistitis. Síndrome constitucional
10	67	V	Cistitis
11	58	V	Cistitis
12	63	M	Dolor lumbar
13	62	V	Dolor lumbar
14	48	V	Epididimitis bilateral. Prostatitis
15	46	M	Cistitis
16	56	M	Dolor lumbar
17	60	V	Epididimitis. Prostatitis
18	54	M	Pielonefritis. Incontinencia
19	56	V	Dolor lumbar
20	35	M	Dolor lumbar
21	46	M	Cólico nefrítico derecho
22	44	V	Piuria y hematuria
23	44	V	Cistitis
24	40	M	Cólico nefrítico izdo. Cistitis. Sínd. constitucional
25	24	M	Cistitis
26	52	V	Dolor lumbar
27	56	V	Epididimitis bilateral
28	66	M	Cistitis
29	52	V	Cólico nefrítico. Mal de Pott.

M= mujer; V= varón

b. Grupo control
Constituido por 150 pacientes diagnosticados microbiológicamente de tuberculosis genitourinaria en los cinco años anteriores, a los cuales se les había realizado el mismo protocolo de seguimiento bacteriológico que el grupo de estudio, con objeto de comparar la eficacia de ambas pautas en términos de conversión bacteriológica.

Definiciones

- **Caso nuevo. Paciente sin antecedentes de tuberculosis ni de tratamiento antituberculoso previo.**
- **Fracaso de tratamiento. No observar conversión bacteriológica después de tres meses de tratamiento.**
- **Recaída. Hallazgo de un frotis positivo (BAAR) y/o aislamiento de *M tuberculosis* en un paciente que completa los 6 meses de tratamiento.**
- **Cura probable. Paciente en el que, una vez finalizados los 6 meses de tratamiento, no sufre ni recaída ni fracaso de tratamiento.**
- **Cura. Paciente en el que, una vez finalizado su tratamiento, no se observa ninguna recaída después de 12 meses de seguimiento posterior.**

Investigación y controles microbiológicos

Las muestras fueron procesadas siguiendo la técnica de decontaminación con ácido sulfúrico al 6%[18], procediéndose, a partir del sedimento obtenido, a realizar el frotis para visualización y el cultivo en medio de Lowenstein Jensen y piruvato, incubándose a 35ºC durante un periodo máximo de 8 semanas. Una vez observado crecimiento en los medios sólidos, se procedió a la identificación utilizando sondas de *M tuberculosis* complex (Accuprobe, GenProbe, bioMérieux).

Antibioterapia
Estudio con ofloxacino. Ofloxacino se administró por vía oral, 200 mg/12 horas, durante 6 meses. En los tres primeros meses se asoció rifampicina (600 mg/día, oral) e isoniacida (300 mg/día, oral)
Grupo control. Se administró rifampicina (600 mg/día, oral) e isoniacida (300 mg/día, oral) durante los seis meses que duró el tratamiento. Durante los dos primeros meses se asociaron pirazinamida (25 mg/kg/día, oral) y etambutol (25 mg/kg/día, oral).

Seguimiento microbiológico
Durante el tratamiento se llevó a cabo procesándose mensualmente tres muestras de orina matutinas. Una vez finalizado el tratamiento se realizaron controles microbiológicos a los 6 meses y cada año después de la finalización del tratamiento.

Controles clínicos

Los estudios básicos incluyeron: perfil sanguíneo completo, pruebas de función renal y hepática, radiografía de tórax y urograma endovenoso. Las pruebas sanguíneas se repitieron cada mes, al igual que las de la función renal y hepática. El urograma intravenoso se repitió a los 3 y 6 meses de tratamiento.

Determinación de la sensibilidad de *M tuberculosis*

A ofloxacino

La prueba de sensibilidad a ofloxacino (DL 8280 Hoechst-Roussel, ahora Aventis) se determinó en Mycobacteria 7H11 agar (Difco, Detroit), suplementado con Middlebrook OADC enrichment (Difco). En primer lugar, se preparó una solución madre con 10 mg de ofloxacino que se disolvieron en 0.3 ml de NaOH 0.1 N, añadiendo a continuación 9.4 ml de H_2O, y finalmente 0.3 ml de ClH 0.1 N, con lo que se obtuvo una solución de 1000 mcg/ml, con un pH de 5.8. Dicha solución se diluyó de forma adecuada con agua, añadiéndose asépticamente al medio antes esterilizado, para conseguir las concentraciones críticas de 1 y 4 mcg/ml. Los medios, con los antibióticos, se distribuyeron en tubos de tapón de rosca, solidificándolos en posición inclinada. Los inóculos de cada cepa fueron preparados a una turbidez igual a MacFarland nº. 1, diluidos posteriormente al 1/10010. La ausencia de crecimiento en el tubo con la concentración de 1 mcg/ml se interpretó como cepa sensible y el crecimiento a las concentraciones de 1 y 4 mcg/ml, como resistente.

A rifampicina e isoniacida

Se siguió el método de las proporciones de Canetti[19]. Una cepa se consideró resistente cuando el número de colonias creciendo en el medio con fármacos era superior o igual al 1% del que se apreció en el medio exento de los mismos.

Estudio estadístico

Las diferencias en los resultados entre los regímenes terapéuticos se compararon mediante el programa EPI INFO Versión 6.0 (USD Incorporated, Stone Mountain, Ga, USA). Las proporciones fueron comparadas por el test de chi cuadrado o test exacto de Fisher. La negativización del cultivo fue la variable estudiada. Se consideró que la diferencia entre ambos regímenes era estadísticamente significativa para valores de $p<=0.05$.

RESULTADOS

Pacientes

Tres pacientes abandonaron el protocolo. Un paciente por embarazo, a los 4 meses de iniciado este. La evolución clínica, analítica y microbiológica durante ese periodo había sido satisfactoria, desarrollándose normalmente tanto la gestación como el parto. Otro paciente presentó una hepatopatía aguda al inicio del protocolo y se decidió excluirle de este. El tercer paciente fué excluído al inicio del protocolo, por falta de colaboración. La evolución de los restantes pacientes fue satisfactoria, remitiendo los síntomas una vez comenzado el tratamiento, siendo muy positiva la colaboración de todos ellos, así como la tolerancia a la medicación.

Estudios y seguimiento microbiológico

La aplicación del protocolo exigía un diagnóstico microbiológico. El cultivo fue positivo en los 29 pacientes (62% con un número de colonias mayor de 100). La tinción fue positiva en 16 pacientes (56%), (Tabla 2). Todas las cepas de *M tuberculosis* aisladas fueron sensibles a los antibióticos antituberculosos estudiados.

TABLA 2.
Efecto de la aplicación del tratamiento en la tinción y en el cultivo del BK

Paciente nº	Bacteriología inicial	Controles bacteriológicos efectuados (meses)							
		1	2	3	4	5	6	12	10 años
1	Frotis 2+	2+	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Frotis +	-	-	-	-	Abandono			
	Cultivo 10	-	-	-	-				
3	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 20	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Frotis 2+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Frotis 2+	1+	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	1	-	-	-	-	-	-
7	Frotis 2+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Frotis -	Abandono							
	Cultivo 8								
9	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 4	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Frotis 3+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Frotis 2+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Frotis 1+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 20	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 30	-	30	-	-	-	-	-	-
14	Frotis 1+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 100	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 6	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 10	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 100	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 1	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 100	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 30	2	-	-	-	-	-	-	-
22	Frotis 1+	2+	Abandono de protocolo						
	Cultivo x	-							
23	Frotis 2+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 100	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Frotis 1+	3+	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
25	Frotis 1+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	6	-	-	-	-	-	-	-
26	Frotis 2+	-	-	3+	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Frotis 2+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Frotis 3+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo x	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Frotis -	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cultivo 10	-	-	-	-	-	-	-	-

-, 1+, 2+: observación microscópica según normas CDC.

Se observaron cultivos positivos en el primer mes en los pacientes 21 y 25, con 2 y 6 colonias respectivamente, y en el segundo mes en los pacientes 6 y 13 con 1 y 30 colonias respectivamente. Frotis positivos con bacilos ácido alcohol resistentes se observaron en el primer mes de tratamiento en cinco pacientes (1,6, 22, 24 y 25) y en el tercer mes en el paciente 26. Ulteriores exámenes fueron negativos.

Evaluación clínica

No se evidenciaron cambios en el hemograma o en la función renal durante el seguimiento. Las transaminasas de 5 pacientes (17.2%) se incrementaron durante los primeros 3 meses de tratamiento, normalizándose cuando se retiraron rifampicina e isoniacida. Asimismo, 6 pacientes (20.7%) presentaron una elevación de su velocidad de sedimentación eritrocitaria (VSE), normalizándose posteriormente (Tabla 3).

TABLA 3. Efecto del tratamiento en los parámetros analíticos estudiados

Paciente nº	Evolución
1	Elevación de transaminasas y VSE en los tres primeros meses
2	Normal
3	Normal
4	Normal
5	Normal
6	Elevación de la VSE en los tres primeros meses
7	Elevación de la VSE en los tres primeros meses
8	
9	Elevación de transaminasas y VSE en los tres primeros meses
10	Elevación de transaminasas y VSE en los tres primeros meses
11	Elevación de transaminasas en los tres primeros meses
12	Normal
13	Normal
14	Normal
15	Normal
16	Normal
17	Normal
18	Normal
19	Normal
20	Normal
21	Normal
22	
23	Normal
24	Elevación de la VSE en los tres primeros meses
25	Normal
26	Normal
27	Normal
28	Elevación de las transaminasas en los tres primeros meses
29	Normal

VSE = velocidad de sedimentación eritrocitaria

En la Tabla 4 se observan los resultados de las urografías realizadas al inicio del tratamiento y a los 3 y 6 meses. La columna de la derecha resume los datos de la evolución radiográfica. 12 (39.3%) pacientes no experimentaron cambios, otros 11 (39.6%) experimentaron mejoría y 6 (21.4%) mostraron un empeoramiento de su función renal.

TABLA 4: Resultados de las urografías realizadas de acuerdo al protocolo y resumen de la evolución

Pac nº	Pre-tratamiento	3 meses	6 meses	Evolución radiográfica
1	RD: normal. RI: pielonefritis crónica muy intensa. Gran defecto de replección vesical	RD: normal. RI: Anulación funcional. Vejiga normal.	Similar a la anterior	Empeora función renal. Mejoría de la vía (vejiga)
2	RD: Pequeña lesión en papila riñón dcho.	Normal	Normal	Mejoría
3	Normal	Normal	Normal	Sin cambios
4	RD: normal. RI: Cavidades en parénquima renal izqdo, diverticulo en cáliz superior izqdo. Estenósis uréter distal izqdo.	RD: igual. RI: Anulación funcional del riñón izquierdo.	Similar a la primera radiografia	Sin cambios
5	Normal	Normal	Normal	Sin cambios.
6	RD: Mala función renal dcha. Estenosis cáliz superior dcho. RI: normal	RD: Anulación funcional. RI: normal	Similar a la anterior	Empeoramiento de la función renal
7	RD: Pielonefritis crónica riñón dcho. Muy mala función renal dcha. RI: normal	RD: Anulación funcional.	Similar a la anterior	Empeoramiento de la función renal
8	Normal	Normal	Normal	Sin cambios
9	RD: normal. RI: Dilatación cáliz superior izqdo.	Similar a la anterior	Similar a la anterior	Sin cambios
10	RD: normal. RI: Dilatación cavidades renales izqdo. Mala función renal izqda.	RD: normal. RI: Disminución del tamaño. Mala función.	Similar a la anterior.	Empeoramiento de la función renal
11	RD: normal. RI: Pielonefritis crónica riñón izqdo. Mala función renal izqda.	RD: normal. RI: Anulación funcional.	Similar a la anterior.	Empeoramiento de la función renal
12	RD: normal. RI: Necrosis polo superior izqdo.	Similar a la anterior	Similar a la anterior	Sin cambios
13	Normal	Normal	Normal	Sin cambios
14	RD: normal. RI: Estenosis uréter distal izqdo. Próstata aumentada con cavidades en su interior.	RD: normal. RI: Desaparición de la estenósis ureteral	Normal.	Mejoría de la vía (ureter). Mejoría de la próstata.
15	RD: Cicatrices en parénquima. RI: normal	Similar a la anterior	Similar a la anterior	Sin cambios
16	RD: normal. RI: Pielonefritis crónica riñón izqdo. Mala función renal izqda.	RD: normal. RI: Anulación funcional del riñón izquierdo.	Similar a la anterior	Empeoramiento de la función renal
17	RD: Pequeñas calcificaciones. RI: normal	Similar a la anterior	Similar a la anterior	Sin cambios
18	Normal	Similar a la anterior	Similar a la anterior	Sin cambios
19	RD: normal. RI: Discreta dilatación vía renal.	Normal	Normal	Mejoría de la vía (ureter)
20	RD: Dilatación vía renal dcha. Cavidades renales dcha. RI: normal	Normal	Normal	Mejoría de la vía (ureter)
21	RD: Dilatación vía renal dcha. por estenósis de uréter iliaco. RI: normal	Similar a la anterior	Similar a la anterior	Sin cambios
22	RD: Dilatación de todos los cálices. Retracción piélica. Masa vesical en cara lateral derecha			
23	RD: Ectasia ureteral dcha. RI: normal	Normal	Normal	Mejoría de la vía (ureter)
24	RD: normal. RI: Necrosis papilar polo superior dcho		RD: normal; RI: aumento de cicatrices renales	Empeora la función renal
25	RD: normal. RI: Retracción piélica izqda. Dilatación cáliz renal izdo. Estenosis urter distal izdo.	RD: normal. RI: Empeora estenosis infundibular. Mejoría estenosis ureteral.	Similar a la anterior	Mejoría en ureter; empeoramiento en infundibulo
26	RD: normal. RI: Estenosis infundibulo superior izqdo. Estenosis ureter distal izqdo. Masa vesical cara izqda.		RI: no varia la estenosis del infundibulo. Mejoria de la estenosis ureteral. Desaparece masa vesical	Mejoría de la vía (ureter y vejiga)
27	RD: Estenosis ureter lumbar dcho. Con dilatación piélica y calicial. Calcificaciones riñón dcho. RI: normal	RD: Discreta mejoría con sonda doble J.	Discreta mejoría de la dilatación.	Mejoría de la vía (ureter)
28	RD: Mastic. RI: Cavidades renales izqdo. Vejiga disminuida de tamaño	RD: igual. RI: Igual. Desaparecen cavidades. Aumento tamaño vejiga.	Similar a la anterior	Mejoría de la vía (vejiga)
29	RD: normal. RI: Masa polo superior .	RD: Disminución de masa. Resto normal.	Similar a la anterior	Mejoría de su proceso inflamatorio

Abreviaturas: RD = riñón derecho; RI = riñón izquierdo.

Conversión bacteriológica y comparación entre los dos grupos

Una vez iniciado el tratamiento, la conversión bacteriológica de los cultivos (negativización) en el grupo tratado con ofloxacino fue del 92.6% el primero y segundo mes, y del 100% a partir del tercer mes. En el grupo control de 150 pacientes, asimismo con TBU, la conversión fue del 90% el primer mes, 87% el segundo y 93% el tercero. A partir del cuarto mes la conversión fue del 100%. La evolución de los frotis y de los cultivos de ambas series se describe en la Tabla 5.

TABLA 5. Conversión bacteriológica observada en las dos series

Control (meses)	Grupo OFLOXACINO 29 pacientes		Grupo CONTROL 150 pacientes	
	Frotis	Cultivo	Frotis	Cultivo
0	44.8	0	48	0
1	81.5	92.6	80	90
2	100	92.6	74	87
3	96.3	100	93	93
4	100	100	94	100
5	100	100	100	100
6	100	100	100	100
12	100	100	100	100
10 años	100	100	100	100

DISCUSIÓN

Varios son los puntos que deben considerarse en esta discusión: actividad frente a *M tuberculosis* de las quinolonas fluoradas (especialmente ofloxacino), biodisponibilidad del producto, tolerancia, interacciones con otros fármacos antituberculosos, valoración bacteriológica y clínica e impacto presente y futuro de esta pauta terapéutica, y de las quinolonas en general, en el tratamiento de la tuberculosis urinaria.

Con relación a la actividad in vitro, esta es buena frente a cepas de *M tuberculosis*, constituyendo uno de los grupos mas prometedores en este campo[20-22]. En nuestro caso, todas las cepas se mostraron sensibles a isoniacida y rifampicina. Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) observadas a ofloxacino fueron inferiores a 1 mcg/ml, similares a las referidas por otros autores[23-24]. Asimismo, todas las cepas de *M tuberculosis* se mostraron sensibles a isoniacida y rifampicina. La biodisponibilidad por vía oral de ofloxacino es excelente. La posología de 200 mg cada 12 horas, unido a la farmacocinética favorable, permite conseguir unas concentraciones medias en orina que superan ampliamente aquellas CMIs[25].

Sin duda, la búsqueda de nuevas sustancias para el tratamiento de la tuberculosis debe de perseguir la colaboración del paciente. Al igual que otros autores[26], consideramos que un régimen corto con antibióticos bien tolerados evita el abandono del tratamiento, los fracasos y el incremento de los niveles de resistencia primaria en el entorno[27]. Por ello, la utilización de este tratamiento corto pretendió paliar parte de los inconvenientes observados en las pautas establecidas, sin menoscabo de la eficacia terapéutica, basándose en las propiedades de la quinolona ofloxacino[28].

Una situación que se debe de tener en cuenta es la posible interacción con otros fármacos antituberculosos. Así, es conocida la acción inhibitoria de las quinolonas fluoradas sobre el sistema citocromo P-450 (CYP450) que puede acarrear una interacción negativa con rifampicina[29]. Sin embargo, aunque este hecho ha sido puesto de manifiesto frente a ciprofloxacino, no existe constancia de que se presente con ofloxacino. Por ello, la ausencia de resistencias cruzadas, y la posibilidad de un efecto sinérgico con los antibióticos antituberculosos utilizados, constituyeron una situación de partida prometedora[30]. Últimamente, se han descrito cepas de *M tuberculosis* resistentes a ofloxacino, derivados de un posible mal uso de la misma[31].

Por otra parte, la utilización de isoniacida y rifampicina en los tres primeros meses de tratamiento, creemos que fue fundamental debido a la rápida acción esterilizante de las lesiones, eliminando tanto la población extracelular como aquella presente en las lesiones cerradas y en los macrófagos[16, 32].

En este estudio de seguimiento, todos los pacientes se curaron, sin observarse recaídas ulteriores. Consideramos asimismo que, en dos de los pacientes que se retiraron del protocolo, no hubo razones objetivas para atribuir toxicidad hepática, renal, hematológica ni efectos teratógenos a ofloxacino[33].

Aunque la negativización de los esputos en los casos de tuberculosis pulmonar se suele conseguir, de acuerdo a algunos autores en dos meses cuando el régimen terapéutico incorpora INH y RMP, no se poseen datos concretos con respecto a la tuberculosis genitourinaria. Nuestros resultados, con la terapia que incorpora ofloxacino, señalan que, a partir del tercer mes, se alcanza el 100% de negativización. No obstante, se evidencian controles bacteriológicos positivos en el seguimiento, aislándose colonias de *M tuberculosis*, en el primer mes (dos pacientes) con menos de 6 colonias y en el segundo mes (dos pacientes) con 1 y 30 colonias respectivamente. Conviene señalar, con respecto a los frotis, la visualización de bacilos ácido alcohol resistentes en el primer control en cinco pacientes y en el tercer mes en un paciente. En ninguno de estos pacientes se aislaron cepas de *M tuberculosis*, ya que, de acuerdo con nuestra experiencia, estos se negativizan mas lentamente que los cultivos.

El seguimiento cuidadoso de los pacientes a lo largo de más de una década, sin incidentes reseñables, pone de manifiesto la bondad del esquema terapéutico presentado. Por ello no resulta extraño que al compararlo con el grupo control, no se observen diferencias significativas.

Sin duda, son necesarios estudios más amplios que incluyan las nuevas alternativas terapéuticas que puedan aportar, en iguales condiciones de eficacia, mejoras que eviten los efectos adversos de los medicamentos y que potencien el grado de colaboración de los

pacientes[34]. Asimismo, conviene tener presente que, en este régimen terapéutico, se establece una monoterapia a lo largo de la mitad del mismo. Si el poder esterilizante de dos fármacos antituberculosos (RMP e INH) es fundamental en los inicios del tratamiento, la actuación de ofloxacino puede culminar posteriormente la misma. Creemos que se puede abrir una nueva perspectiva terapéutica, la cual, aunque novedosa de acuerdo a las referencias bibliográficas revisadas, basa su eficacia en el uso controlado de ofloxacino, en el seguimiento cuidadoso de los pacientes a lo largo de un tiempo prolongado, y en la conversión bacteriológica de los cultivos de *M tuberculosis* que son una prueba de la eficacia del régimen utilizado.

La disponibilidad de las actuales quinolonas, más potentes, perfila un nuevo escenario en el tratamiento de la tuberculosis, especialmente la genitourinaria. Las dudas que se cernían hace dieciocho años sobre la eficacia real de este régimen expuesto, desde algunos sectores sanitarios, deberían de quedar esclarecidos al observar la evolución y buena colaboración de los pacientes. En conclusión, la utilización de esta o de otras quinolonas abre una vía de nuevas posibilidades terapéuticas, las cuales, sin duda, pueden aportar ventajas en todas las formas de tuberculosis, incluyendo aquellas en las que se aíslen cepas multirresistentes y que constituyen una seria amenaza en el momento actual.

Agradecimientos
Los autores agradecen al Dr M Gonzalez Sagrado de la Unidad de Investigación del HU Río Hortega, la colaboración en la redacción del trabajo.

REFERENCIAS

1. Ziganshina LE, Vizel AA, Suire SB. Fluoroquinolonas para el tratamiento de la tuberculosis (Rev Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2005 Número 4. Oxford: Update Software Ltd.

2. Grupo de trabajo del PMIT. La tuberculosis en España: resultados del Proyecto Multicéntrico de Investigación sobre Tuberculosis (PMIT). Madrid: Ed. Instituto de Salud Carlos III, 1999.

3. Bass JB, Farer LS, Hopewell PC et al. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. Am J Respir Crit Care Med 1986; 134:355-358.

4. Lenk S, Schoeder J. Genitourinary tuberculosis. Curr Opin Urol 2001; 11:93-98.

5. Ortega S, March J. Tratamiento de las infecciones por micobacterias. In: García Sanchez JE, López R, Prieto J, editors. Antimicrobianos en medicina. Sociedad Española de Quimioterapia. Barcelona, Philadelphia: Prous Science, 1999; p. 661-667.

6. Jain VK, Vardhan H, Prakash OM. Pyrazinamide induced thrombocytopenia. Tubercle 1988; 69: 217-218.

7. Rodriguez JC, Ruiz M, Lopez M, Royo G. In vitro activity of moxifloxacin, levofloxacin and linezolid against Mycobacterium tuberculosis. Int J Antimicrob Agents 2002; 20:464-467.

8. Sumartejo E. When tuberculosis teatment fails. A social behavioral account of patient adherence. Am Rev Respir Dis 1993; 147:1311-1320.

9. Casal M, Gutierrez J, Gonzalez J, Ruiz P In vitro susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to ofloxacin and ciprofloxacin in combination with rifampin and isoniazid. Chemioterapia 1987; 6: 437-439.

10. García-Rodriguez JA. Activity of quinolones against Mycobacteria in vitro and in vivo. Quinolones Bulletin 1988; 4: 21-25.

11. Casal M, P Ruiz, A Herreras and the Spanish study Group of M tuberculosis resistance. Study of the in vitro susceptibility of M tuberculosis to ofloxacin in Spain. Int J Tuberc Lung Dis 2000; 4: 588-591.

12. Tsukamura M. In vitro antituberculosis activity of a new antibacterial substance Ofloxacin (DL 8280). Am Rev Respir Dis 1985; 131:348-351.

13. Shah PM, Frech K. Clinical experiences with quinolones. Overview. Quinolones Bulletin 1985;1:19-21.

14. Tsukamura M, E Nakamura, S Oshii and H Amano. Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL-8280) on pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1985; 131: 352-356.

15. AK Dutt, Stead WW. Chemotherapy of tuberculosis for the 1980`s. In: Stead WW and Dutt AK, editors. Clinics in Chest Medicine-Tuberculosis. Philadelphia: WB Sanders Company; 1980; p. 243-52.

16. Grassi C, Peona V. New drugs for tuberculosis. Eur Respir J 1995; 8(Suppl 20): S714-8.

17. Ginsburg AS, Grosset JH, Bishai WR. Fluoroquinolones, tuberculosis and resistance. Lancet Infectious Diseases 2003; 3: 432-42.

18. Metchock BG, Nolte FS, Wallace RJ. Mycobacterium. In: Murray P, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, editors. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999; p. 399-437.

19. Canetti G, Rist N, Grosset J. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. Méthodologie, critères de résistance, résultats, interprétation. Rev Tub Pneum 1963; 27:217-72.

20. Jacobs MR. Activity of quinolones against mycobacteria. Drugs 1995; 49 (Suppl.2):67-75.

21. Tomioka H. Prospects for development of new antimycobacterial drugs. J Infect Chemother 2000; 6: 8-20.

22. Coll P. Fármacos con actividad frente a Mycobacterium tuberculosis. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003; 21: 299-308.

23. Rastogi N, Goh KS, Bryskier A, Devallois A. In vitro activities of levofloxacin used alone and in combination with first- and second-line antituberculous drugs against Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40:1610-6.

24. Yew WW, Kwan SY, Ma WK, Khin MA, Chau PY. In vitro activity of ofloxacin against Mycobacterium tuberculosis and its clinical efficacy in multiply resistant pulmonary tuberculosis. J Antimicrob Chemother 1990; 26:227-36.

25. Stambaugh JJ, Berning SE, Bulppitt AE, Hollender ES, Narita M, Ashkin D, Peloquin CA. Ofloxacin population pharmacokinetics in patients with tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2002; 6: 503-509.

26. Ledru S, B Cauchoix, M Yaméogo, A Zoubga, J Lamandé-Chiron, F Portaels, JP Chiron. Impact of short-course therapy on tuberculosis drug resistance in South-West Burkina Faso. Tubercle and Lung Disease 1996; 77: 429-436.

27. Alberte-Castiñeiras A, Brezmes-Valdivieso MF, Campos-Bueno A, Montes-Martínez I, López-Medrano R, Avellaneda C, Pérez-Pascual P, Della-Latta P. Drug-resistant tuberculosis in Castilla-León, Spain, 1996-2000. Int J Tuberc Lung Dis 2006; 10: 554-558.

28. Alegre J, Fernández de Sevilla T, Falco V, Martínez Vazquez JM. Ofloxacin in miliary tuberculosis. Eur Respir J 1990; 3:238-9.

29. Berning SE. The role of fluoroquinolones in tuberculosis today. Drugs 2001; 61: 9-18.

30. Yew WW, Chan CK, Chau CH, Tam CM, Leung CC, Wong PC, Lee I. Outcomes of patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis treated with ofloxacin/levofloxacin-containing regimens. Chest 2000; 117: 744-751.

31. Ruiru Shi, Jianyuan Zhang, Chuanyou Li, Yuko Kazumi and Isamu Sugawara. Emergence of ofloxacin resistance in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from China as determined by gyrA mutation analysis using denaturing high-pressure liquid chromatography and DNA sequencing. J Clin Microbiol 2006; 44: 4566-4568.

32. Rastogi N, Labrouse V, Goh KS. In vitro activities of fourteen antimicrobial agents against drug susceptible and resistant clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis and comparative intracellular activities against the virulent H37Rv strain in human macrophages. Current Microbiology 1996; 33: 167-175.

33. Saigai S, Agarwai SR, Nandeesh HP and Sarin SK. Safety of an ofloxacin-based antitubercular regimen for the treatment of tuberculosis in patients with underlying chronic liver disease: a preliminary report. Journal of gastroenterology and Hepatology 2001; 16: 1028-1032.

34. Valerio G, Bracciale P, Manisco V, Qitadamo M, Legari G, Bellanova S. Long-term tolerance and effectiveness of moxifloxacin therapy for tuberculosis: preliminary results. J Chemother 2003; 15: 66-70.

Correspondencia:

Armando Alberte Castiñeiras. Microbiología. Hospital del Río Hortega, 47010 Valladolid
aalberte @ hurh.sacyl.es

Comentario del revisor Prof. Francisco Abad Santos, MD. PhD. Farmacología Clínica. Hospital la Princesa y Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España.

La tuberculosis es una infección que requiere tratamiento antibiótico prolongado con varios fármacos que producen frecuentemente efectos adversos, lo que dificulta el cumplimiento terapéutico y se asocia a la aparición de resistencias. Por este motivo es necesario buscar nuevos fármacos eficaces que sean bien tolerados a largo plazo. En este estudio se incluyeron 29 pacientes con tuberculosis genitourinaria que fueron tratados con ofloxacino, una fluorquinolona oral, durante 6 meses. Durante los primeros 3 meses se asociaron los fármacos de referencia en esta patología, isoniacida y rifampicina. El tratamiento fue eficaz y bien tolerado en todos los pacientes y solamente se comunicaron algunos efectos adversos en los primeros 3 meses, principalmente elevación de transaminasas relacionadas con los antituberculosos convencionales.

Este estudio demuestra la eficacia y tolerabilidad de esta nueva pauta pero son necesarios ensayos clínicos comparativos con el tratamiento habitual para definir su papel en la terapéutica.

Comentario del revisor Prof. José María Eirós Bouza MD. PhD. Titular de Microbiología de la Universidad de Valladolid. Valladolid. España

En el presente trabajo Alberte et al realizan una aportación original en el ámbito de la terapia antituberculosa en su focalidad génito-urinaria.

Entre sus contribuciones cabe destacar al menos tres. En primer término el prolongado período de estudio, en segundo lugar su cuidada valoración microbiológica y en tercera instancia la oportunidad de su apuesta por las quinolonas como opción terapéutica. Todo ello garantizado por la solidez de un grupo de trabajo bien consolidado en el ámbito de la micobacteriología, en un centro hospitalario de referencia para cuantos trabajamos en Castilla y León.

Recibido: 17 de Diciembre de 2007.
Publicado: 7 de Marzo de 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

HISTOLOGICAL STUDIES OF THE EFFECTS OF ORAL ADMINISTRATION OF ARTESUNATE ON THE MEDIAL GENICULATE BODY OF ADULT WISTAR RATS.

A.O.Eweka, J.O. Adjene

**Department of Anatomy. School of Basic Medical Sciences. College of Medical Sciences, University of Benin.
Benin City. Edo State. Nigeria.**

andreweweka @ yahoo.com

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:20-26

Comment of the reviewer Prof Pilar Muñiz Rodríguez, PhD. **Titular del Área de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Burgos. España**

Comment of the reviewer Erhan Süleymanoglu. PhD. **G.U.E.F., Department of Pharmaceutical Chemistry, Gazi University. Gazi Mahallesi, Ankara. Turkey**

ABSTRACT:
The histological effect of oral administration of artesunate, commonly used for the treatment of Malaria on the medial geniculate body (MGB) of adult wistar rat was carefully studied. The rats of both sexes (n=24), average weight of 210g were randomly assigned into three treatment (n=18) and control (n6) groups.

The rats in the treatment group 'A' received 4mg/kg body weight of artesunate base dissolved in distilled water for 3 days. The animals in groups 'B' and 'C' received 4mg/kg body weight of artesunate dissolved in distilled water for the first day and thereafter received 2mg/kg body weight daily for six and thirteen day respectively. The control group D, received equal volume of distilled water daily using the Orogastric tube. The rats were fed with grower's mash obtained from Edo Feeds and Flour Mill Ltd, Ewu, Edo State, Nigeria and were given water liberally. The rats were sacrificed on day fourth, eight and fifteenth of the experiment. The medial geniculate body was carefully dissected out and quickly fixed in 10% formal saline for histological studies.

The histological findings after H&E method indicated that the treated section of the medial geniculate body showed some decreased cellular population, degenerative changes, cellular hypertrophy, with some vacuolations appearing in the stroma.

Varying dosage and long administration of artesunate may have some deleterious effects on the neurons of the Medial geniculate body and this may probably have some adverse effects on auditory sensibilities by its deleterious effects on the cells of the medial geniculate body of adult wistar rats. It is therefore recommended that further studies aimed at corroborating these observations be carried out.

Key words: Artesunate, medial geniculate body, decrease cellular population, vacuolation.

RESUMEN: ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LOS EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE ARTESUNATO EN CUERPO GENICULADO MEDIO DE RATAS WISTAR ADULTAS

El efecto histológico de la administración oral de artesunate, comúnmente utilizado para el tratamiento de la malaria en el cuerpo geniculado medio (MGB) de ratas wistar adultas, fue cuidadosamente estudiado. Ratas de ambos sexos (n = 24), con peso promedio de 210 g fueron distribuidas de forma aleatoria en tres grupos de tratamiento (n = 18) y control (n = 6).

Las ratas del grupo de tratamiento "A" recibieron 4mg/kg peso corporal de artesunate base, disuelto en agua destilada, durante 3 días. Los animales en los grupos "B" y "C" recibieron 4mg/kg peso corporal de artesunate disuelto en agua destilada el primer día y posteriormente recibieron 2mg/kg peso corporal al día durante seis y trece días respectivamente. El grupo control D, recibió igual volumen de agua destilada al día, utilizando sonda nasográstrica. Las ratas fueron alimentadas con pienso de Edo Feeds y Flour Mill Ltd, Ewu, Estado de Edo, Nigeria y se les proporcionó agua libremente. Las ratas fueron sacrificadas en el día cuarto, octavo y décimo quinto de la prueba. El cuerpo geniculado medio fue cuidadosamente disecado y rápidamente fijado en el 10% de solución de formol salina para el estudio histológico.

Los hallazgos histológicos observados en secciones del cuerpo geniculado medio, teñidas con H&E indicaron que el tratamiento disminuye la población celular, con cambios degenerativos, hipertrofia celular, y aparecen en el estroma algunas vacuolizaciones.

Variando la dosis y tiempo de administración de artesunate, pueden verse algunos efectos perjudiciales sobre las neuronas del cuerpo geniculado medio y pueden probablemente tener algunos efectos negativos sobre la sensibilidad auditiva por sus efectos nocivos sobre las células del cuerpo geniculado medio de las ratas wistar adultas. Por consiguiente, se recomienda realiar nuevos estudios para corroborar estas observaciones.

Palabras Clave: Artesunate, cuerpo geniculado medio, disminución de poblacion celular, vacuolazion.

INTRODUCTION

Malaria remains one of the world's most significant health problems despite increasing research and control efforts[1]. The occurrence of malaria during pregnancy exposes the mother and infants to serious risks. It is therefore imperative that pregnant women be protected against malaria; and that pregnant women with malaria receive treatment as soon as possible[2].

Artesunate is one of the numerous drugs for malaria intervention in Nigeria. It is a semi synthetic derivative of artemisinin, the active compound of the Chinese herb Artemisia annua which consist of the sodium succinyl salt of dehyroartemisinin[3]. Artemisinin-type compounds reduce malaria parasitemia more rapidly than any other known antimalarial drugs and are effective against multi drug resistant malaria parasites[4-5]. Artesunate is highly effective against multi-drug resistant strains of plasmodium falciparum hence its increasingly wide usage for the treatment and management of malaria[6]. Artesunate is well tolerated at therapeutic doses; therefore a lot of people, pregnant women inclusive take the drug.

Several studies have shown that high doses of artesunate can produce neurotoxicity such as selective damage to brainstem centres in mice and rats[7-9]. Artesunate have been reported to cause gait disturbances, loss of spinal cord and pain response mechanisms in animals[10-11].

The Inferior colliculus and Medial geniculate body constitute the intracranial auditory relay centres. The medial geniculate body is the target of ascending projections from the inferior colliculus and descending input from the auditory cortex; this is the obligatory synaptic target in the thalamus for hearing. It contains interleaved and overlapping tonotopic and aural bands[12]. The cerebral cortex strongly affects the medial geniculate body through descending projections which are thought to consist primarily of small areas with slow conduction velocities[13].

Cerebral nuclei such as the medial and lateral geniculate bodies, inferior and superior colliculi have higher glucose utilization than other structures. There is also a correlation between functional activity and metabolic rate such as in the visual and auditory system[14].

The effects of artesunate on the intracranial auditory relay centre may not have been documented, but there have been reports that it may be implicated in varied symptoms of dizziness, itching, vomiting, abdominal pain, headaches, diarrhea, tinnitus, increase hearing loss, macular rash, neutropenia and convulsion. It is probable that the adverse effects of artesunate on hearing such as tinnitus may be due to direct effect of artesunate on this auditory relay centre. This present study was to elucidate the histological effects of artesunate on the medial geniculate body of adult wistar rats.

MATERIALS AND METHODS

ANIMALS:

Twenty-four (24) adult wistar rats of both sexes with average weight of 210g were randomly assigned into four groups A, B, C and D of (n=6) in each group. Groups A, B, and C of (n=18) serves as treatments groups while group D (n=6) is the control. The rats were obtained and maintained in the Animal holdings of the Department of Anatomy, School of Basic Medical Sciences, University of Benin, Benin city, Nigeria. They were fed with grower's marsh obtained from Edo feed and flour mill limited, Ewu, Edo state) and were given water liberally. The rats were allowed to gain maximum acclimatization before the actual commencement of the experiment. The Artesunate tablets were obtained from the University of Benin Teaching Hospital Pharmacy, Benin City, Edo state, Nigeria.

ARTESUNATE ADMINISTRATION:

The rats in the treatment groups (A, B, & C) received 4mg/kg body weight of Artesunate base dissolved in distilled water for the first day. Animals in the treatment group 'A' continued with this dosage for the next two days, while animals in groups B & C received 2mg/kg once daily for six and thirteen days respectively. The control group D received equal volume of distilled water using orogastric tube. The treated rats in groups A, B, and C were sacrificed by cervical dislocation on the 4th, 8th and 15th day of the experiment respectively, while that of the control group D was sacrificed at the end of the experiment. The skulls were opened using bone forceps to expose the brain of the rat, and the medial geniculate body was quickly dissected out and fixed in10% formal saline for routine histological techniques.

HISTOLOGICAL STUDY:

The tissue were dehydrated in an ascending grade of alcohol (ethanol), cleared in xylene and embedded in paraffin wax. Serial sections of 7 microns thick were obtained using a rotatory microtome. Some of the deparaffinised sections were stained routinely with haematoxyline and eosin (H&E) method15. The digital photomicrographs of the desired sections were made in the Department of Anatomy research laboratory, University of Benin, Nigeria for further observations.

RESULTS

The sections of the medial geniculate body (MSG) from the control group showed normal histological features with the neurons appearing distinct and the glial cells normal without vacuolation in the stroma (Figure 1).

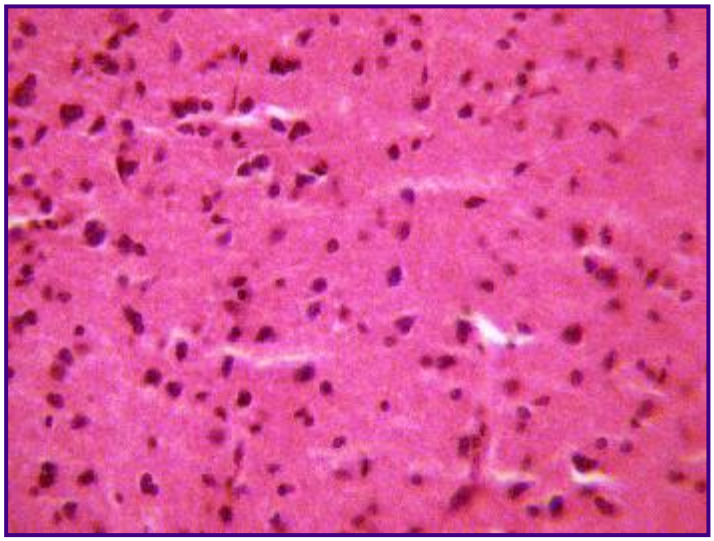


Figure 1 (GROUP D): Photomicrograph representing the control section of the medial geniculate body (Original magnificacion x 400).

The sections of the medial geniculate body from the treatment (A, B, & C) groups showed some decrease in cellular population, degenerative changes, cellular hypertrophy and vacuolations appearing in the stroma (Figure 2, 3 &4).

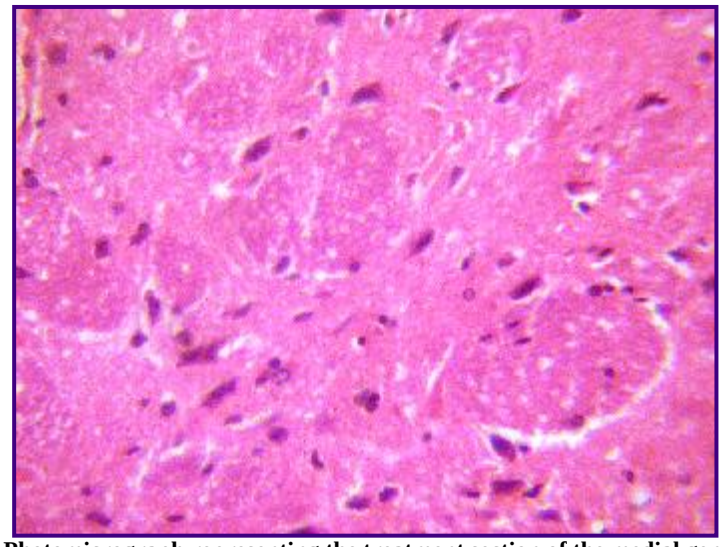


Figure 2 (GROUP A): Photomicrograph representing the treatment section of the medial geniculate body (group A), that received 4mg/kg of artesunate for 3 days. (Original magnificacion x 400).

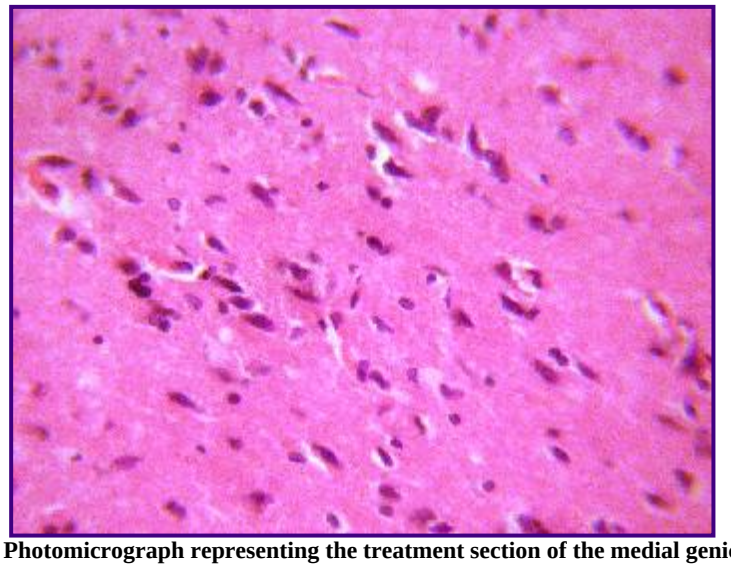


Figure 3 (GROUP B): Photomicrograph representing the treatment section of the medial geniculate body (group B) that received 4mg/kg 1st day and thereafter 2mg/kg for 6 days of artesunate. (Original magnificacion x 400).

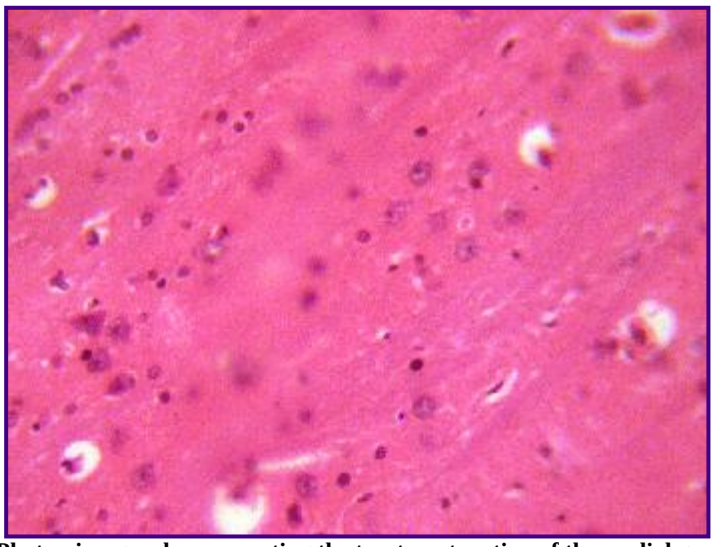


Figure 4 (GROUP C): Photomicrograph representing the treatment section of the medial geniculate body (group C),

that received 4mg/kg 1st day and thereafter 2mg/kg for 13 days of artesunate. (Original magnificacion x 400).

All the rats in each group were affected equally, with the rats in group C more severe than groups A and B. Affectation of the rats in group A was mild and Group B appears to be moderate.

DISCUSSION

The results (H & E) revealed that administration of artesunate showed some decreased cellular population, degenerative changes, cellular hypertrophy and vacuolations which appeared in the stroma of the treatment groups compared with the control section of the medial geniculate body. Neuronal degeneration has been reported to result in cell death, which is of two types, namely apoptotic and necrotic cell death. These two types differ morphologically and biochemically[16]. Pathological or accidental cell death is regarded as necrotic and could result from extrinsic insults to the cell such as osmotic, thermal, toxic and traumatic effects[17]. It was reported that cell death in response to neurotoxins might trigger an apoptotic death pathway within brain cells18. Cell death in response to neurotoxins occurs as a controlled event involving a genetic programme in which caspase enzymes are activated18.

The process of cellular necrosis involves disruption of the membranes structural and functional integrity. Cellular necrosis is not induced by stimuli intrinsic to the cells as in programmed cell death (PCD), but by an abrupt environmental perturbation and departure from the normal physiological conditions19. There is the need to further investigate the actual mechanism by which artesunate induced neuronal degeneration in the medial geniculate body of adult wistar rat in this study.

Extensive cell death in the central nervous system is present in all neurodegenerative diseases[18]. The type of nerve cell loss and the particular part of the brain affected dictate the symptoms associated with an individual disease[18]. In this study artesunate may have acted as toxin to the cells of the medial geniculate body, affecting their cellular integrity and causing defect in membrane permeability and cell volume homeostasis.

In cellular necrosis, the rate of progression depends on the severity of the environmental insults. The greater the severity of the insults the more rapid the progression of neuronal injury[19]. The principle holds true for toxicological insult to the brain and other organs[20]. The prime candidates for inducing the massive cell destruction observed in neurodegeneration are neurotoxins[18]. These may be substances present in small amounts in the environment, or even naturally occurring chemicals such as glutamate used by the brain as transmitter's substances[18]. The latter when present at a critical level can be toxic to the brain cells they normally excite[18]. It is inferred from this results that prolonged and high dose of artesunate resulted in increased toxic effects on the MGB. The decrease in cellular population observed in this study may have been as a result of cell death caused by the toxic effect of artesunate. In the same way, it has been reported that chronic administration of chloroquine resulted in the cellular degenerative changes, sparse cellular population and vacuolation appearing in the stroma with some autophagic vacuoles in the medial geniculate body and inferior colliculus of adult wistar rats[21-22]. Chloroquine intoxication has been reported to result in the accumulation of lysosomal membranes rich in phospholipids and gangliosides due to the inhibition of lysosomal enzymes[23].

The vacuolation observed in the stroma of the medial geniculate body in this experiment may be due to artesunate interference, since it has been reported that artesunate may be neurotoxic to the developing nervous system of wistar rats[24]. The cellular hypertrophy observed in this experiment may be due to the adverse effects of artesunate on the medial geniculate body. This study may underlie the possible neurogenic symptoms such as dizziness and tinnitus for high doses of artesunate has been reported to produce neurotoxicity such as selective damage to brainstem centres in mice and rats[7-9].

CONCLUSION

Our study revealed that high doses and long term administration of artesunate causes spares cellular population, cellular degenerative changes, cellular hypertrophy and vacuolation in the medial geniculate body of adult wistar rats. These results may indicate that the functions of the medial geniculate body in auditory sensibility may be adversely affected.

REFERENCES

1. Curtis CF. Workshop on bed net at the international congress of Tropical Medicine; JPM Saint Zool. 1993; 2:63-68.

2. WHO. Reproductive Risk Assessment of Antimalaria therapy with Artemisinin compounds- report of an informal consultation convened by WHO Geneva. 2002; May 29-30.

3. Ittarat WR, Udomsangpeth KT, Chotivanich, Looareesuwan S. The effects Of quinine and Artesunate treatment on plasma tumor necrosis factor levels in malaria infected patients. SEAMEO TROPMED. 1999; 30:7-10.

4. Meshnick SR, Taylor TE, Kanchonwongpaisan P. Artemicinin and the Antemalaria endoperoxidase: From herbal remedy to targeted chemotherapy; Microbiol Res. 1996; 60: 301-315

5. OIliaro PL, Haynes RK, Meunier B, Yuthavong Y. Possible modes of action of the artemisinin-type compounds. Trends Parasitol. 2001; 17: 122-126.

6. Van Agtmed MA, Eggette TA, Van Boxtel CJ. Artemisinin drugs in the treatment of malaria: From medicinal herb to registered medication. Trends Pharmacol Sci. 1999; 20: 199-205

7 Nontprasert A, Pukrittayakamee S, Nosten-Bertrand M, Vanijanonta S. Assessment of neurotoxicity of parenteral artemisinin derivatives in mice. Am J Trop Med Hyg. 1998; 59: 519-522

8 Genovese RF, Newman DB, Brewer TG. Behavioral and neural toxicity of the artemisinin antimalaria arteether, but not artesunate and artelinate in rats. Pharmacol Biochem Behav. 2000; 67: 37-44

9 Nontprasert A, Pukrittayakamee S, Dondorp AM, Clemens R, Looareesuwan S, White NJ. Neuropathologic toxicity of artemisinin derivatives in a mouse model. Am J Trop Med Hyg. 2002; 67: 423-429.

10 Genovese RF, Petras JM, Brewer TG.Arteether neurotoxicity in the absence of deficits in behavioral performance in rats. Ann. Trop. Med. Parasitol 1995; 89: 447-449

11. Dayan AD. Neurotoxicity and Artemisinin compounds: Do the observations in animals justify limitations in clinical use? Paper presented at a conference convened by the international Larveran Association. Annecy, France April 1998; 19-22

12. Fall. Mammalian Neuroanatomy MCB 163: 1999

13. Winner JA, Saint Marie RL, Larue DT, Oliver DL. The cerebral cortex strongly affects the medial geniculate body through descending projections. Proc. Nat Acad. Sci, USA 1996; 93: 8005-8010

14. Siesjo BK. Utilization of substrates by brain tissues. Brain energy metabolism. John Wiley and Sons, USA. 1978; 101-130.

15 Drury RAB, Wallington EA, Cameron R. Carleton's Histological Techniques: 4th ed., Oxford University Press NY. USA. 1967; 279-280.

16 Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis in associated and endogenous endonuclease activation. Nature. 1980; 284: 555-556.

17 Farber JL Chein K R, Mittnacht S. The pathogenesis of Irreversible cell injury in ischemia; Am J Pathol 1981; 102: 271-281

18 Waters CM. Glutamate induced apoptosis of striatal cells in rodent model for Parkinsonism. Neuroscience 1994; 63: 1-5

19. Ito U, Sparts M, Walker JR, Warzo I. Experimental Cerebral Ischemia in Magolian Gerbils(1). Light microscope observations. Acta Neuropathol. USA 1975; 32: 209-223.

20. Martins LJ, Al-Abdulla NA, Kirsh JR, Sieber FE, Portera-Cailliau C. Neurodegeneration in excitotoxicity, global cerebral ischaemia and target Deprivation: A perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. Brain Res. Bull. 1978; 46: 281-309.

21. Adjene JO, Caxton-Martins A. Some histological effect of chronic administration of Chloroquine on the medial geniculate body of adult wistar rat Afri J Med Sci 2006; 35: 131-135.

22 Adjene JO, Adenowo TK. Histological studies of the effect of chronic administration of Chloroquine on the inferior colliculus of adult wistar rat. JMBR 2005; 4: 83-87

23 DeGroot PG, Elferenk RO, Mariastruland A, Westeveld A, Khan PM, Tager JM. Inactivation by chloroquine of a-galactosidase in cultured humanskin fibroblast. Expr Cell Res. 1981; 36: 327-333

24 Mesembe OE, Ivang AE, Udo-Attah G, Igiri AO, Fischer VA, Akpaso M, Eluwa MA, Akpa OA. A morphometric study of the teratogenic effect of Artesunate on the central nervous system of the Wistar rats foetus. Nig J Physiol Sci. 2004; 19: 92-97

Corresponding author
Dr. A. O. Eweka
Department of Anatomy. School of Basic Medical Sciences. College of Medical Sciences, University of Benin.
Benin City. Edo State. Nigeria. andreweweka @ yahoo.com

Comment of the reviewer Prof Pilar Muñiz Rodríguez, PhD. Titular del Área de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Burgos. España

Artemisinins are the fastest acting antimalarials, and they are being increasingly deployed in the global fight against falciparum malaria. These compounds are also being developed for use against other parasites and in cancer chemotherapy. The artemisinins are sesquiterpine lactones characterized by possession of an endoperoxide ring. Animal studies have consistently revealed a unique pattern of artemisinin induced brainstem injury, and concerns have lingered over possible neurotoxicity in humans.

Eweka and Adjene studied the histological effect of oral administration of artesuante, on the medial geniculate body of adult Wistar rat. They observed that long administration or high doses may be neurotoxic to developing cellular hypertrophy and degenerative changes in the medial geniculate body. The present work undobtedly is a valuable addition to more detailed studies of the neurotoxicity of artesunate.

Comment of the reviewer Erhan Süleymanoglu. PhD. G.U.E.F., Department of Pharmaceutical Chemistry, Gazi University. Gazi Mahallesi, Ankara. Turkey

The present study examines effects of orally administered antimalarial Artesunate on the medial geniculate body of adult wistar rats.

Certain morphological alterations found, could further be used in establishing dose-dependent deleterious effects of the drug on this body neurons. The basic features of Artesunate, the objective of this study, as well as the experimental design are well presented. Undoubtedly, this work is another contribution to the efforts of understanding the cellular mechanisms of Artesunate induced neuronal degeneration and cell death in animal models, and thus deserves to be published.

Received June 28, 2007. Received reviewed November 19, 2007
Published February 20, 2008

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio Home

Indice del volumen Volume index

Comité Editorial Editorial Board

Comité Científico Scientific Committee

Normas para los autores Instruction to Authors

Derechos de autor Copyright

Contacto/Contact:

FIRST DIGIT DISTRIBUTION IN SOME BIOLOGICAL DATA SETS. POSSIBLE EXPLANATIONS FOR DEPARTURES FROM BENFORD'S LAW.

José Luis Hernández Cáceres, Jorge Luis Pollo García, Carlos M. Martínez Ortiz, and Luis García Domínguez*

Center for Cybernetics Applications to Medicine, Havana, Cuba *Hospital for Sick Children, Toronto, Canada

cacerjlh @ infomed.sld.cu

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:27-35

Comment of the reviewer Prof. José María Eirós Bouza. MD. PhD. Professor of Microbiology. Faculty of Medicine. University of Valladolid. Valladolid. Spain.

Comment of the reviewer Prof. Sorana D. Bolboaca MD. PhD. "Iuliu Hatieganu". University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. Cluj. Romania.

SUMMARY

Aim: To explore whether the first digit law (FDL) is abided by data sets from biological origin.

Materials and Methods: Data were collected from different sources, including gene data length for bacteria, pre-vaccination measles incidence data and absolute values from human MEG recordings. First digit frequencies were computed and compared to predictions from FDL. Simulations included a simple model for two-dimensional epidemics spread and a randomly set upper bound model aimed to explain the behaviour of MEG data.

Results: We observed that FDL is obeyed in a case of epidemic data reported at a putative focus of spread (pre-vaccination measles incidence for Preston, England). However, peculiar departures were observed for gene length distribution in microorganisms, magneto-encephalograms (MEG), and epidemic data pooled from large geographical regions.

Conclusions: Simulation studies revealed that averaging data on a scenario of propagating waves can explain some of the observed distortions from FDL. This could help to understand the behaviour of epidemics data. A randomly set upper bound model (RUBM) can likely explain the observed behaviour of MEG data. Explanation for gene length data behaviour requires further theoretical work.

KEY WORDS: First digit law, Epidemics, Magnetoencephalogram, Genes.

RESUMEN

Objetivos: Explorar si la ley del primer dígito (LPD) se cumple en datos de origen biológico.

Materiales y Métodos: Se analizaron datos tomados de diferentes fuentes que incluían longitud de genes en bacterias, datos de incidencia de sarampión en la era pre-vacunación y valores absolutos de MEG registrados en humanos. Las frecuencias de aparición del primer dígito se comparaban con las predicciones teóricas de la LPD. Se realizaron simulaciones para modelar la

propagación bidimensional de una epidemia y un modelo con cota superior aleatoria para explicar la conducta de los datos de MEG.
Resultados: Se observó que la LPD se cumple en el caso de datos de una epidemia reportados desde un presunto sitio de propagación (incidencia de sarampión en la era pre-vacunación en Preston, Inglaterra). Sin embargo, se aprecian no-correspondencias peculiares en el caso de la distribución de la longitud de genes en microorganismos, magneto-encefalogramas (MEG) y una epidemia promediada para una zona geográfica extensa.
Conclusiones: Estudios de simulación mostraron que la promediación de datos en un escenario de ondas que se propagan pudiera explicar algunas de las distorsiones observadas, y esto ayudaría a comprender las características de los datos de epidemias. Un modelo con límite máximo aleatorio pudiera explicar los datos de MEG. La consideración de los datos de longitud de genes requiere de un trabajo teórico ulterior.

PALABRAS CLAVE: Ley del primer digito, Epidemia, Magnetoencefalograma, Genes.

INTRODUCCION

The first digit law (FDL) or Benford's Law lingers among the most intriguing mathematical curiosities[1]. In 1881 Simon Newcomb noticed that the first pages of logarithmic tables corresponding to digit "1" were dirtier than those for larger digits. From this Newcomb concluded that people prefer to use numbers starting with smaller digits.

An empirical law, based on Newcomb's conclusion that "the first significant digit is oftener 1 than any other digit, and the frequency diminishes up to 9", was formulated for the probability of a given figure to start with the digit k=1, 2 …9 as follows[2]:

P(k)= log(1+1/k) (*)

Thus, according to (*) the probabilities P(1), P(2), and P(9) are, respectively 0.305, 0.17, and 0.045. The law remained unnoticed for almost 60 years. In 1938 the American physicist F. Benford, again noticing the soiled pages of the logarithms table in his university's library, rediscovered the first digit´s law. After rediscovering the relationship between digits, Benford ran tests on more than 20,000 entries from about 20 tables of different statistical data[3-6].

An illustration on how diverse the applicability of this law can be is provided in Table I, where empirical distributions for home numbers in Havana streets, the areas of modern countries as well as the fist 1400 numbers of the Fibonacci series are compared with theoretical predictions.

Digit	Theory	Fibonacci Series	Areas of Countries	Havana Street Numbers
1	0.3010300	0.301490515	0.281385281	0.276843467
2	0.17609126	0.176151762	0.207792208	0.184993532
3	0.12492788	0.124661247	0.103896104	0.12160414
4	0.09691001	0.096883469	0.103896104	0.108667529
5	0.07918125	0.079268293	0.077922078	0.094437257
6	0.06694679	0.066395664	0.060606061	0.06080207
7	0.05799195	0.057588076	0.060606061	0.072445019
8	0.05115252	0.052168022	0.047619048	0.038809832
9	0.04575749	0.045392954	0.056277056	0.041397154

Table I. Theoretical predictions from FDL compared to observed first digit frequencies among: the first 1400 numbers of the Fibonacci series, the areas (in square kilometres) of modern countries (N=231), and home address numbers for a random sample of 731 entries taken from Havana Telephone Directory.

An outstanding feature of the expression (*) is its scale invariance. In practical terms, this means that the same distribution would be obtained if country areas were expressed in square kilometres or square feet as well.

Unlike other "universal" laws, it is hard to find out a theoretical framework leading to a rational explanation of the law. Recent attempts based on "Modern Probability Theory"7 leave open the question of how a strictly deterministic succession, (e. g. the Fibonacci series) converges in an apparently exact way into FDL´s predictions (see table I).

On the other hand, almost untouched has been the question of the possibility for finding clues predicting whether a data set will convey to FDL or not.

This work is aimed at exploring first digit distributions with various data sets of biomedical interest. An attempt to provide some plausible explanation for some of them will also be presented.

MATERIALS AND METHODS

Data: We explored three different data sets: Gene length in published microorganism genomes, measles incidence from pre-vaccination era in England and Wales and magneto-encephalographic (MEG) data from human subjects.

Gene length. The complete genomes from the following species were downloaded via "ftp" from the site ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genbank/genomes/Bacteria/ *Bordetella parapertussis, Aeropyrum pernix, and Bacillus halodurans.* A special "C" program was developed by one of us (CMMO) for estimating each individual gene's length (in bases). Gene length is estimated via substraction of initial and final positions of the corresponding base in the DNA molecule. It works specifically for data in the format of the NCBI data bases. A total of 10464 genes were pooled from the three species.

Measles data. Measles incidence data for England and Wales for the period 1944-1966 were drawn from Registrar General´s Weekly Reports, and are dowloadable as a ".txt" file from the site http://asi23.ent.psu.edu/onb1/publ/bcf/data.html. Data were presented as a 60-column matrix, each column corresponding to one of the 60 cities from England and Wales reported. Columns correspond to each fortnight starting from the first fortnight of 1944 until the last fortnight of 1966.

MEG Data. Magneto-encephalograms from a healthy subject were taken from an apparently healthy male subject using the MEG machine at the HSC in Toronto. Absolute values of magnetic field intensity were collected and submitted to further treatment.

Simulations: First digit distributions were generated from two models. One model attempted to emulate the geographic spread of a "realistic" epidemic from a focus. The second model considered the possible influence of upper bounds on digit distribution. We call the model Random Upper Bound Model (RUBM)

Epidemic spread model: We implemented simulations based on the following very simple model for spreading epidemics.

- **Be a set of N linearly cities with identical populations, all evenly located at the nodes of a linear array being Δ the distance between neighbouring cities.**
- **Al one end of the linear array, an epidemic may start. The time series for incidence is identical to that factually observed for the city of Preston.**
- **Be that the epidemics spreads into neighbouring cities at a speed equal to Δ /1. This means that neighbouring cities display the same incidence pattern shifted in time by one time unit (e. g. one fortnight).**

RUBM: It seems plausible to explore whether the first digit law is a consequence of the finite nature of real data sets. The RUBM assumes that natural numbers span from 1 till an upper bound (for example 250); We call the number 250 "upper bound". For the case of uniform distribution of probability, number 1 will appear with a probability of 111/250=0.44, number 2 appears with 61/250= 0,244, etc. RUBM assumes that the upper bound changes randomly. For each upper bound a number was randomly picked out and 10000 simulations were performed for obtaining a frequency distribution histogram.

RESULTS AND DISCUSSION

Gene length data. In figure 1a, first digit frequencies from gene length data for a total of 10464 genes has been provided.

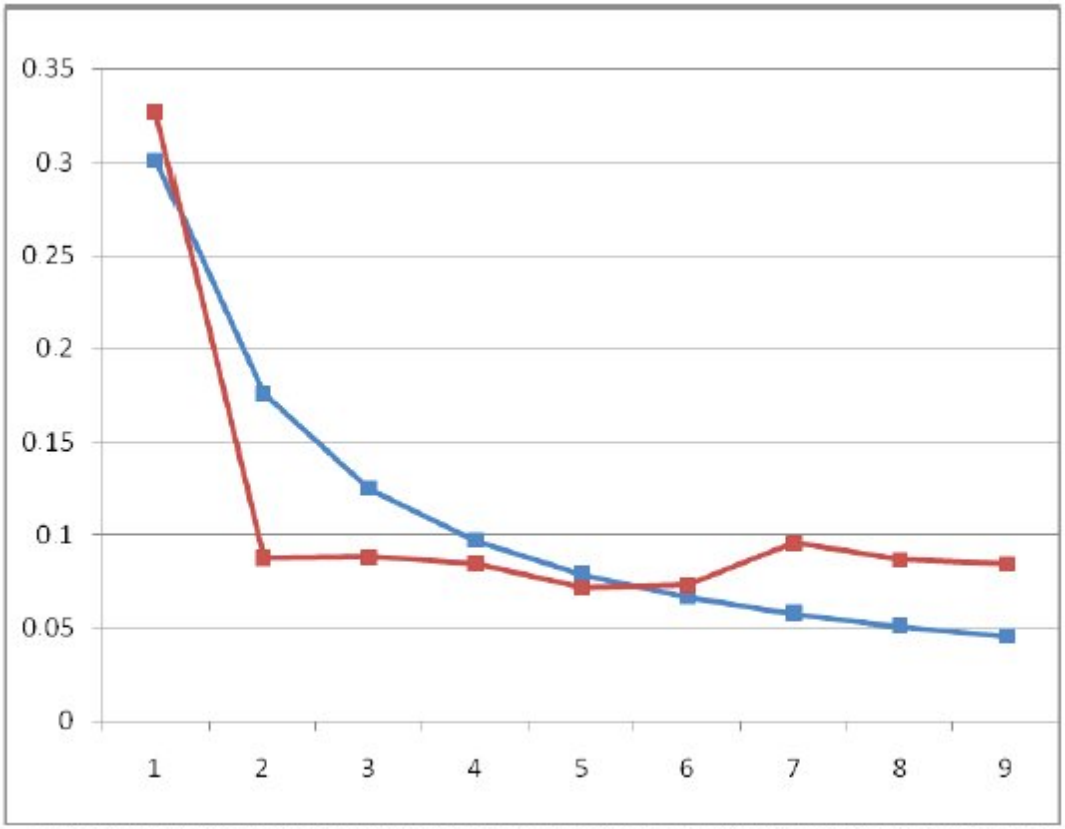


Figure 1-A. Observed first digit frequencies (red) and FDL theoretical probabilities (blue) for gene length data pooled from the genomes of three microorganisms. Axes: abscissas- digit; ordinates-relative frequency.

As appreciable, the theoretical distribution from FDL is unlikely for these data. However, eye inspection suggests a tendency for the digit 1 to be the most frequent. Other digits appear in a rather uniform pattern.

Measles data. In figure 1b, the distribution of first digits is presented for the sum of data collected from all the 60 England and Wales cities from the data set. Less evident than in figure 1a, the tendency to a higher presence of digit 1 compared to other digits is still likely.

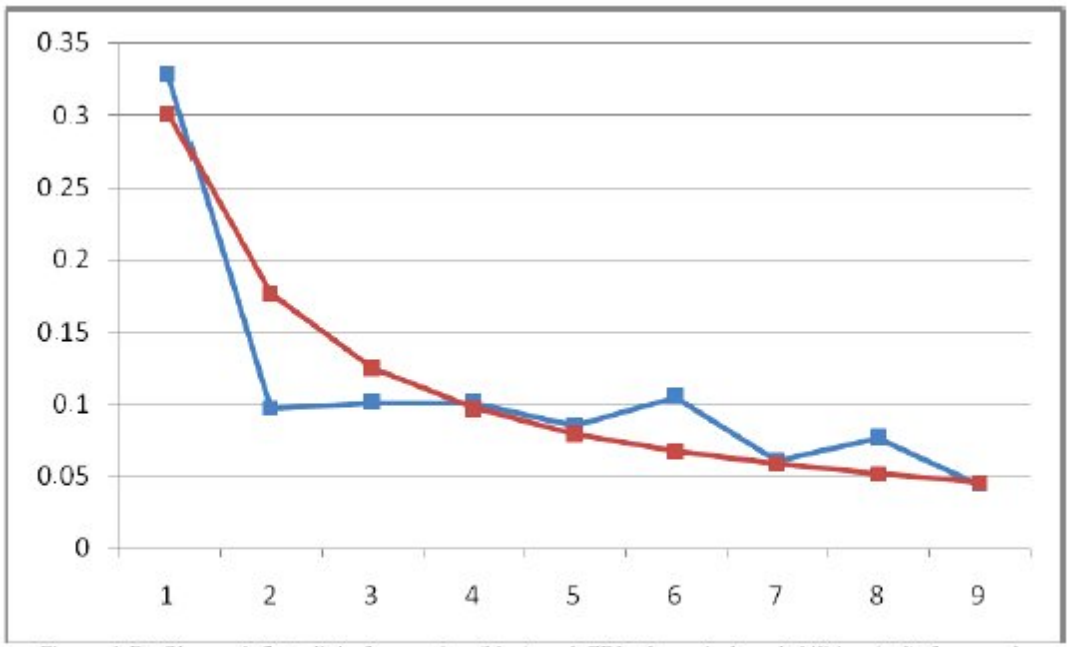


Figure 1-B. Observed first digit frequencies (blue) and FDL theoretical probabilities (red) for measles incidence data averaged from 60 England and Wales cities taken every fortnight (1944-1966). Axes: abscissas-digit; ordinates-relative frequency.

MEG data. As figure 1c reveals, MEG data follow a different pattern, where digit "1" is less frequent, and digits "2" and "3" are more frequent than theoretically expected. Unlike other data gene length data and measles incidence, here we observe a strict monotonous behaviour that seems to become well established as the number of data points exceeds10000.

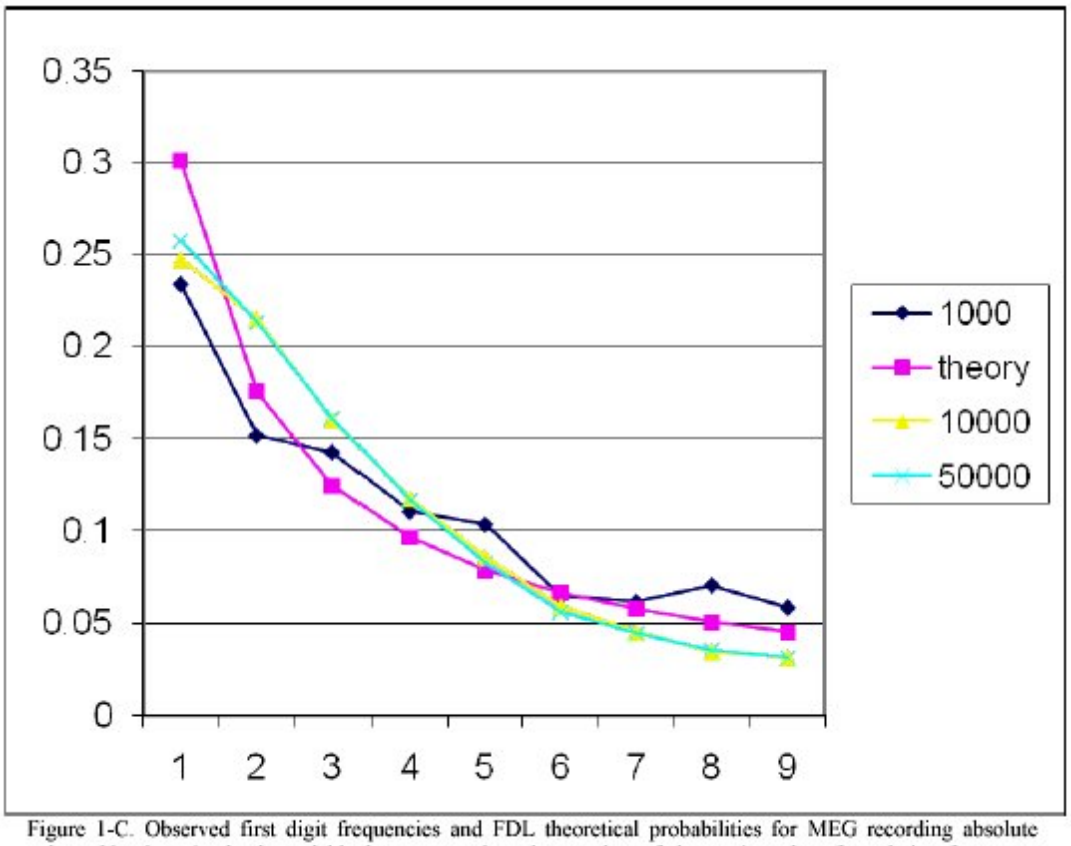


Figure 1-C. Observed first digit frequencies and FDL theoretical probabilities for MEG recording absolute values. Numbers in the legend block correspond to the number of data point taken for relative frequency computation. Axes: abscissas- digit; ordinates- relative frequency.

Travelling waves and the first digit law. In a recent report, Hernandez Caceres et al[8] obtained that the port city of Preston was a likely forerunner of measles epidemics in pre-vaccination England. In figure 2 the distribution of digits corresponding to measles incidence for Preston are presented.

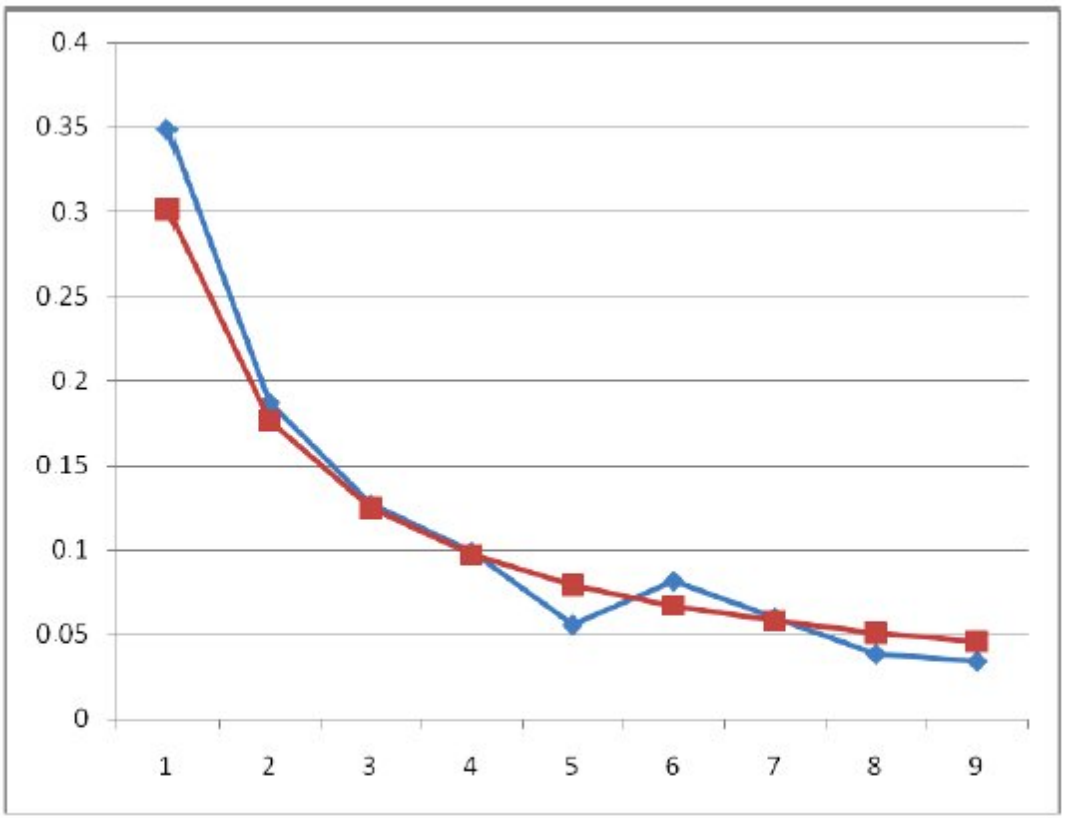


Figure 2. FDL theoretical probabilities (red), and observed first digit frequencies (blue) for measles incidence data for Preston, a putative forerunner or focus of epidemics spread. Axes: abscissas- digit; ordinates- relative frequency.

If we compare these results with those of all the 60 cities pooled together, (figure 1b) a better agreement with FDL is suggestive. Comparison of the two images may provide a clue for the departure from FDL distribution observed for some biological data sets. Certain epidemics (measles is an example) behave as propagating waves. If data collected at an original focus of epidemics one can expect to have a data set in agreement with FDL.

Collecting data from a larger area means to obtain a "smeared" picture of more than one wave coexisting in time. In this case, departures from FDL distribution may be observed. We use a very simple epidemic spread model to put this idea to test.

Even when this model may seem very simplistic, without losing generality, some more realistic situations can be handled by just changing the algorithm used in our simulations. Thus the more reliable case of a circularly spreading 2-d epidemic maybe attained by multiplying adjacent columns of the matrix by a progressively increasing factor, etc.

After carrying out our simulations we obtained overall values for different lengths of the array. Then first digit frequencies were estimated for the resulting time series.

Figure 3 illustrates some results from our simulations. As it can be noticed, when a relatively small "area" (N ranging from 1 to 3) is considered, data are in good agreement with FDL.

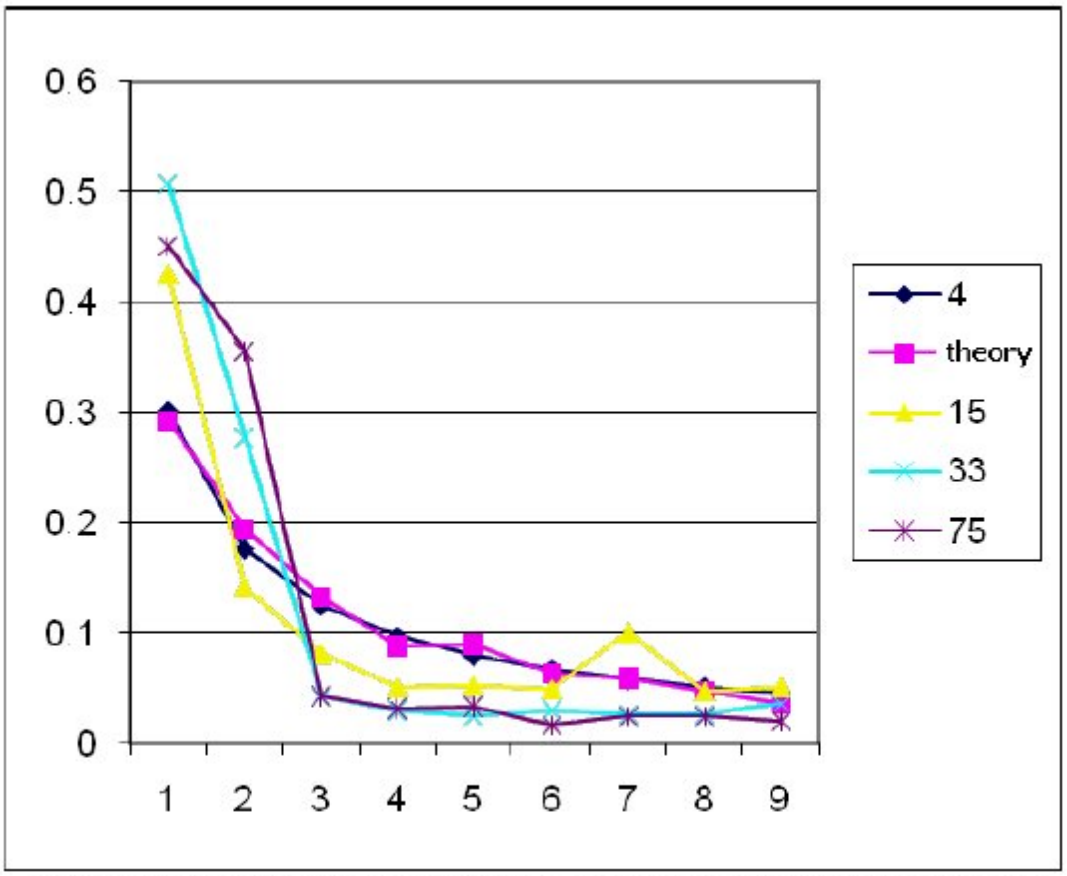


Figure 3. Simulation of first digit distributions for a region where an epidemic is spreading. Numbers in the legend block correspond to the "area" taken for data collection. Axes: abscissas- digit; ordinates-relative frequency.

As the number N increases, the distribution changes dramatically. In particular, an increase in the probability for digit "1" takes place. It is not excluded that more shrewd manipulations of the model can mimic other patterns observed with real data.

Thus our simulations revealed that the presence of propagating waves can lead to some of the observed peculiarities of digit distribution with some real data of biological origin.

In figure 4 the result of RUBM simulations is compared with predictions from FDL as well as with real MEG data. Apparently, MEG data seem to fit better into the scenario with RUBM

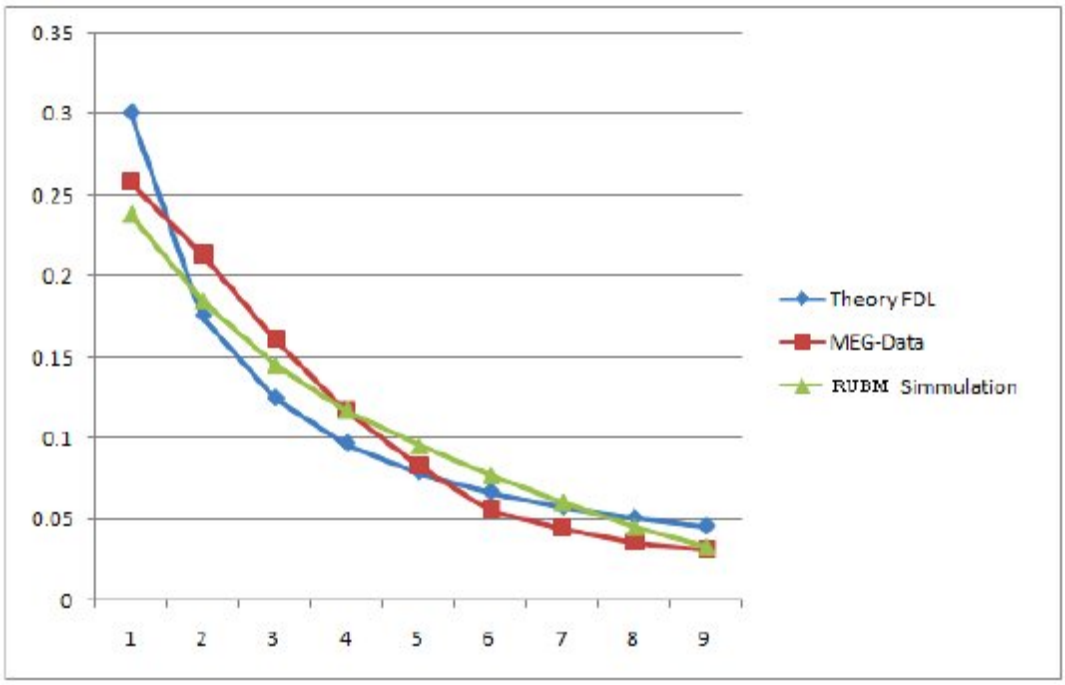


Figure 4. RUBM Simulation of first digit distributions compared to predictions from FDL and real MEG recording. Axes: abscissas- digit; ordinates-relative frequency.

In this section we tried to offer reasons supporting the idea that propagating waves presence might lead to the empirical observations with epidemics incidence data. If it would be proven that this is the case, the degree of agreement of real data with FDL could be used as a criterion for homogeneity of data taken from a certain region.

In the case of MEG data, even when the presence of propagating brain waves is amply documented, the better agreement with a model of randomly set upper bound might suggest that this mechanism is playing a role.

At this moment we did not find yet a plausible explanation for the observed distribution of gene lengths. Perhaps we need a better explanation of what dictates gene length distribution among DNA strands.

Thus we conclude that some biological data sets depart from FDL, usually showing high frequencies for digits "1" and/or "2". In some cases this might be either a consequence of a wave propagation mechanism or a randomly set upper bound distribution.

Acknowledgements: Authors wish to thank MSc Sonia Hernández Camacho for her help in revising the paper.

REFERENCES

1.- Torres J, Fernández S, Gamero A, Sola A. How do numbers begin? (The first digit law). Eur J Phys. 2007; 28: L17-L25

2.- Newcomb S. Note on the frequency of the Use of Digits in natural Numbers. Am J Math. 1981; 4: 39-40

3.- Benford F. The Law of Anomalous Numbers. Proc Am Phil Soc 1938;4: 551-572

4.- Sakai H. Frequency distribution of first digit among population Jinko Mondai Kenkyu. 1991; 47: 74-8

5.- Buck B, Merchant AC, Perez SM. An illustration of Benford's first digit law using alpha decay half lives. Eur J Phys 1993;14: 59-63.

6.- Tolle CR, Budzien JL, LaViolette RA. Do dynamical systems follow Benford's law? Chaos. 2000; 10:331-336

7.- Hill T. A Statistical Derivation of the Significant-Digit Law. Statistical Science. 1995; 10: 354-363

8.- Hernández Cáceres JL, Pérez Monzón M, García Domínguez L, Sautié Castellanos M, Hernández Martínez L, Tejera

Puente E. Pre vaccination measles outbreaks in England and Wales: Nonlinear Association Analysis suggests a leading Role for Preston. Electron J Biomed 2006;2:7-13.

Comment of the reviewer Prof. José María Eirós Bouza. MD. PhD. Professor of Microbiology. Faculty of Medicine. University of Valladolid. Valladolid. Spain.

In the present paper Hernández-Cáceres et al explore whether the fist digit law (FDL) is abided by data sets from biological origin. The information that studies the topic is discordant in several series. Of the originality of the contribution it gives idea the fact that of the methodology followed by the authors. They gathered information of data from different sources, including gene data length for bacteria, pre-vaccination measles incidence data and absolute values from human MEG recordings. First digit frequencies were computed and compared to predictions from FDL.

Simulations included a simple model for two-dimensional epidemics spread and a randomly set upper bound model aimed to explain the behaviour of MEG data. From my point of view simulation studies revealed that averaging data on a scenario of propagating waves can explain some of the observed distortions from FDL.

Explanation for gene length data behaviour requires further theoretical work. It can be opportune that models were developed by other groups in this field of the scientific area.

Comment of the reviewer Prof. Sorana D. Bolboaca MD. PhD. "Iuliu Hatieganu". University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. Cluj. Romania.

Development of communication and information technologies leads to the possibility of share the knowledge resulted from different fields of research. On the other hand, the development of computers opens new pathways in research on all fields.

The Benford's Law states that in a list of numbers from real-life sources of data, the leading digit is 1 and largest numbers occurs as the leading digit with less and less frequency as they grow in magnitude. The concept was introduced by the astronomer Simon Newcomb in 1881.

The present research applied the Benford's Law on a series of biological data: (1) gene length of *Bordetella parapertussis, Aeropyrum pernix, and Bacillus halodurans;* (2) measles incidence from pre-vaccination era in England; and (3) Wales and magneto-encephalographic data from human subjects.

This study explained the results obtained by applying the Benford's Law on the measles incidence data and magneto-encephalographic data. The study opens a new pathway in research of gene lengths in order show the way to a plausible explanation for the observed distribution.

Received: December 11, 2007. Received reviewed March 2, 2008
Published March 9, 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

LA DENSIDAD ÓPTICA APLICADA AL ESTUDIO LECTINHISTOQUÍMICO DE RADICALES GLUCÍDICOS NÉFRICOS EN RATAS DIABÉTICAS TIPO 2

Ana V Frontini[1], Noriyuki Hisano[1], Alberto E D'Ottavio[1,2]

Facultad de Ciencias Médicas[1], y Consejo de Investigaciones[2], Universidad Nacional de Rosario. Rosario. Argentina

aedottavio @ hotmail.com

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:36-42

Comentario del revisor Jesús Garrido, MD. **Unidade de Nefrologia e Diálise. Hospital São Teotónio de Viseu. Viseu. Portugal.**

Comentario del revisor Marta Herreros Villanueva PhD. **Fundación Burgos por la Investigación de la Salud. Unidad de Investigación del Hospital General Yagüe. Burgos. España**

RESUMEN

Este trabajo analiza, mediante densidad óptica (DO), residuos glucídicos en glomérulos y túbulos contorneados proximales, superficiales y yuxtamedulares, de dos líneas de ratas diabéticas: eSS y eSMT al año de edad. 10 ratas macho eSS, 12, eSMT y 10, Wistar (controles) fueron estudiadas con distintas lectinas (PNA, RCA, Con-A, DBA, SBA, WGA y UEA-I). La densidad óptica (DO) fue determinada mediante el Programa Image-pro Plus versión 1.1, estableciéndose rangos para la evaluación de la reacción cromogénica (≥ 200 = 0 (negativa); entre 150 y 200 = 1-2 (débil o moderada positividad), y ≤ 150 = 3 (fuerte positividad). Los principales resultados diferenciales fueron registrados: (a) en los glomérulos superficiales: WGA: eSMT (DO=3) versus eSS y Wistar (DO = 1-2), y UEA-I y Con-A: Wistar (DO= 3) versus líneas diabéticas (DO =1-2); (b) en los glomérulos yuxtamedulares: WGA: Wistar y eSMT (DO = 3) versus eSS (DO= 1-2), UEA-I: líneas diabéticas (DO= 3) versus Wistar (DO=1-2), y Con-A: Wistar (DO =3) versus líneas diabéticas (DO = 1-2), y (c) en las células de los túbulos proximales yuxtamedulares: WGA y Con-A: líneas diabéticas (DO=1-2) versus Wistar (DO= 3), y UEA-I: eSS (DO=3) versus eSMT y Wistar (DO=1-2). Las diferencias entre ratas diabéticas y controles podrían atribuirse a su dismetabolismo, y las de las líneas diabéticas entre sí, a sus distintos orígenes. Asimismo, podrían señalar alteraciones en la filtración y en procesos tubulares intracelulares, coincidiendo con trabajos previos acerca de una nefropatía en evolución a esta edad en eSS y eSMT.

PALABRAS CLAVE:Densidad óptica. Lectinas. Glúcidos. Riñón. Ratas. Diabetes.

SUMMARY

This paper analyzes glucidic residues through optical density (OD) in superficial and juxtamedullary glomeruli and convoluted proximal tubules of two one-year-old diabetic lines of rats: eSS and eSMT. 10 eSS, 12 eSMT and 10 Wistar male rats (controls) were studied with different lectins (PNA, RCA, Con-A, DBA, SBA, WGA and UEA-I). The OD was determined using the Image-pro Plus Software 1.1. Ranges were established for evaluating the chromogenic reaction (≥ 200 = 0 (negative); between 150 and 200 = 1-2 (weakly or moderately positive), and ≤ 150 = 3 (strongly positive). Main differential results were registered. (a) in superficial glomeruli: WGA: eSMT (OD=3) versus eSS and Wistar (OD = 1-2), and UEA-I and Con-A: Wistar (OD = 3) versus

diabetic lines (OD =1-2); (b) in juxtamedullary glomeruli: WGA: Wistar and eSMT (OD = 3) versus eSS (OD = 1-2), UEA-I: diabetic lines (OD = 3) versus Wistar (OD =1-2), and Con-A: Wistar (OD =3) versus diabetic lines (OD = 1-2), and (c) in juxtamedullary proximal tubules cells: WGA and Con-A: diabetic lines (OD =1-2) versus Wistar (OD = 3), and UEA-I: eSS (OD =3) versus eSMT and Wistar (OD =1-2). Differences between diabetic lines and controls may be attributed to its dysmetabolism whilst those between diabetic lines, to its distinct origins. Likewise, alterations in filtration and in intracellular tubular processes could be put into evidence in congruence with previous reports about a diabetic nephropathy in eSS and eSMT at this age.

KEY WORDS:Optical Density. Lectins. Carbohydrates. Kidney. Rats. Diabetes

---

INTRODUCCION

La diabetes tipo 2 se caracteriza por anomalías metabólicas y complicaciones a largo plazo, resultantes de tales anomalías en general y de la hiperglucemia en particular, que afectan esencialmente a ojos, sistema nervioso, piel, vasos sanguíneos y riñones. En estos últimos, suele provocar un conjunto de lesiones reunidas bajo la denominación de nefropatía diabética y que incluye primordialmente a la glomerulopatía, la hialinización de las arteriolas aferente y eferente, lesiones tubulares así como susceptibilidad al desarrollo de pielonefritis y de necrosis papilar[1].

La diabetes es causa relevante de insuficiencia renal crónica, cuya expresión primera suele ser la proteinuria persistente. Si bien en las fases iniciales de la afección renal el control metabólico es un condicionante de la evolución de la enfermedad, su trascendencia es menor en los estadios más avanzados[2-7].

Para el estudio de la diabetes y sus complicaciones, la OMS postula el uso de modelos animales. En tal sentido, la Facultad de Ciencias Médicas dispone en la Cátedra de Biología de dos líneas de ratas diabéticas tipo 2; una, espontánea (eSS) y otra, sintética (eSMT). La línea eSS, no obesa, revela un síndrome diabético temprano, más severo en machos, caracterizado por intolerancia a la glucosa, hiperglucemia y glucosuria así como por cambios morfológicos diacrónicos compatibles con nefropatía diabética. A su vez, la línea eSMT, obtenida mediante el cruce de ratas eSS con ratas ß - genéticamente obesas y diabéticas tipo 2 tardías - presentan al año de edad un síndrome diabético más severo que el de su línea parenteral eSS, de mayor gravedad en machos, y desarrollan, como eSS, una nefropatía diabética con el paso de la edad[8-9].

La nefropatía diabética, con sus alteraciones concomitantes en los mecanismos de glucosilación, puede ser indagada de variadas maneras. Una de ellas, denominada lectínhistoquímica, se basa en el empleo de lectinas, grupo heterogéneo de proteínas o de hidratos de carbono unidos a proteínas, de origen no inmune y con capacidad para localizar, reconocer y unirse específica, sensible y reversiblemente a carbohidratos simples y a glucoconjugados, en tejidos normales y patológicos[10-11].

Para brindar mayor objetividad, validez y fiabilidad a los datos histoquímicos resultantes del uso de lectinas se recurrió al análisis de la densidad óptica (DO)[12], procedimiento analítico de imágenes que provee información acerca de la cantidad de lectinas fijadas a componentes glúcidos, mediante la intensidad de luz transmitida que logra atravesarlos; vale decir, la lectina se fija específicamente a un grupo glúcido y la DO mide la cantidad de ella adherida al mismo.

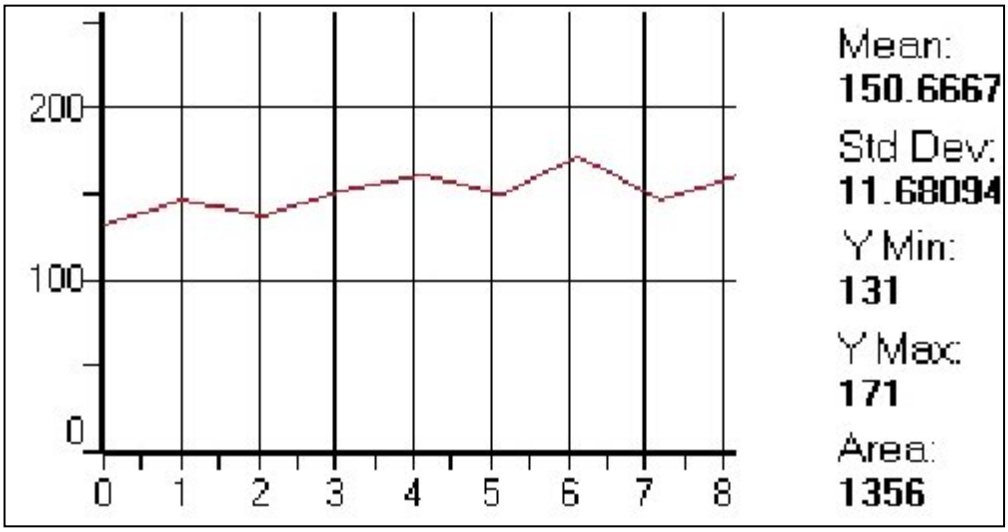
En tal contexto, el presente trabajo estudia, mediante la DO, radicales glucídicos localizados en determinados segmentos del nefrón de dos líneas autóctonas de ratas diabéticas eSS (espontánea) y eSMT (sintética) al año de edad e intenta aportar conductas prácticas derivadas de dicho estudio.

MATERIAL Y MÉTODO

22 ratas diabéticas macho (10, eSS y 12, eSMT) y 10 ratas macho Wistar, empleadas como controles, fueron sacrificadas al año de edad con sobredosis de éter bajo campana de vidrio, previa pesada de las mismas y respetando las normas éticas que rigen para esta clase experiencias. Se accedió a la celda renal mediante una incisión mediana longitudinal del abdomen y apartamiento de los intestinos. Tras disecar la grasa perirrenal, los riñones fueron pesados, seccionados y fijados en líquido de Bouin (45 minutos) y Formol al 10% en PBS (Buffer salino de Fosfato 0,01 M) (3 horas). Dichos órganos se procesaron con la técnica habitual de inclusión en parafina, realizándose cortes de 6 µm de espesor, para su posterior desparafinación y rehidratación. La peroxidasa endógena se inactivó con una solución de H2O2 (100V) al 3% en metanol. Luego, los especímenes fueron lavados con PBS, secados y tratados con una solución de Albúmina Sérica Bovina. Seguidamente, fueron expuestos a las siguientes lectinas: Arachis hypogaea (PNA), Ricinus communis (RCA), Canavalis ensiformis (Concanavalina A/ Con-A), Dolichos biflorus (DBA), Glycine max (SBA), Triticum vulgaris (WGA) y Urex europeus (UEA-I) e incubados a 4º C durante toda la noche. Al día siguiente, se lavaron con PBS, se cubrieron con el complejo CAB (Complejo Avidina-Biotina), fueron nuevamente lavados con PBS, sometidos a la DAB (Diaminobencidina), lavados con agua destilada y coloreados con hematoxilina a modo de contraste. Finalmente, fueron deshidratados, montados y colocados en un microscopio óptico de investigación Zeiss dotado de una videocámara digital color modelo Sony Exwavehad.

Las fotos digitales obtenidas en color real fueron seleccionadas y transformadas en una imagen en escala de grises para, luego, determinar las densidades ópticas en corpúsculos y túbulos contorneados proximales (TCP), superficiales y yuxtamedulares, mediante el Programa Image-pro Plus versión 1.1 (Media Cybernetics)[13-16].

Para establecer la escala más abajo detallada se midieron las estructuras renales citadas a 400 aumentos a razón de 8 contajes/estructura/animal El programa proveyó automáticamente el promedio ± desvío estándar de fijación de lectina para cada contaje, procediéndose finalmente a establecer el promedio final de fijación lectínica en la totalidad de contajes efectuados en cada estructura de cada línea de ratas. El cero se seleccionó a partir de una zona no reactiva a las lectinas y su valor máximo, cercano a 250, se obtuvo de la zona de mayor reactividad lectínica (figura 1).



Gráfica obtenida con promedio, desvío estándar y medidas máxima y mínima (rango) obtenidas tras 8 mediciones con Arachis hypogaea (PNA) en células de un túbulo contorneado proximal de rata eSS macho de un año de edad. La evaluación microscópica, visual y cualitativa, fue (++)

Partiendo de los promedios obtenidos, la DO de las lectinas se graduó según la escala semicuantitativa que sigue: DO = 200 = negativa - 0 -, DO entre 150 y 200 = débil a moderadamente positiva - 1 a 2- y DO = 150 = fuertemente positiva - 3 -.

RESULTADOS

El epitelio parietal de la cápsula de Bowman en los corpúsculos superficiales y yuxtamedulares resultó reactivo a todas las lectinas en todas las ratas salvo para UEA-1: Wistar (DO=1-2) versus ambas líneas de ratas diabéticas (DO=0).

Los glomérulos superficiales y yuxtamedulares fueron DO = 1-2 para las lectinas en la totalidad de las líneas murinas analizadas con excepción de las que se enumeran:

1. Glomérulos superficiales: WGA: ratas eSMT (DO=3) versus ratas eSS y Wistar (DO = 1-2), y UEA-I y Con-A: ratas Wistar (DO= 3) versus ambas líneas diabéticas (DO =1-2)

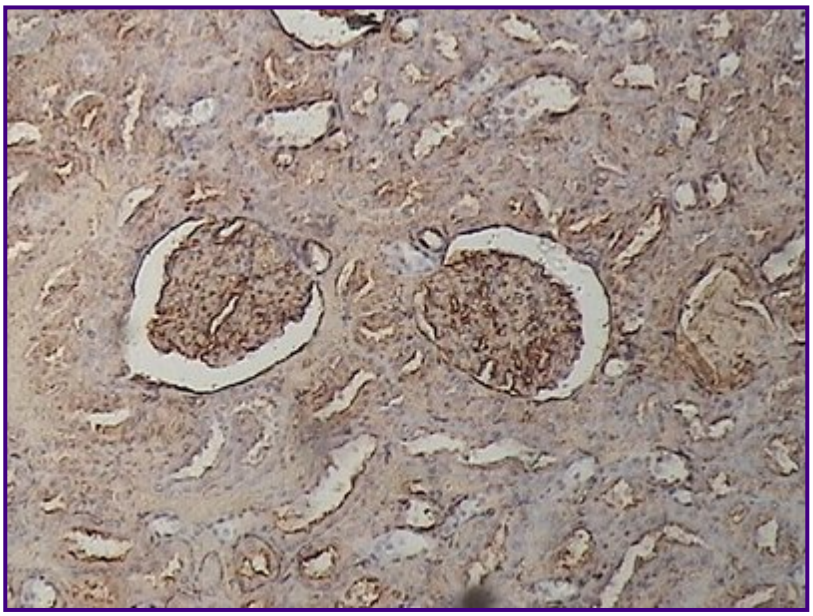
2. Glomérulos yuxtamedulares: WGA: ratas Wistar y eSMT (DO = 3) versus ratas eSS (DO= 1-2), UEA-I: ambas líneas diabéticas (DO= 3) versus ratas Wistar (DO=1-2), y Con-A: ratas Wistar (DO =3) versus ambas líneas diabéticas (DO = 1-2)

A su vez, las células de los

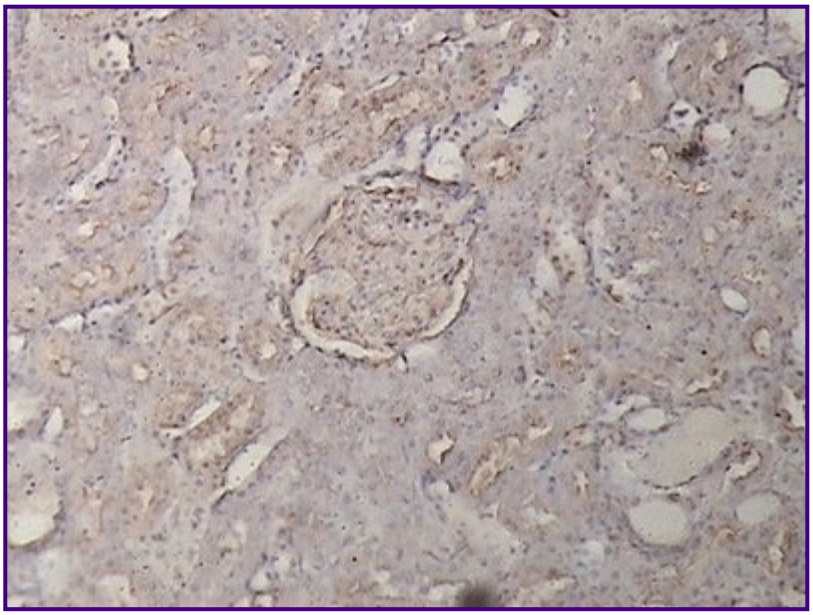
1. TCP superficiales: evidenciaron DO= 1-2 en todas las ratas estudiadas para cualquier lectina de las empleadas

2. TCP yuxtamedulares: tuvieron DO=1-2 en las ratas analizadas para las lectinas utilizadas salvo en WGA y Con-A: ambas líneas diabéticas (DO=1-2) versus ratas Wistar (DO= 3), y en UEA-I: ratas eSS (DO=3) versus ratas eSMT y Wistar (DO=1-2).

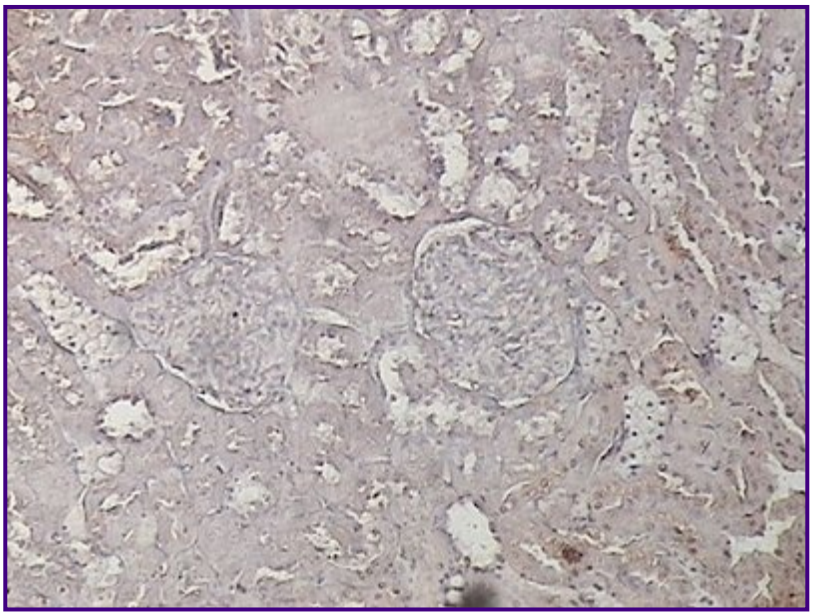
Los ribetes en cepillo de los TCP superficiales y yuxtamedulares mostraron DO = 3 en todas las ratas y para todas las lectinas.



Ejemplo lectinhistoquímico cualitativo cuya densidad óptica fue igual a 3.
Se observan dos corpúsculos yuxtamedulares vecinos e hiperreactivos a la lectina WGA en el centro del campo microscópico.
Rata Wistar (control). 400 aumentos.



Ejemplo lectinhistoquímico cualitativo cuya densidad óptica fue igual a 1-2.
Se observa un corpúsculo yuxtamedular débilmente reactivo a la lectina WGA en el centro del campo microscópico.
Rata diabética eSS. 400 aumentos.



Ejemplo lectinhistoquímico cualitativo cuya densidad óptica fue igual a 0.
Se observan dos corpúsculos yuxtamedulares vecinos y no reactivos a la lectina UEA-I en el centro del campo microscópico.
Rata diabética eSMT diabética. 400 aumentos.

DISCUSIÓN

Los resultados fueron interpretados de acuerdo con los grupos glucídicos con los que reacciona cada lectina empleada. En ese sentido, corresponde señalar que PNA y RCA se unen primordialmente con N-acetil-alfa-D-galactosamina, RCA, además, presenta afinidad por oligosacáridos con ácido N-acetilneuramínico ó Neu5Ac en posición alfa 2-6, Con-A reacciona fundamentalmente con alfa-D-manosa y alfa- D- glucosa, DBA marca residuos de alfa -N- acetil D-galactosamina, SBA lo hace con N-acetil glucosamina y N-acetilgalactosamina, WGA con alfa- N-acetil- D-glucosamina y el ácido N-acetilneuramínico, y UEA - I, con alfa- L-fucosa y D-Galactosa[17].

Las diferencias detectadas entre ambas líneas diabéticas y las ratas controles pueden atribuirse a su dismetabolismo mientras que las observadas entre ambas líneas diabéticas entre sí podrían deberse a su origen, señalado en la Introducción.

La presencia diferencial de determinadas lectinas en los glomérulos superficiales y profundos podría estar señalando su posible participación en la barrera hemo-renal durante el proceso de filtración. De modo similar, los resultados en las células de los TCP primordialmente yuxtamedulares parecerían más relacionados con procesos intracelulares que en las zonas reabsortivas de sus ribetes en cepillo con DO = 3 en todas las líneas de ratas y para la totalidad de lectinas analizadas.

Nuestros resultados coinciden parcialmente con los obtenidos por otros autores que detectaron alteraciones en residuos glucídicos de estructuras semejantes. Sin embargo, cabe destacar que estos estudios no emplearon densidad óptica y fueron realizados en otras líneas murinas diabéticas, diabetizadas con estreptozotocina y, también, en pacientes[4-5, 8-10, 18].

Resumiendo, los datos señalarían modificaciones en residuos glucídicos de corpúsculos y túbulos contorneados proximales en estos dos modelos murinos autóctonos de diabetes tipo 2, ampliando con ello trabajos publicados previos en los que, valiéndonos de otras técnicas, fue demostrada a esta edad una nefropatía diabética en perceptible evolución[19-21].

Si bien estos resultados en ratas no son directamente extrapolables al ser humano, podrían resultar de utilidad indicativa y comparativa en clínica nefrológica.

REFERENCIAS

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N: Robbins-Cotran Patología Estructural y Funcional, 7ª edición, Netherlands. 2005;

2. Farreras PV, Rozman C: Tratado de Medicina Interna (2 Tomos), 15ª edición, Editorial. Elsevier. 2006:

3. Rodés JT: Medicina Interna (2 Tomos). 2ª edición. Editorial Masson. 2004;

4. Móise B: Immunocytochemical detection of advanced glycated end products in rat renal tissue as a function of age and

diabetes. Kidney International. 1998; 54: 438-447

5. Cohen JJ, Harrington JY & Madias NE: Protein glycation in the kidney: role in diabetes and aging. Kidney International .1996; 49: 1795-1804

6. Osterby R & Gundersen HJG: Fast accumulation of basement membrane material and the rate of morphological changes in acute experimental diabetic glomerular hypertrophy. Diabetologia.1980; 18: 493-500

7. Nanlpleri M., Lanfranchi A, Santerini D. et al: Influence of long - term diabetes on renal glycogen metabolism in the rat. Nephron,2001; 87: 50-57

8. Tomohiko K, Zenju T et al. Histochemical analysis of changes in lectin binding in murine glomerular lesions. The Japanese Society of Pathology.1989; 39: 31-41

9. Murata F, Tsuyama S et al. Distribution of glycoconjugates in the kidney studied by used of labeled lectins. The Journal of Histochemistry and Citochemistry. 1983; 31:139-144

10. Aguirre, JI, Han JS, Itagaki S & Doi K; Lectin histochemical study on the kidney of normal and streptozotocin-induced diabetic hamsters. Histol. Histopath.1993; 8: 273-278

11. Sassy-Prigent C, Heudes D et al.: Morphometric detection of incipient glomerular lesions in diabetic nephropathy in rats. Laboratory Investigation.1995; 73: 64-71

12. Davies A: Focal Digital Imaging A to Z. 2nd Edition. Netherlands. Elsevier B.V, 2005; 182

13. Kern T & Engerman, RL: Pharmacological Inhibition of Diabetic Retinopathy Aminoguanidine and Aspirin. Diabetes. 2001; 50:1636-1642

14. Wehbi GJ, Zimpelmann J, Carey RM y col.: Early streptozotocin-diabetes mellitus downregulates rat kidney AT2 receptors. 2001: Am J Physiol Renal Physiol 280: 254-265

15. Won Hong S, Isono M, Chen S y col.: Increased Glomerular and Tubular Expression of Transforming Growth Factor-ß1, Its Type II Receptor, and Activation of the Smad Signaling Pathway in the db/db Mouse. American Journal of Pathology. 2001; 158:1653-1663

16. Féliers D, Meredith AF & Riley D: Activation of Cyclin D1-Cdk4 and Cdk4-Directed Phosphorylation of RB Protein in Diabetic Mesangial Hypertrophy. Diabetes. 2002: 51:3290-3299

17. Sgambati E, Marini M, Vichi D, Zappoli Thyrion GD, Parretti E, Mello G, Gheri G: Distribution of the glycoconjugate oligosaccharides in the human placenta from pregnancies complicated by altered glycemia: lectin histochemistry Histochem Cell Biol. 2007; 128 :263-273

18. Tomino Y, Inoue W, Watanabe S, Yagame M, Eguchi K, Nomoto Y, Sakai H. Detection of glomerular sialic acids in patients with diabetic nephropathy. 1998; Am J Nephrol 8:21-26

19. Daniele SM, Arriaga S, D´Ottavio AE. et al.: Onset and evolution of nephropathy in rats with spontaneous diabetes mellitus. J. Physiol. Biochem. 2000; 56: 45-54

20. Tarrés MC, Montenegro SM, Martínez SM, Picena JC, Toniolo M, Figueroa NS, Naves A: The eSMT rat: a murine model of type 2 human diabetes. Animal research and welfare. A partnership proceedings of the international joint meeting XII ICLAS General Assembly & Conference 7th FELASA Symposium. J.A. Tur & JM. Orellana (Managing editors). Laboratory Animals Ltd, pp. 93-94, London, 2000

**21. Picena JC, Daniele SM, Tarrés MC, Montenegro SM, Martínez SM, D'Ottavio AE: An animal model fits for studying divergences among diabetic microvascular complications. Electron J Biomed 2005;2:39-43.
Disponible en: http://biomed.uninet.edu/2005/n2/picena.html [citado 25 febrero 2008]**

Agradecimiento: Los autores agradecen profundamente a la Cátedra de Biología (Medicina, Universidad Nacional de Rosario) la provisión de las ratas eSS y eSMT, en ella desarrolladas y criadas, así como al Prof. Dr. Rodolfo Tomás Puche la facilitación del Programa Image-pro Plus versión 1.1.

Correspondencia: Alberto E D'Ottavio - Matheu 371 - 2000 Rosario (Santa Fe). ARGENTINA
aedottavio @ hotmail.com

Comentario del revisor Jesús Garrido, MD. Unidade de Nefrologia e Diálise. Hospital São Teotónio de Viseu. Viseu. Portugal.

La diabetes mellitus y la insuficiencia renal crónica asociada a la nefropatia diabética, constituyen actualmente una "epidemia mundial" lejos todavia de alcanzar su máxima prevalencia. Son muchos los esfuerzos de la comunidad científica internacional para mejorar el conocimiento de la fisiopatologia de la diabetes y concretamente en la nefropatia diabética para permitir así una estrategia terapeutica mas acertada.

La utilización de lectinas, para muchos poco conocidas pero ampliamente utilizadas en investigación, puede ayudar a caracterizar las alteraciones asociadas a la diabetes, con gran potencial en el estudio de la enfermedad renal.

El trabajo presentado por Frontini et al, basado en la caracterización renal de los residuos glucídicos por lecitinhistoquímica en ratas diabéticas utilizando la densidad óptica para el análisis, supone un paso mas en este desafio.

Comentario del revisor Marta Herreros Villanueva PhD. Fundación Burgos por la Investigación de la Salud. Unidad de Investigación del Hospital General Yagüe. Burgos. España

Se trata de un trabajo de investigación interesante tanto por la técnica novedosa de detección que emplea como por los datos aportados en ratas diabéticas.

Con la técnica de lectinhistoquímica analizando la densidad óptica, es posible conocer la distribución de los residuos glucídicos que conforman oligoconjugados. Esto es posible debido a la especificidad de las lectinas empleadas para el análisis. Esta técnica podría ser empleada para estudiar la evolución de la patología nefrótica en diabetes así como para clasificar otros síndromes nefróticos o incluso patologías metabólicas de grupos glucídicos.

Recibido: 28 de febrero de 2008. Recibido revisado 4 de marzo de 2008
Publicado: 15 de marzo de 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO (EGFR) EN EL CARCINOMA COLORRECTAL PRIMARIO Y METASTÁSICO.

Manuel Claver Criado[1], Marta Herreros Villanueva[2], Carlos García Girón[3],Celina Echevarria Iturbe[1], Belen Perez Mies[1], María Jesús Coma-del-Corral[2]

Servicio de Patología[1], Unidad de Investigación[2], Servicio de Oncología Médica[3]. Hospital General Yagüe, Complejo Asistencial de Burgos. Burgos. España

mjcoma @ uninet.edu

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:43-53

Comentario del revisor Prof. Francisco Abad Santos MD PhD. Profesor de Farmacología Clínica. Universidad Autónoma de Madrid. España

Comentario del revisor Prof. Valentín del Villar Sordo MD PhD. Catedrático de Medicina. Jefe del Servicio de Medicina Interna del Complejo Hospitalario de Soria. España

---

RESUMEN

Se ha estudiado la expresión del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) en el tumor primario y metastásico de 50 pacientes consecutivos atendidos en el Servicio de Oncología del Hospital General Yagüe de Burgos, por presentar enfermedad metastásica de un tumor colorrectal.

Además de valorar la expresión del marcador en el tumor primario y metastásico, se analizó la relación entre el tipo histológico o grado de diferenciación tumoral y el grado de atipia citológica con la expresión del EGFR, y las diferencias en el tiempo de progresión de la enfermedad y la diferenciación tumoral cuando el EGFR se expresa tanto en el tumor primario como en la metástasis, o cuando dicha expresión ocurre únicamente en el tumor primario o sólo en las metástasis.

Nuestros datos ponen de manifiesto que la expresión del EGFR puede aparecer en el tumor primitivo, en la metástasis, o en ambos casos, pero no se puede predecir si la metástasis expresará o no ese factor a partir de su expresión en el tumor primario. Por otro lado, la expresión del Factor de Crecimiento Epidérmico no guarda relación con la atipia citológica del tumor considerada aisladamente respecto de la diferenciación tumoral, pero si con la diferenciación tumoral, siendo más frecuente su aparición cuanto más desdiferenciado está el tumor, y esa relación tiene significación estadística.

PALABRAS CLAVE: Cancer colorrectal. Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico. dianas terapéuticas

---

SUMMARY: EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) EXPRESSION IN PRIMARY AND METASTATIC COLORECTAL CANCER

We studied Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) expression in primary and metastatic tumor of 50 consecutive patients treated at the Oncology Service in General Yagüe Hospital in Burgos, with metastatic disease of colorectal tumours.

In addition to evaluate EGFR expression in primary and metastatic tumor, we analyzed the relationship between the histological type or degree of tumor differentiation, and the degree of cytologic atypia with EGFR expression, and the differences in time to progression of the disease and the tumor differentiation when EGFR is expressed both in the primary tumor and metastasis, or when that expression occurs only in the primary tumor or metastasis only.

Our data show that EGFR expression can appear on the primary tumour, metastasis, or both, but we can not predict whether or not metastasis expressed that factor from its expression in the primary tumor. On the other hand, Epidermal Growth Factor expression is not related to cytologic atypia alone regarding the tumor differentiation, but yes if tumor differentiation is considered. It is more frequent in more undifferentiated tumors, and this relationship have statistical significance.

KEY WORDS: Colorectal cancer. Epidermal Growth Factor Receptor. Targeted therapies

---

INTRODUCCION

El Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) es una glicoproteína trans-membrana involucrada en los mecanismos implicados en el crecimiento, la diferenciación y la proliferación celular. El EGFR pertenece a la familia de receptores del factor de crecimiento con actividad tirosina-quinasa. El EGFR se expresa en muchos tejidos humanos normales y la activación de este protooncogén provoca su sobreexpresión en muchos tipos de tumores humanos. Como glicoproteína transmembrana, el dominio extracelular del EGFR es un sitio de ligadura para el factor de crecimiento transformante alfa (TGFa), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y otros factores.

Tras la unión del ligando, se activa el dominio intracelular del EGFR, lo que desencadena mecanismos celulares que incrementan la proliferación celular, la metástasis y la angiogénesis [1, 2]. Análisis *in vitro* utilizando células que expresan grandes cantidades de EGFR y producen ligandos para esos receptores, han demostrado que el EGFR puede ser activado a través de una vía autocrina, induciendo así la proliferación de células en cultivo[3]. Para inhibir la proliferación de células ricas en EGFR, se han producido antagonistas del EGFR que bloquean el sitio de unión al ligando.

Se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales contra el EGFR inhiben la proliferación de las células que producen *TGFa* y EGFR[4]. Un antagonista dirigido contra el sitio de unión al ligando del EGFR ofrece un enfoque interesante para el tratamiento de los cánceres en los que intervienen vías dependientes de aumento de EGFR[5]. Entre los cánceres que sobreexpresan el EGFR se encuentran algunos de los más prevalentes el cáncer colorrectal (72%), el cáncer de cabeza y cuello, (92%), el cáncer pancreático (95%), de ovario (35-70%), de células renales (50-90%), el cáncer pulmonar no microcítico (40-80%) y los gliomas (40-50%). El pronóstico para muchas de esas neoplasias malignas es malo si no se diagnostican en una etapa temprana y el tratamiento para la enfermedad avanzada es limitado[6-7].

Se han investigado los efectos del bloqueo de los EGFR en el progreso del ciclo celular en varios tipos celulares humanos, entre ellos las células del adenocarcinoma de colon. Estos estudios sugieren que el bloqueo de los EGFR con anticuerpos monoclonales induce la detención del ciclo celular en la Fase Gl,[8] y se ha demostrado también que el bloqueo del EGFR induce la muerte celular mediante apoptosis en las células de adenocarcinoma de colon[9].

Los estudios iniciales sobre el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos directamente contra el sitio de unión del EGFR han mostrado resultados prometedores en el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico y se espera que aumente en el futuro los tratamientos disponibles para los pacientes diagnosticados con esta enfermedad[10-16].

Actualmente se asume que hay una correlación entre la expresión del EGFR en células cancerosas y la respuesta al tratamiento con fármacos dirigidos al EGFR. La evaluación inmunohistoquímica de la expresión del EGFR es el método más ampliamente utilizado para la inclusión de pacientes en ensayos clínicos que investigan el uso de anticuerpos dirigidos al EGFR.

Sin embargo, en estos ensayos, una considerable proporción de tumores colorrectales con elevada expresión del EGFR han sido refractarios al tratamiento, mientras que pacientes con tumores que muestran una baja expresión del EGFR respondieron al tratamiento. Sorprendentemente, han sido referidas respuestas objetivas aún en tumores colorrectales avanzados EGFR negativos tratados con anticuerpos monoclonales contra el EGFR[17]. Estos hallazgos muestran el fracaso en demostrar que el nivel de EGFR pudiese tener algún papel en la predicción de la tasa de respuesta.

Aunque diversos mecanismos podrían explicar esta aparente falta de correlación entre el estado del EGFR y la eficacia de la terapia dirigida contra el EGFR con anticuerpos monoclonales, es posible que la detección del EGFR, que habitualmente es realizado en el tumor primario, no siempre correlacione con la situación del EGFR en las distintas metástasis, siendo así

resistentes al tratamiento a las células cancerosas en estos sitios.

Por lo tanto, parece importante corroborar si los tumores que expresan el EGFR en tumor primario, lo expresan también en los sitios metastásicos, así como si existe relación con otra serie de características histológicas y de localización.

El objetivo principal de este estudio fue analizar el grado de concordancia en la expresión del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) entre el tumor primario y las metástasis en los tumores colorrectales. Y secundariamente, analizar si el tipo histológico ó grado de diferenciación tumoral y el grado citológico en los tumores de colon son diferentes cuando la expresión del EGFR ocurre en el tumor primario y en las metástasis, respecto a los que dicha expresión sólo ocurre en el tumor primario.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado a lo largo de 1 año, correspondiendo a los casos en que la progresión apareció en el año 2004 o 2005. Los pacientes incluidos en el estudio fueron seleccionados en el Servicio de Oncología por padecer cáncer colorrectal en fase metastásica, previa obtención del consentimiento informado. Asimismo se recogieron los datos clínicos pertinentes.

En los pacientes seleccionados, se procedió a la obtención de nuevos cortes histológicos del tumor primitivo, a partir del bloque de tejido incluido en parafina existente en el archivo de biopsias, en los que se realizaron técnicas histopatológicas rutinarias y técnicas de inmunohistoquímica con los anticuerpos monoclonales anti EGFR (DAKO®, K-1492).

La observación de las preparaciones microscópicas y la valoración del resultado de la técnica histoquímica fue realizado por dos patólogos de forma aleatoria y ciega respecto del estadio clínico del paciente (MCC y BPM), quedando registrados los resultados.

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo, con 50 pacientes vistos en el servicio de Oncología Médica, seleccionados por padecer adenocarcinoma de colon con progresión de la enfermedad, que disponían de biopsia del tumor metastásico y/o primario archivada o disponible en el Servicio de Patología del Hospital General Yagüe de Burgos.

Se revisaron los datos clínicos y se recogieron en una base de datos la edad en años, sexo, periodo de latencia hasta la aparición de metástasis o progresión de la enfermedad, tipo histológico del tumor primario (adenocarcinoma bien diferenciado, moderadamente diferenciando, pobremente diferenciando y otros), el grado citológico (I, II, III) y el estadio tumoral (clasificación según TNM).

La determinación del factor de crecimiento epidérmico se realizó tanto en el tumor primario (EGRF-p) como en la metástasis (EGFR-m) de todos los tumores colorrectales incluidos en el estudio, a partir de las muestras de tejido tumoral almacenadas en el laboratorio de Patología del Hospital General Yagüe de los pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal metastásico, mediante Inmunohistoquímica, de acuerdo a los procedimientos normalizados del laboratorio de Patología.

Con el fin de evitar posibles sesgos del observador, la presencia del factor de crecimiento epidérmico en las metástasis (EGFR-m) fue realizada de forma ciega respecto a la presencia del factor de crecimiento epidérmico en el tumor primario (EGFR-p).

Análisis estadístico: Las pruebas estadísticas y el procesamiento y análisis de los datos se llevaron a cabo con la ayuda del paquete estadístico SPSS v11.0. Se realizó un análisis descriptivo de las variables a través de distribuciones de frecuencia para las cualitativas y media y desviación estándar para las cuantitativas. Se calculó el porcentaje de muestras que expresan el factor de crecimiento epidérmico tanto en el tumor primario (EGFR-p) como en el metastático (EGFR-m), con su correspondiente intervalo de confianza al 95%.

Se analizaron las características histológicas de los tumores analizados, en concreto, grado de diferenciación tumoral y grado citológico y se busco la relación entre la expresión del EGFR y las características histológicas, a través de pruebas de χ^2 con las correspondientes correcciones en su caso. También se compararon los casos que expresaron conjuntamente EGFR-p y EGFR-m con aquellos que expresaron EGFR únicamente en el tumor primario o metastásico.

RESULTADOS

La serie estudiada está formada por 50 pacientes tratados en el Servicio de Oncología del Hospital General Yagüe, afectos de adenocarcinoma colorrectal que progresó a enfermedad generalizada, con metástasis a distancia. De éstos, aproximadamente la tercera parte eran mujeres y el resto varones. La edad de los pacientes seleccionados, oscilaba entre 31 y 77 años, con una media de 63,30 ± 9,126 años (Tabla 1).

	N (%)	Edad en años Media ± DS (rango)
Varones	33 (66%)	63,70 ± 8,387 (38 - 77)
Mujeres	17 (34%)	62,53 ± 10,648 (31 - 75)
Total	50 (100)	63,30 ± 9,126 (31 - 77)

Tabla 1.- Sexo y edad de los pacientes en la primera biopsia

El periodo medio de tiempo entre la escisión del tumor primario, y la aparición de franca progresión de la enfermedad osciló entre 15 y 3639 días, con una media de 812,66 ± 683,097 días. El intervalo entre biopsias, en los 9 casos en que se practicó segunda escisión o biopsia osciló entre 1 y 3188 días, con una media de 726,11 ± 985,812 días.

Con respecto al grado de diferenciación histológica del adenocarcinoma, había predominio de tumores moderadamente diferenciados (39 casos, 78,0%), mientras que eran pobremente diferenciados 11 casos (22,0%). Ninguno de los 50 casos fué considerado adenocarcinoma bien diferenciado.

El tipo citológico II es decir, con atipia moderada (33 casos, 66%) predominaban sobre aquellos que tenían intensa atipia citológica (17 casos, 34%). No hubo ningún caso fue de tipo citológico I (atipia escasa o ausente).

En 46 casos analizados, la expresión del Factor de Crecimiento Epidérmico en el tumor primitivo (EGFR-p) fue positivo en 22 (47.8%) y negativo en 24 (52.2%); en los 4 pacientes restantes, no obtuvimos muestra del tumor primitivo (Figura 1).

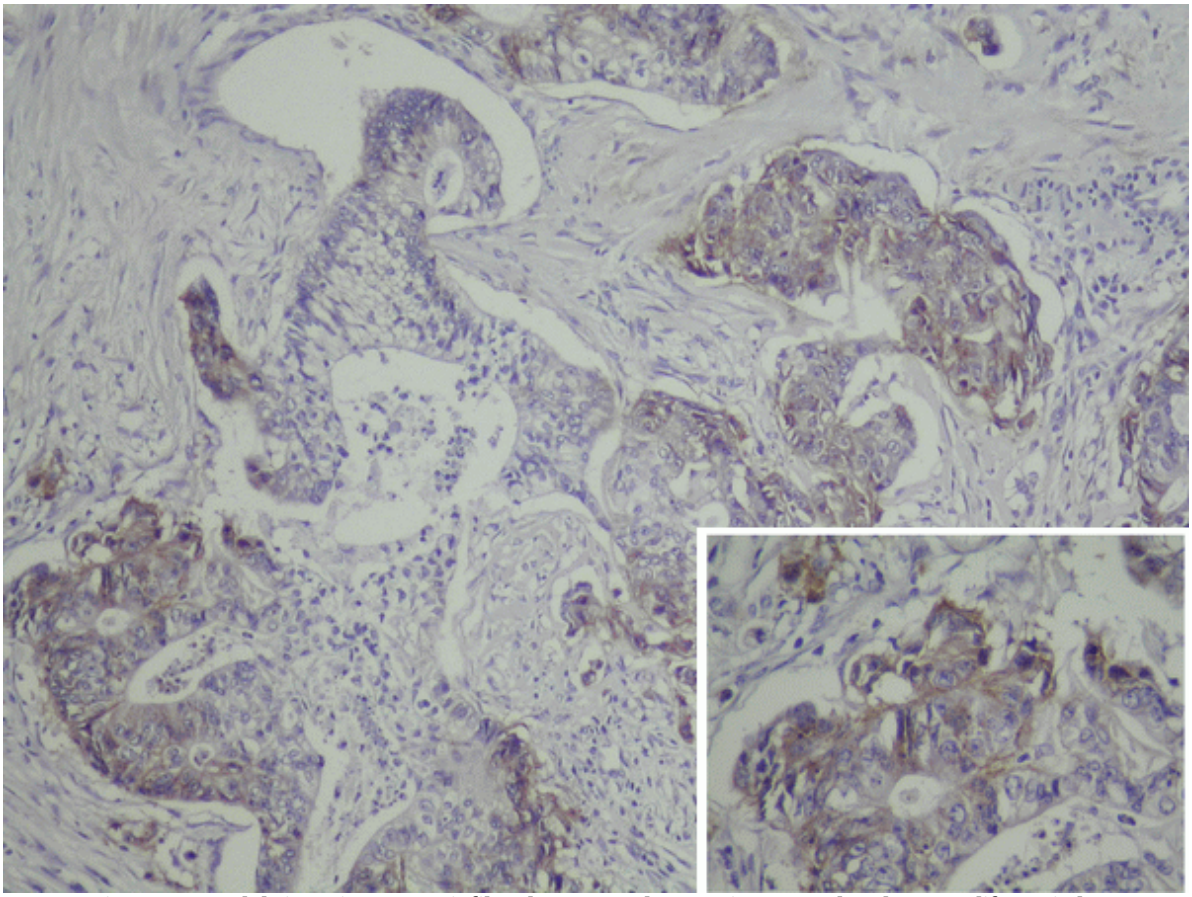


Figura 1. Pared de intestino grueso infiltrada por un adenocarcinoma moderadamente diferenciado. EGFR positivo en las células tumorales (EGFR-p). Recuadro: detalle

La expresión del EGFR en el tumor metastásico (EGFR-m) pudo estudiarse en 34 de los 50 casos. Era positivo en 20 casos (58.8%) y negativo en 14 (41.2%). Ver figura 2.

Relacionando conjuntamente esta expresión del EGFR-p (tumor primario) y EGFR-m (tumor metastásico) en los 31 casos válidos para el análisis, obtenemos los resultados que se expresan en la Tabla 5.

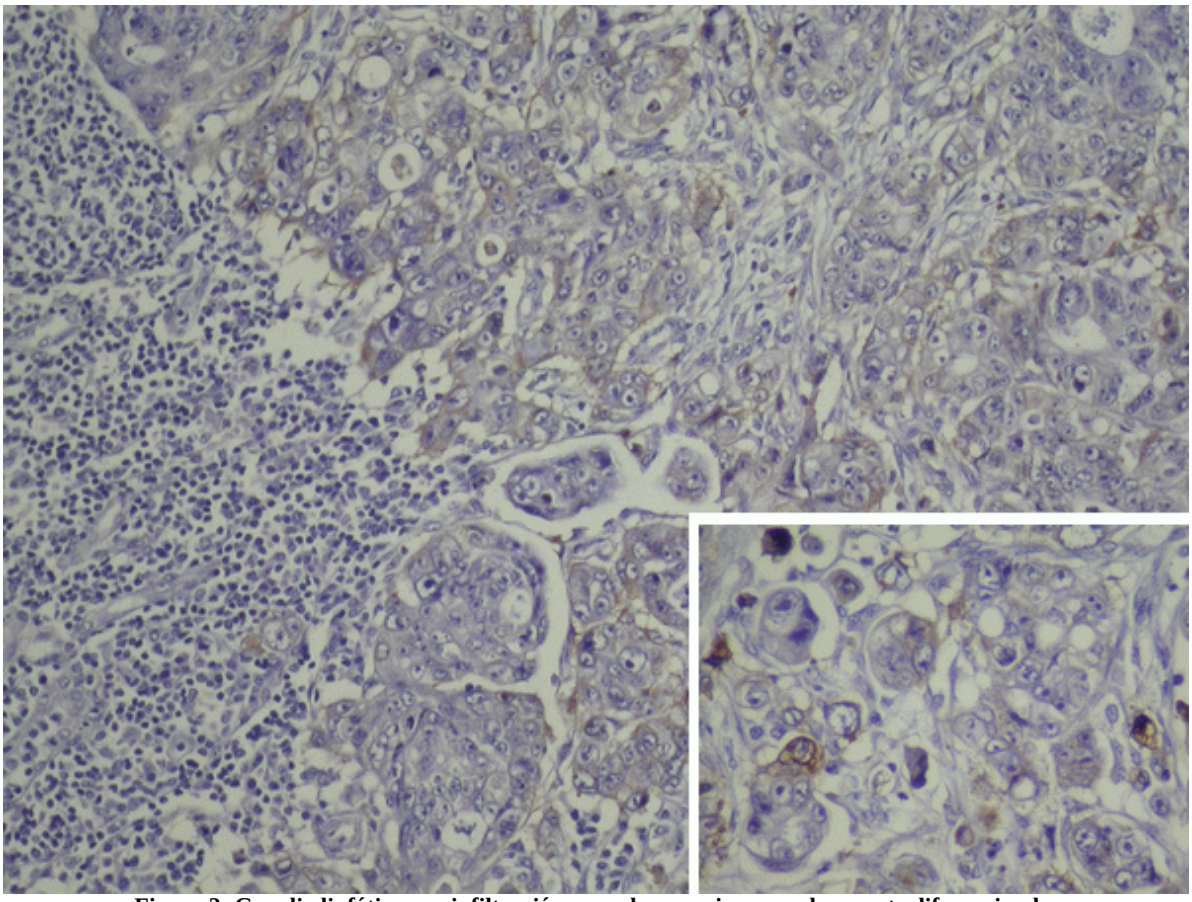


Figura 2: Ganglio linfático con infiltración por adenocarcinoma pobremente diferenciando, que expresa el Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR-m). Recuadro: detalle

La concordancia de expresión en el tumor primitivo y en la metástasis a distancia es del 58,1% de los casos estudiados. En el restante 41,9% de los casos hay disparidad en la expresión del EGFR en el tumor primitivo y en la metástasis.

En la serie analizada fue más frecuente la aparición de casos en que el EGFR se expresa en la metástasis (25.8% de los casos restantes) y no en el tumor primario, mientras que fueron minoría los casos de tumor primitivo con expresión del EGFR (EGFR-p positivo), que deja de ser expresado en el tumor metastásico (EGFR-m negativo). No obstante, en la tabla de contingencia de EGFR-p sobre EGFR-m, vemos que no hay diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2).

	EGFR-m		
EGFR-p	Negativo N (%)	Positivo N (%)	Total N (%)
Negativo N (%)	6 (19,4%)	8 (25,8%)	14 (45,2%)
Positivo N (%)	5 (16,1%)	12 (38,7%)	17 (54,8%)
Total N (%)	11 (35,5%)	20 (64,5%)	31 (100%)

Tabla 2. Tabla de contingencia de la expresión de EGFR en tumor primario y metástasis. (EGFR-p = tumor primario - EGFR-m = metástasis). p =0,581 (NS)

Al analizar la expresión del EGFR con respecto a la diferenciación tumoral, observamos que, en los 24 casos en que el EGFR-p era negativo, 20 correspondían a un adenocarcinoma moderadamente diferenciado, y solo en 4 pacientes era de tipo pobremente

diferenciado. Por el contrario, cuando el EGFR-p era positivo en el tumor primario, seguían siendo mayoría los casos de adenocarcinoma moderadamente diferenciado, pero la proporción es de 16 de 22 casos, mientras que los 6 restantes eran pobremente diferenciado. Si nos fijamos en la diferenciación, constatamos que cuando se trata de un tumor moderadamente diferenciado, es mas frecuente que el tumor no exprese el EGFR, mientras que es más frecuente que éste factor sea expresado cuando el adenocarcinoma es pobremente diferenciando. La prueba del $\chi 2$ demostró que estas diferencias eran estadísticamente significativas (p = 0.012). Ver Tabla 3.

	Diferenciación tumoral		
EGFR-p	moderada N (%)	pobre N (%)	Total N (%)
Negativo N (%)	20 (43.5%)	4 (8.7%)	24 (52,2%)
Positivo N (%)	16 (34.8%)	6 (13.0%)	22 (47,8%)
Total N (%)	36 (78.3%)	10 (21.7%)	46 (100%)

Tabla 3. EGFR en el tumor primario (EGFR-p) según el grado histológico diferenciación tumoral
p = 0.012

Una situación semejante ocurre en el tumor metastásico respecto del grado histológico de diferenciación, siendo asimismo estadísticamente significativa la asociación entre el EGFR en la metástasis y la desdiferencianción tumoral (Tabla 4).

	Diferenciación tumoral		
EGFR-m	moderada N (%)	pobre N (%)	Total N (%)
Negativo N (%)	12 (34.3%)	2 (5.7%)	14 (40.0%)
Positivo N (%)	15 (42.9%)	6 (17.1%)	22 (60.0%)
Total N (%)	27 (77.2%)	8 (22.8%)	35 (100%)

Tabla 4. EGFR en el tumor metastásico (EGFR-m) según el grado histológico de diferenciación tumoral
p = 0.002

En cuanto a la asociación de la expresión del EFGR y la atipia citológica, vemos que, respecto del tumor primario (EGFR-p) no es estadísticamente significativa la relación entre la atipia citológica y la presencia o ausencia de la expresión de EGFR (Tabla 5).

	Grado citológico tumoral		
EGFR-p	Moderada atipia N (%)	Intensa atipia N (%)	Total N (%)
Negativo N (%)	19 (41.3%)	5 (10.9%)	24 (52.2%)
Positivo N (%)	13 (28.3%)	9 (19.6%)	22 (47.8%)
Total N (%)	32 (69.6%)	14 (30.4%)	46 (100%)

Tabla 5. EGFR en el tumor primario según el grado de atipia citológica
p= 0.096 (NS)

Tampoco es estadísticamente significativa la relación entre grado de atipia citológica y la expresión del factor de crecimiento epidérmico en el tumor metastásico (EGFR-m), como se observa en la Tabla 6.

	Grado citológico tumoral		
EGFR-m	Moderada atipia N (%)	Intensa atipia N (%)	Total N (%)
Negativo N (%)	9 (25.7%)	5 (14.3%)	14 (40.0%)
Positivo N (%)	11 (31.4%)	10 (28.6%)	21 (60.0%)
Total N (%)	20 (57.1%)	15 (42.9%)	35 (100%)

Tabla 6. EGFR en metástasis (EGFR-m) según el grado de atipia citológica
p= 0,21 (NS)

Es decir, es mas frecuente que el EGFR sea positivo cuando se trata de un adenocarcinoma pobremente diferenciado. Por el contrario, un grado mas elevado de atipia citológica no esta asociado de forma estadísticamente significativa con la expresión del EGFR.

Al valorar el EGFR como factor pronóstico encontramos que la positividad o negatividad de dicho factor, en nuestra serie no guardó correlación con el intervalo de tiempo hasta la aparición de la diseminación metastásica, como se aprecia en la tabla 7, siendo la diferencia de medias de 107'51 días ± 203'4 (IC al 95% -302,4 - 517,4)

EGFR-p	N	Media ± DS (días)
Negativo	24	883.42 ± 719.552
Positivo	22	775.91 ± 660.005

Tabla 7. Intervalo de tiempo hasta la progresion del tumor, según la expresión del EGFR en el tumor primario
p = 0.73 (NS)

Tampoco la expresión del EGFR en la metástasis parece guardar relación con el intervalo de tiempo desde la resección del tumor inicial hasta la progresión de la enfermedad (tabla 8), siendo la diferencia de medias de 325,45 días ± 184,41 (IC al 95% -60,61 - 711,51).

EGFR-m	N	Media ± DS (días)
Negativo	14	829.07 ± 622.93
Positivo	21	503.62 ± 363.42

Tabla 8. Intervalo hasta la progresión según la expresión del EGFR en la metástasis
p = 0.117 (NS)

De ello, podemos inferir que en la casuística analizada, no encontramos relación pronóstica a la expresión del EGFR en el tumor primitivo ni en el metastásico.

Analizamos también si grado de diferenciación tumoral y el grado citológico es diferente cuando la expresión del EGFR ocurre tanto en el tumor primario como en el metastásico, con respecto a los casos en los que sólo el tumor metastásico demuestra expresión del factor de crecimiento epidérmico. Los datos obtenidos en nuestra serie no mostraron diferencias estadísticamente significativas, tanto por lo que respecta al grado de diferenciación tumoral como al de atipia citológica. Sin embargo, la muestra es demasiado pequeña para obtener conclusiones definitivas, pues solo había 20 casos válidos para el análisis y en dos grupos había 5 ó menos casos (Tabla 9).

	EGFR-m positivo		Total
Diferenciación tumoral	EGFR-p negativo	EGFR-p positivo	
Moderadamente diferenciado	7 (35.0%)	7 (35.0%)	14 (70.0%)
Pobremente diferenciado	1 (5.0%)	5 (25.0%)	6 (30.0%)
Total	8 (40.0%)	12 (60.0%)	20 (100%)

Tabla 9.Grado de diferenciación tumoral cuando la metástasis expresa el EGFR, según si lo expresa o nó el tumor primario p= 0,163 (NS)

Un resultado similar obtuvimos en esa comparación cuando era únicamente el tumor primario el que demostraba expresión del EGFR.

DISCUSIÓN

Diversos estudios tratan de identificar un perfil genético, detectable por métodos inmunohistoquímicos que pueda ser marcador de cáncer colorrectal, con especial atención a los aspectos pronósticos. La importancia de la detección consiste en que el paciente con carcinoma colorrectal metastásico resistente a la quimioterapia se puede beneficiar de tratamientos con anticuerpos monoclonales como el cetuximab dirigidos contra el EGFR[18], encontrando los diversos autores que la proporción de pacientes con cáncer colorrectal metastático, que expresan el EGFR mediante técnicas inmunohistoquímicas oscila entre el 53%[19] y el 83%[20-21].

En general, hay buena correlación entre la expresión del EGFR en el tumor primario y en la metástasis[22]. Utilizando técnicas de inmunohistoquímica la concordancia de EGFR-alcanza el 78% de los casos entre el tumor primario y el metastásico, sea cual sea el número de localizaciones y el intervalo transcurrido hasta la manifestación del tumor a distancia, es decir, ya sea sincrónico o metacrónico[20]. Por el contrario, otros estudios exponen la disparidad entre la expresión del EGFR en el tumor primario y en la metástasis[23].

El fenómeno biológico descrito, es decir, la ausencia de correlación entre la detección del EGFR en el tumor primario y en las metástasis puede estar relacionado con alteraciones genéticas aun no suficientemente exploradas, posiblemente relacionadas con la resistencia a las dianas terapéuticas contra el EGFR, lo cual es de importancia en el tratamiento de estos pacientes[23]. Otros autores han observado que las recurrencias después de la quimioterapia postoperatoria tienen menores niveles de expresión de EGFR en comparación con los pacientes que no recibieron quimioterapia antes del análisis de la metástasis, y han atribuido la discordancia precisamente a la quimioterapia antitumoral aun no siendo específica contra el EGFR[24].

Estudios recientes cuestionan la fiabilidad del método inmunohistoquímico para detectar el EGFR en tejidos incluidos en parafina. Comparando la validez de la técnica según los distintos preparados comerciales, se ha observado alta concordancia en las pruebas de evaluación de 3 test inmunohistoquímicos comerciales distintas por lo que no hay distinciones evidentes a favor de uno u otro[25]. Mediante procedimientos con test comerciales y técnicas que emplean microondas, han sido recuperados cómo casos EGFR positivos, cierto número de tumores anteriormente considerados negativos[26].

Diversos autores como Moroni et al[27], han propuesto utilizar técnicas de amplificación del DNA mediante hibridación in situ por fluorescencia (FISH), para la selección de pacientes con cáncer colorrectal susceptibles de tratamiento con bloqueadores del EGFR (cetuximab). Sin embargo los resultados no correlacionaron el nivel de amplificación con el resultado de la inmunohistoquímia. En los diferentes estudios, la amplificación fue rara (4,5%) y sólo aparece en pacientes con fuerte positividad en la técnica inmunohistoquímica convencional[28]. Italiano et al.[29], comparando ambos métodos analíticos, y relacionándolos con la tasa de respuesta al tratamiento con cetuximab, concluyen que el análisis de FISH no parece ser una técnica suficientemente sólida para la selección de los pacientes.

Spindler et al.[30] han comparado diferentes técnicas para la detección del EGFR en muestras de sangre y del tumor de pacientes con carcinoma colorrectal, mediante FISH, reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (RT-PCR), ELISA e inmunohistoquímia. Los resultados pusieron de manifiesto una pobre correlación entre la condición de EGFR en el ADN, detectado por PCR, ARN detectado por FISH y la proteína, detectado por Inmunohistoquímia.

El EGFR ha sido detectado en un 66% de las muestras de sangre periférica recogidas de los pacientes con cáncer colorrectal metastático[31].

Hay notables discrepancias acerca de la correlación entre la detección del EGFR en el tumor primario y metastásico. Italiano et al

[21] hallaron concordancia en el 94% de un total de 80 pacientes estudiados, de los que en dos casos la expresión del EGFR aparecía en el tumor primario pero no en la metástasis, y a la inversa en otros tres pacientes en los que había positividad para el EGFR en la metástasis pero no en el tumor primario, siendo concordantes los 75 pacientes restantes. La concordancia fue del 78% en dos distintas e independientes series de pacientes, estudiados por Bibeau et al[20] y por Spindler et al [30].

Por el contrario, Scarzzoti et al.[19] hallaron que el tumor primario era positivo en 53 de 99 pacientes (53%), pero en 19 de estos pacientes (36%), el tumor metastásico no expresaba el EGFR, mientras que el caso inverso, es decir, metástasis con expresión de EGFR que no fue detectada en el tumor primario ocurrió en 7 pacientes (15%). En nuestra serie el EFGR fue positivo en el tumor primario de 17 de 31 pacientes (54,8%) donde 5 de 31 (16.1%) pacientes expresaban el EGFR en el tumor primario pero no en la metástasis, y en otros 8 pacientes (25.8%), el EGFR se pudo demostrar en el tumor metastásico pero no en el primario, por lo que la concordancia de expresión en el tumor primitivo y en la metástasis a distancia es del 57.1%, lo que se acerca más a los resultados obtenidos por Scarzzoti et al[19].

CONCLUSIONES.

La expresión del Factor de Crecimiento Epidérmico en el cáncer colorrectal puede aparecer en el tumor primitivo, en la metástasis, o en ambos casos, pero no se puede predecir si la metástasis expresará o no ese factor a partir de su expresión en el tumor primario.

La expresión del Factor de Crecimiento Epidérmico no guarda relación con la atipia citológica del tumor considerada aisladamente respecto de la diferenciación tumoral.

La expresión del Factor de Crecimiento Epidérmico en el cáncer colorrectal es más frecuente cuanto más desdiferenciado está el tumor, y esa relación tiene significación estadística.

REFERENCIAS

1. Imclone: Investigator Brochure. Imclone Systems Incorporated. Cetuximab: Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Antibody, 20-May-2004,Version 10

2. Yarden Y, Ullrich A. Growth Factor Receptor Tyrosine Kinases. Ann Rev Biochem 1988; 57:443-78

3. Van de Vijver MJ, KumarR, MendelsohnJ.Ligand-induced Activation of A431. cell epidermal growth factor receptors occurs primarily by an autocrine pathway that acts upon receptors on the surface rather than intracellularly. J Biol Chem 1991; 266: 7503-8

4. Modjtahedi H, Affleck K, Stubberfield C, Dean C. EGFR blockade by tyrosine kinase inhibitor or monoclonal antibody inhibits growth, directs terminal differentiation and induces apoptosis in the human squamous cell carcinoma HN5. Int J Oncol. 1998;13:335-342.

5. Baselga J, Norton L, Masui H, Pandiella A, Coplan K, Miller Jr WH, Mendelsohn J. Antitumor Effects of Doxorubicin in Combination With Anti-epiderma1 Growth Factor Receptor Monoclona1 Antibodies. J Nat Canc Inst 1993; 85: 1327-33

6. Al-Kasspooles M, Moore JH, Orringer MB et al. Amp1ification and over-expression of the EGFR and erbB2 genes in human esophageal adenocarcinomas. Int J Cancer1993; 54: 213-9

7. Grandis JR, Tweardy DJ. Elevated levels of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor messenger RNA are early markers of carcinogenesis in head and neck cancer. Cancer Res 1993; 3: 3579-84

8. Chou JL, Fan Z, DeBlasio T, et al. Constitutive overexpression of cyclin D1 in human breast epithelial cells does not prevent G1 arrest induced by deprivation of epidermal growth factor. Breast Cancer Res Treat 1999;.55: 267-83

9. Fan Z, Shang BY, Lu Y, et al. Reciprocal changes in p27(Kip1) and p21(Cip 1) in growth inhibition mediated by blockade or overstimulation of epidermal growth factor receptors. Clin Cancer Res 1997; 3: 1943-8

10.- Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. J Biol Chem 1990;265:7709-7712.

11.- Goldstein NI, Prewett M, Zuklys K, et al. Biological efficacy of a chimeric antibody to the epidermal growth factor receptor in a humar tumor xenograft model. Clin Cancer Res 1995;1:1311-1318.

12. Ciardiello F, Tortora G. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: Understanding the

role of receptor expression and other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs. Eur J Cancer 2003;39:1348-1354.

13.- Kluftinger AM, Robinson BW, Quenville NF, et al. Correlation of epidermal growth factor receptor and c-erB2 oncogene product to known prognostic indicators of colorrectal cancer. Surg Oncol 1992;1:97-105.

14.- Mayer A. Takimoto M, Fritz E, et al. The prongnostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdr gene expression in colorectar cancer. Cancer 1993;71:2454-2460.

15.- Ellis LM, Hoff PM. Targeting the epidermal growth factor receptor: An important incremental step in the battle against colorrectal cancer. J Clin Oncol 2004;22:1177-1179.

16.- Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorrectal cancer. N Engl J Med 2004;351:337-345.

17.- Lenz HJ, Mayer RJ, Gold PJ, et al. Activity of cetuximab in patients with colorrectal cancer refractory to both irinotecan and oxiplatin. Proc Am Soc Clin Oncol 2004;23:248 (abstr 3510).

18.-Lyall MS, Dundas SR, Curran S, Murray GI. Profiling markers of prognosis in colorrectal cancer. Clin Cancer Res. 2006 Feb 15;12:1184-91

19.-Scartozzi M, Bearzi I, Berardi R, et al: Epidermal growth factor receptor EGFR status in primary colorrectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: Implications for treatment with EGFR-targeted monoclonal antibodies. J Clin Oncol 2004; 22:4772-4778

20.-Bibeau F, Boissière-Michot F, Sabourin JC, Gourgou-Bourgade S, Radal M, Penault-Llorca F, Rochaix P, Arnould L, Bralet MP, Azria D, Ychou M. Assessment of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in primary colorrectal carcinomas and their related metastases on tissue sections and tissue microarray. Virchows Arch. 2006;449:281-287.

21.-Italiano A, Follana P, Caroli FX, Badetti JL, Benchimol D, Garnier G, Gugenheim J, Haudebourg J, Keslair F, Lesbats G, Lledo G, Roussel JF, Pedeutour F, François E. Cetuximab shows activity in colorrectal cancer patients with tumors for which FISH analysis does not detect an increase in EGFR gene copy number. Ann Surg Oncol. 2008;15:649-54.

22.-Bralet MP, Paule B, Falissard B, Adam R, Guettier C. Immunohistochemical variability of epidermal growth factor receptor (EGFR) in liver metastases from colonic carcinomas. Histopathology. 2007;50:210-216

23.-Bralet MP, Paule B, Adam R, Guettier C. Loss of epidermal growth factor receptor expression in lymph node and liver metastases of colon carcinoma. J Clin Oncol. 2005;23:5844-5845

24.-Khalifa MA, Rowsell CH, Gladdy R, Ko YJ, Hanna S, Smith A, Law C. Is EGFR expression altered following postoperative chemotherapy for colorrectal adenocarcinoma?. World J Surg Oncol. 2006;4: 92

25.-Penault-Llorca F, Cayre A, Arnould L, Bibeau F, Bralet MP, Rochaix P, Savary J, Sabourin JC. Is there an immunohistochemical technique definitively valid in epidermal growth factor receptor assessment?. Oncol Rep. 2006;16:1173-1179

26.-Derecskei K, Moldvay J, Bogos K, Tímár J. Protocol modifications influence the result of EGF receptor immunodetection by EGFR pharmDx in paraffin-embedded cancer tissues. Pathol Oncol Res. 2006;12:243-246.

27.-Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, Marrapese G, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Gambacorta M, Siena S and Bardelli A: Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to anti-EGFR treatment in colorrectal cancer: a cohort study. Lancet Oncol 2005; 6: 279-286.

28.-Ooi A, Takehana T, Li X, Suzuki S, Kunitomo K, Iino H, Fujii H, Takeda Y and Dobashi Y: Protein overexpression and gene amplification of HER-2 and EGFR in colorrectal cancers: an immunohistochemical and fluorescent in situ hybridization study. Mod Pathol. 2004; 17: 895-904.

29.-Italiano A, Saint-Paul MC, Caroli-Bosc FX, François E, Bourgeon A, Benchimol D, Gugenheim J, Michiels JF. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorrectal tumors correlates with EGFR expression in related metastatic sites: biological and clinical implications. Ann Oncol. 2005;16:1503-1507.

30.-Spindler KL, Lindebjerg J, Nielsen JN, Olsen DA, Bisgård C, Brandslund I, Jakobsen A. Epidermal growth factor receptor analyses in colorrectal cancer: a comparison of methods. Int J Oncol. 2006;29:1159-1165.

31.-Zieglschmid V, Hollmann C, Mannel J, Albert W, Jaeschke-Melli S, Eckstein B, Hillemann T, Greten TF, Gross E, Böcher O. Tumor-associated gene expression in disseminated tumor cells correlates with disease progression and tumor stage in colorrectal cancer. Anticancer Res. 2007;27(4A):1823-1832

AGRADECIMIENTO: Proyecto Subvencionado por la Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y Léon SAN/1052/BU01/05

Dirección para la correspondencia:
Dra. María Jesús Coma del Corral
Unidad de Investigación. Hospital General Yagüe. 09005 Burgos
mjcoma @ uninet.edu

Comentario del revisor Prof. Francisco Abad Santos MD PhD. Profesor de Farmacología Clínica. Universidad Autónoma de Madrid. España

La farmacogenética y la farmacogenómica están consiguiendo importantes avances en la medicina moderna: por un lado permiten la individualización del tratamiento (administrar a cada paciente desde el primer momento el fármaco más eficaz y con menos efectos adversos) y por otro buscan nuevas dianas terapéuticas para desarrollar fármacos más eficaces y seguros. En ambos casos se requiere la búsqueda de marcadores que desempeñen un papel fundamental en la etiopatogenia de la enfermedad. El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es un biomarcador importante en muchos procesos tumorales, que ha dado lugar al desarrollo de nuevos fármacos antineoplásicos.

En este estudio se evalúa la expresión del EGFR en tumores primarios y metástasis de 50 pacientes con cáncer colorrectal avanzado, y su relación con el tipo de lesión histológica y la progresión de la enfermedad.

Comentario del revisor Prof. Valentín del Villar Sordo MD PhD.Catedrático de Medicina. Jefe del Servicio de Medicina Interna del Complejo Hospitalario de Soria. España

Varias neoplasias epiteliales se desarrollan por activación funcional de los factores de crecimiento de la familia EGFR, por lo que han surgido nuevas dianas de tratamiento mediante la administración de inhibidores de los EGFR, posiblemente de una manera selectiva, a pacientes con potenciales marcadores moleculares definidos de respuesta.

¿La expresión EGFR en el tumor primario lleva implícita su presencia en las metástasis y se relaciona con la diferenciación tumoral y atipia citológica en los adenocarcinomas colorrectales?. Los autores, con una metodología adecuada, estudian retrospectivamente los bloques de tejido de 50 enfermos con adenocarcinoma de colon con progresión de la enfermedad. Los resultados están descritos y representados con claridad y se sugiere en la discusión que se trata de un área de estudio no bien conocida y con resultados dispares, quedando cuestionados los medios de detección de EGFR. Creo que se trata de un estudio juiciosamente planteado y llevado a cabo con rigor. Todo hace pensar que es necesario seguir investigando en este campo, incluso las conclusiones fundamentales: los EGFR se pueden expresar en el tumor primario o/y las metástasis, pero lo primero no significa su expresión en los nódulos diseminados, siendo significativo que los EGFR son más positivos cuanto más desdiferenciación hay.

Recibido: 28 de enero de 2008. Recibido revisado 24 de marzo de 2008
Publicado: 29 de marzo de 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio Home

Indice del volumen Volume index

Comité Editorial Editorial Board

Comité Científico Scientific Committee

Normas para los autores Instruction to Authors

Derechos de autor Copyright

Contacto/Contact:

RESECCIÓN DEL EXTREMO PROXIMAL DEL PERONÉ (TÉCNICA DE MALAWER). A PROPÓSITO DE UN CASO

Alfredo Martín Acosta Inguanzo, Lázaro González Robaina, Rafael Echevarria Castillo, Manuel González Reina.

Ortopedia y Traumatología. HMC "Dr. Carlos J. Finlay", Ciudad de la Habana. Cuba.

alfredoacos @ infomed.sld.cu

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:54-60

RESUMEN

Hace tres décadas, los osteosarcomas eran tratados con amputación de la extremidad, y la supervivencia era pobre. Con el desarrollo de la quimioterapia, los nuevos protocolos de tratamiento, el avance de las técnicas quirúrgicas, y las mejoras de los estudios radiológicos; han permitido la resección tumoral con conservación del miembro y una mayor supervivencia de pacientes con enfermedad localizada.

La resección tumoral del peroné proximal, ha representado un reto para el cirujano ortopédico, dado por la proximidad de dos estructuras mayores, el nervio peroneo y la arteria tibial anterior. Malawer describió una técnica para los tumores malignos con esta localización, la cual fue aplicada en un paciente.

PALABRAS CLAVE:Osteosarcoma. Peroné, Malawer.

SUMMARY

Three decades ago, the osteosarcomas were treated with amputation of the extremity, and the survival was poor. With the development of the chemotherapy, the new treatment protocols, the advance of the surgical techniques, and the improvements of the radiological studies; they have allowed the tumor resection with conservation of the member and a bigger survival of patient with located illness.

The tumor resection of the fibula proximal, it has represented a challenge for the orthopedic surgeon, given by the vicinity of two biggest structures, the common peroneal nerve and the anterior tibial vessels. Malawer described a technique for malignant tumors with this localization, which was applied in a patient.

KEY WORDS: Osteosarcoma. Fibula. Malawer.

INTRODUCCION

Los sarcomas óseos son tumores raros, de alto grado de malignidad, y de origen mesenquimatoso. En los Estados Unidos se diagnostican aproximadamente 2500 casos cada año[1]. El sarcoma osteogénico es el más común de los sarcomas óseos, y es el tercer tumor maligno en niños y adolescentes. Las localizaciones más frecuente son la metáfisis del fémur distal, tibia proximal y húmero proximal, aunque puede desarrollarse en cualquier hueso del organismo[2].

Uno de los avances relativamente recientes de la cirugía oncológica actual, lo constituyen las nuevas operaciones de salvamento de miembros, también llamada "cirugía no amputativa", indicada fundamentalmente en los sarcomas óseos y de las partes blandas de las extremidades. No obstante, se trata de técnicas que hay que meditar e indicar con precisión ya que, a la enorme ventaja que supone evitar la amputación conservando el miembro y proporcionar al enfermo una mejor calidad de vida, se asocia el inconveniente posible de hacer una cirugía insuficiente; en algunos casos con alto riesgo de recidiva local y mala evolución[3]. Presentamos un caso representativo del tema.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Paciente mestizo de 19 años de edad, que comienza a presentar dolor en la pierna izquierda que se le irradiaba distalmente, se le diagnostica una tendinitis y fue inmovilizado por 2 semanas; y a pesar de lo cual mantuvo igual sintomatología.

Acude a nosotros refiriendo dolor en cara anterolateral del tercio proximal de la pierna izquierda, donde se constata aumento de volumen, doloroso a la palpación y con aumento de la temperatura local. Se le indican radiografías y TAC.

Figura 1: Radiografía simple AP y lateral.
Existe imagen osteolítica a nivel del cuello del peroné que rompe la cortical

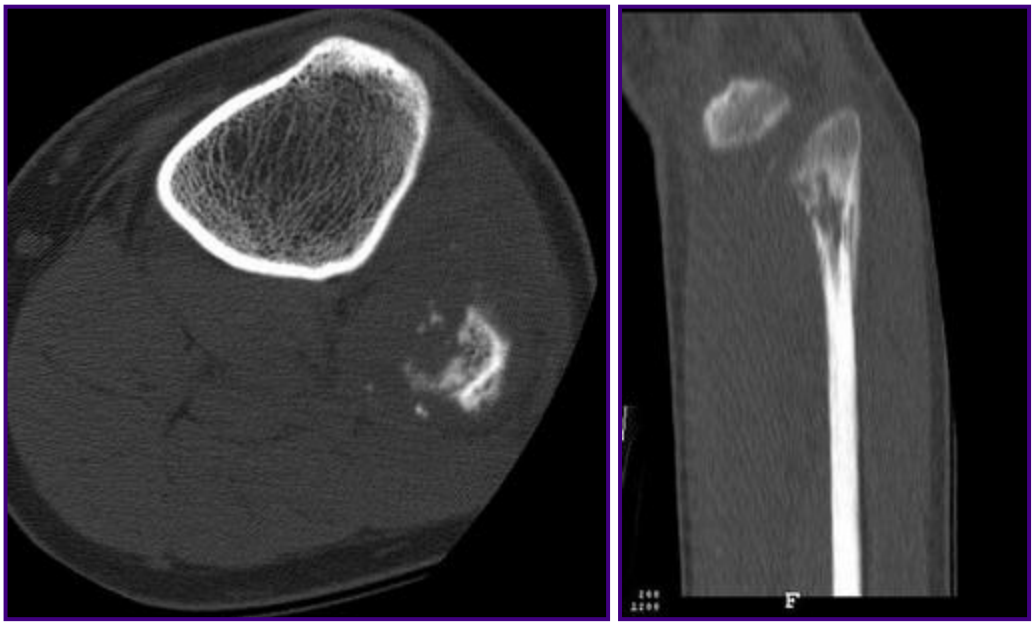


Figura 2 y 3: Tomografía axial computarizada. Se constata osteolisis a nivel de la metáfisis del peroné proximal, que rompe la cortical e infiltra partes blandas.

Con el diagnóstico de una tumoración maligna se discute el caso en el INOR (Instituto Nacional de Oncología y Radioterapia), el cual constituye el centro de referencia en nuestro país para estos casos; ahí se corrobora el diagnóstico de tumor maligno, pudiendo tratarse de un tumor de Ewing, un osteosarcoma, o de un condrosarcoma.

Debido a que las biopsias óseas demoran por la necesidad de descalcificar la muestra (1 a 2 semanas), que la tumoración no había invadido otros compartimentos; y que además, no existían signos clínico-humorales ni imagenológicos de invasión sistémica; se decide su intervención mediante una resección amplia con margen oncológico mediante la técnica de Malawer tipo II y quimioterapia coadyuvante luego de la identificación histológica.

No nos decidimos por la amputación, ya que no existía diagnóstico histológico previo y por las razones antes expuestas; siendo más factible una biopsia excerética a una incisionar.

Técnica de Malawer tipo II

- **Coloque al paciente semisupino y envuelva la extremidad y prepare el campo hasta la cadera, por si se encuentra inapropiado el proceder no tener que revestir. Emplee un torniquete en el muslo. Haga una incisión posterior y 8 cm. proximal al pliegue poplíteo, e incúrvela suavemente anterior al peroné y 5 cm. distal a la zona planeada de la osteotomía.**

- **Levante un colgajo lateral grande posteriormente basado en la línea media, y un colgajo medial pequeño para exponer la cresta tibial; y exponga y divida el nervio peroneo común y sus ramas, estas serán distalmente sacrificadas cuando los músculos del compartimiento anterior y lateral son resecados.**

- **Localice los vasos poplíteos y su trifurcación disecando el gastronemio lateral y el sóleo próximo al peroné, de ser necesario el origen del gastronemio lateral en el fémur será liberado también. Identifique y divida los vasos tibial anterior 2 a 3 cm. distal al borde inferior del músculo poplíteo, aplique tracción a la arteria poplítea alejando los vasos de la cara posterior de la masa tumoral.**

- **Escinda los músculos del compartimento anterior y peroneo proximalmente de sus orígenes, y distalmente hasta la unión musculotendinosa, libere la membrana interósea. Divida el ligamento colateral fibular y el tendón del bíceps femoral 2,5 cm. proximal de su inserción peronea. Luego, reseque la articulación tibioperonea proximal y escinda posteriormente el músculo poplíteo.**

- **Repare cualquier defecto resultante de la cápsula posterior, reinserte el tendón del bíceps femoral y el ligamento colateral fibular al cóndilo lateral de la tibia; rote anteriormente el gastronemio lateral, liberándolo de la línea media posterior hasta su unión con el sóleo, lo cual permitirá la cobertura de los vasos tibial posterior y la superficie denudada de la tibia. Los vasos sural lateral proveen aporte vascular al gastronemio lateral por lo que deben ser preservados. Use un drenaje de succión por 3 a 5 días.**

- **Postoperatorio: coloque una férula posterior tipo calza con la rodilla en 30 grados de flexión para permitir la reinserción capsular posterior. Se continuará la inmovilización por 2 a 4 semanas, permitiéndose la marcha con carga progresiva de peso mediante el empleo de muletas. Una ortesis para el pie y tobillo será requerida.**

El diagnóstico histopatológico fue de osteosarcoma osteogénico de alto grado de malignidad. Clasificación grado IIa de Enneking.

El postoperatorio se complicó con un hematoma de la herida quirúrgica. En la radiología se constataron las imágenes de la resección del peroné proximal (Figura 4).

Figura 4: Se observa la resección del peroné proximal.

Figura 5 y 6: apariencia del miembro y la cicatriz quirúrgica.

Evolución: en el curso evolutivo, el paciente desarrolló un pie equino paralítico y dedos en garra (Figura 7).

Figura 7: Dedos en garra y pie equino paralítico.

El paciente presentó una respuesta inadecuada a la quimioterapia la cual fue irregular, ya que se efectuó de forma ambulatoria, y las reacciones adversas fueron severas.

A los 18 meses se constata recidiva local en partes blandas de la cara anterior de la tibia las cuales no interesaba hueso, que fueron resecadas. Se realizaron estudios nuevamente donde se constató 3 imágenes nodulares metastásicas en pulmones, 2 en el derecho y una en el izquierdo. Se decidió su ingreso y aplicar quimioterapia nuevamente con otro protocolo. Al término, se estudió nuevamente desapareciendo las metástasis.

Seis meses más tarde se constata tumoración pulmonar en hemotórax izquierdo de 9 centímetros con otras imágenes nodulares, acompañada de derrame pleural falleciendo finalmente por enfermedad diseminada. El tiempo de evolución fué en total de dos años y medio.

DISCUSIÓN:

La cirugía no amputativa o de salvamento de miembros por sarcomas óseos de las extremidades es una realidad desde hace varios años[3-8] con resultados oncológicos muy aceptables. Hoy en día, con las nuevas técnicas de reconstrucción podemos conseguir una buena función del miembro no amputado.

El peroné es una localización rara para sarcomas óseos primarios como para lesiones metastásicas. De los tumores óseos localizados en el extremo proximal del peroné, el tumor de células gigantes es el más frecuente, seguido por el osteosarcoma y el sarcoma de Ewing [7-8].

Las biopsias realizadas en forma inadecuada, muchas veces son responsables de tratamiento inadecuado o cambios en el plan de tratamiento[10]. En 1982, Mankin y colaboradores[10] reportaron las complicaciones de biopsias de sarcomas músculos esqueléticos.

Cuando las biopsias se realizan en centros que no cuentan con profesionales especializados en oncología ortopédica, estos problemas son de tres a cinco veces más comunes que en biopsias realizadas en centros especializados o de referencia. Entre estos problemas se señala: la obtención de tejido inadecuado o no representativo[10] (10.3%); errores de diagnóstico[10] (18.2%) derivados de material no representativo o técnicas pobres; y complicaciones de la herida[10] (17.3%), tales como: contaminación de partes blandas por hematoma; infección de la cicatriz de biopsia y realización de la incisión de la biopsia de tal forma que la resección quirúrgica subsiguiente puede comprometerse, pasando a ser obligatoria la amputación, en un paciente que anteriormente podría habérsele ofrecido una cirugía conservadora de su extremidad (4.5%).

Raramente se realiza una resección primaria de un tumor sin biopsia11, sólo cuando se trata de lesiones que afectan huesos no imprescindibles, como son el extremo proximal del peroné y el distal del cúbito. Numerosos estudios[12-13], se han realizado con el objetivo de comparar la supervivencia, y la calidad de vida de los pacientes tratados con tumoraciones a nivel de la articulación de la rodilla, ya sea mediante una resección amplia y reconstrucción mediante artrodesis o artroplastia, o una amputación supracondílea o transfemoral, no encontrando evidencias de superioridad de uno sobre otro. Por tal motivo plantean que debe ser el paciente quien tome la decisión de la técnica a escoger en vistas a la supervivencia y calidad de vida[11].

Por todo esto se decidió realizar una exéresis amplia de la tumoración con márgenes oncológicos ya que no se justificaba una amputación. Además durante la intervención se realizó biopsia por congelación, la cual confirmó la malignidad de la tumoración; y evitó una resección exagerada si fuese una lesión benigna.

La resección de sarcomas primarios de alto grado del extremo proximal del peroné, requiere de una resección en bloque extraarticular del peroné proximal, articulación tibioperonea proximal, músculos del grupo anterior y lateral del peroné, y del nervio peroneo común, el cual frecuentemente está infiltrado por la extensión tumoral hacia las partes blandas. Este tipo de resección se le conoce como técnica de Malawer tipo II[8, 11], ya que requiere el sacrificio del nervio peroneo común, resultando en un pie equino; mientras que en el tipo I este se conserva conjuntamente con la musculatura.

En nuestro caso practicamos una resección tipo II la cual conlleva el sacrificio del nervio peroneo para garantizar un margen tumoral amplio, y que como consecuencia produjo un pie varoequino iatrogénico y dedos en garra (figuras 7 y 8). Al momento de resección se constató la presencia de fractura patológica, lo cual ensombrece el pronóstico. Ya que las fracturas patológicas favorecen en gran manera la diseminación local del tumor a través del tejido peritumoral y alrededor del hueso, de los planos intermusculares e interfasciales y de los espacios perivasculares y perineurales[3].

Se contraindica este proceder en[3]:

- **1. Tumores con destrucción masiva del hueso o invasión importante de los tejidos blandos peritumorales (extracompartimental).**
- **2. Sarcomas óseos de alto grado o indiferenciados, salvo el osteosarcoma, que responde a la quimioterapia coadyuvante.**
- **3. Fractura patológica.**

- **4. Presencia de metástasis distales, salvo las que puedan ser resecadas posteriormente.**

Consideramos que la aparición posterior de recidivas locales y a distancia, empeora el pronóstico ya que según la clasificación Enneking[14] de un grado IIA pasó a ser un grado III, encontrando como dificultades en el manejo la no aplicación de un esquema de quimioterapia preoperatorio, el fallo en la quimioterapia postoperatoria, la cual es fundamental para eliminar las metástasis locales o a distancia (skip metástasis), las cuales muchas veces están presentes desde el momento del diagnóstico de la lesión[8].

Posteriormente con el segundo protocolo de tratamiento quimioterapéutico se consiguió la desaparición de las metástasis pulmonares, lo cual representó una respuesta favorable; pero desafortunadamente hubo una recidiva posterior con gran infiltración del parénquima pulmonar. Consideramos que la cirugía no amputativa es un tratamiento a elegir cuando se cuenta con una quimioterapia adecuada[15-16], y se realiza una selección adecuada de los casos; requiriendo por tanto un enfoque multidisciplinario[8].

En conclusión, el tratamiento del osteosarcoma requiere un enfoque multidisciplinario, con el concurso del cirujano ortopedista, el oncólogo, el radiólogo y el patólogo.

El avance de los protocolos de quimioterapia adyuvante, las nuevas técnicas quirúrgicas, y las mejoras de los estudios radiológico permite tratar actualmente al 90-95% de los pacientes con osteosarcoma mediante cirugía conservadora del miembro.

La cura y la supervivencia se ha incrementado en un 60-80% en pacientes con enfermedad localizada.

Pero hay que tener siempre en cuenta que, el primer objetivo debe ser la supervivencia o la cura y en segundo lugar la conservación de la función del miembro, si es imposible una adecuada resección, la indicación es la amputación del miembro.

REFERENCIAS

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. CA Cancer J Clin 1999; 49(1):1, 8-31.

2. Marcove RC, Mike V, Hajack JV, Levin AG, Hutter RV. Osteogenic sarcoma under the age of twenty-one. A review of one hundred and forty-five operative cases. J Bone Joint Surg [Am] 1970; 52:411-23.

3. Trill JD, Goyanes AD. Amputar o no amputar, ésa es la cuestión. Cir Esp 2003; 73(5):314-7.

4. Simon MA, Aschliman MA, Thomas N, Mankin HJ. Limb-salvage treatment versus amputation for osteosarcoma of the distal end of the femur. J Bone Joint Surg [Am] 1986; 68:1331-7.

5. Rougraff BT, Simon MA, Kneisl JS, Greenberg DB, Mankin HJ. Limb salvage compared with amputation for osteosarcoma of the distal end of the femur. A long-term oncological, functional, and quality-of-life study. J Bone Joint Surg [Am] 1994; 76:649-56.

6. Malawer MM, Chou LB. Prosthetic survival and clinical results with use of large-segment replacements in the treatment of high-grade bone sarcomas. J Bone Joint Surg [Am] 1995; 77:1154-65.

7. Malawer MM. Surgical management of aggressive and malignant tumors of the proximal fibula. Clin Orthop. 1984; 186:172-81.

8. Erler K, Demiralp B, Ozdemir MT, Basbozkurt M. Treatment of proximal fibular tumors with en bloc resection. The Knee Dec. 2004; 11(6): 489-496.

9. James CW, Jacob B, et all. Osteosarcoma: A Multidisciplinary Approach to Diagnosis and Treatment. American Family Physician J. 2002; 65(6). Disponible en: URL: http://www.aafp.org/afp/20020315/contents.html

10. Mankin HJ, Lange TA, Sapnnier SS: The hazards of biopsy in patients with malignant primary bone and soft-tissue tumors, J Bone Joint Surg 64A:1121, 1982.

11. Robert K. Heck, Jr. Peter G. Carnesale: General Principles of Tumors. In Campbell´s Operative Orthopaedics. 10th Ed, Cap. 19. 2003.

12. Otis JC, Lane JM, Kroll MA: Energy cost during gait in osteosarcoma patients after resection and knee replacement

and after above-the-knee amputation, J Bone Joint Surg 67A:606, 1985.

13. Harris IE, Leff AR, Gitelis S, Simon MA: Function after amputation, arthrodesis, or arthroplasty for tumors about the knee, J Bone Joint Surg 72A:1477, 1990.

14. Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA. A system for the surgical staging of musculoskeletal sarcoma. Clin Orthop 1980; 153:106-20.

15. Link MP, Goorin AM, Miser AW, Green AA, Pratt CB, Belasco JB, et al. The effect of adjuvant chemotherapy on relapse-free survival in patients with osteosarcoma of the extremity. N Engl J Med 1986; 214:1600-6.

16. Wevar O. Lesiones Tumorales y Pseudotumorales del Sistema Musculoesquelético (III) Osteosarcoma. Curso en línea. 2003. Disponible en: URL: http://www.medwave.cl/cursos/Tumores/Octubre2003/5.act.

Correspondencia: Cortina 504 ½ apto 8. 10 de Octubre.
Ciudad Habana.
Cuba. CP 10500
alfredoacos @ infomed.sld.cu

Recibido: 23 de Abril 2007. Recibido revisado 27 de Febrero de 2008
Publicado: 3 de Marzo de 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

FISIOPATOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA RENAL AGUDA. NUEVAS CLAVES PARA UN VIEJO DILEMA

Carlos G. Musso[1] Juliana Reynaldi[2], Juan F. Macías Núñez[2]

[1]Servicio de Nefrología. Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina

[2]Servicio de Nefrología. Hospital Universitario de Salamanca. España.

carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:61-66

English version

Comentario del revisor Abdías Hurtado Arístegui. MD, DM. Hospital Arzobispo Loayza. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Peru.

Comentario del revisor Secundino Cigarrán Guldrís, MD. Servicio de Nefrología - Complexo Hospitalario Universitario de Vigo. Pontevedra. España

---

RESUMEN

Insuficiencia renal aguda (IRA) es el término con el cual se designa a la reducción abrupta y sostenida del filtrado glomerular, de la cual resulta la retención de productos de desecho del metabolismo corporal. Clásicamente se dividen los mecanismos de la IRA en pre-renal, parenquimatoso, y obstructivo.

En el caso de la IRA parenquimatosa, ésta pareciera ser el resultado de la sumatoria de las múltiples variables: necrosis y apoptosis tubular, alteración de la barrera de filtración, retrodifusión del filtrado glomerular, vasoconstricción intra-renal, contracción del mesangio, obstrucción intratubular, inflamación intersticial, activación de enzimas proteolíticas, entre otros.

Por este motivo se postula que sólo una mirada de perspectiva multicausal de este síndrome pareciera ser la estrategia adecuada para conseguir su entendimiento cabal y tendiente a la resolución del mismo.

PALABRAS CLAVE: Insuficiencia renal aguda, filtrado glomerular

---

SUMMARY

Acute renal failure (ARF) is the term used to describe the sustained and abrupt reduction of the glomerular filtration, which causes the retention of waste products that come from the metabolism.

Normally, the mechanisms potentially involved in ARF are divided into: pre-renal, parenchymatous, and post-renal. Regarding the etiology of the parenchymatous ARF, it would seem to be the sum of multiple pathogenic variables such as: tubular necrosis and apoptosis, alteration of the filtration barrier, retrodifusion of glomerular filtration, intrarenal vasoconstriction, contraction of the mesangium, intratubular obstruction, intersticial swelling, activation of proteolytic enzymes, and so on.

Because of the above exposed data, only a multicausal perspective would seem to be adequate to understand and solve this syndrome.

KEY WORDS: Acute renal failure, glomerular filtration

INTRODUCCIÓN

Insuficiencia renal aguda (IRA) es el término con el cual se designa a la reducción abrupta y sostenida del filtrado glomerular, de la cual resulta la retención de productos de desecho del metabolismo corporal[1-3].

Si bien no existe hasta la fecha una definición universal para este sindrome, resulta razonable tomar como parámetro para su detección el documentar un incremento agudo y sostenido de 0.5 mg/dl en la creatinemia basal, de ser ésta inferior a 2,5 mg/dl, ó de un aumento de la misma mayor del 20%, de ser su valor basal mayor de 2,5 mg/dl[1,2,4-].

Clásicamente se dividen los mecanismos potencialmente involucrados en la aparición de una IRA en:

1. **Caída del flujo renal con preservación de la integridad del parénquima (IRA pre-renal)[5-9].**

2. **Daño agudo parenquimatoso renal (IRA intrínseca)[10-14].**

3. **Obstrucción al flujo urinario (IRA post-renal)[15-16].**

4. **Mixto[15,17-18].**

Con respecto a la etiología de la IRA parenquimatosa, después de más de medio siglo de investigaciones no se ha encontrado aun un mecanismo fisiopatológico central, el cual pareciera ser en realidad la sumatoria de las múltiples variables patogénicas que en él se despliegan. A continuación describiremos cada una de estas variables cuyo conocimiento deriva de modelos experimentales (basados en el uso de noxas isquémicas o tóxicas) efectuados principalmente en roedores:

a) Necrosis tubular: cualquiera de las noxas renales puede conducir a la muerte de las células tubulares por daño de al menos uno de sus elementos constitutivos: membrana celular, lisosomas, etc dando lugar al fenómeno conocido como *necrosis tubular aguda* (NTA). No obstante, el número de células necrosadas no alcanza a justificar per se la disfunción renal propia de este sindrome[10-14].

b) Apoptosis tubular: Recientemente algunos autores han remarcado la importancia que tendrían en la fisiopatología de la IRA no sólo la inducción por parte de las noxas de necrosis tubular, sino además el fenómeno de activar prematuramente el mecanismo habitual de muerte celular programada o apoptosis, sumándose así el concepto de *apoptosis celular aguda* al ya clásico de NTA[15].

c) Alteración de la barrera de filtración: Se ha documentado a nivel de los poros endoteliales del ovillo glomerular una reducción en la longitud y densidad de los mismos[19-21].

d) Retrodifusión del filtrado glomerular: Otro de los mecanismos que participa en la caída de la función renal es la retrodifusión del filtrado glomerular como consecuencia de la alteración de las fuerzas de Strarling peritubulares del nefrón proximal. De esta manera gran parte de la sustancias inicialmente filtradas son reabsorbidas retornando inmediatamente al compartimento vascular tornando así inefectivo el filtrado[16,22].

e) Vasoconstricción intra-renal: Este mecanismo es en parte responsable de la caída de filtrado glomerular propia de la IRA parenquimatosa, pero no sería su principal determinante desde el momento que la magnitud de su caída es inferior a la sufrida por el filtrado, e incluso el reestablecimiento de la perfusión renal suele no sólo acompañarse de una persistencia de la caída del filtrado glomerular, sino incluso de un mayor deterioro del mismo[23-28].

f) Contracción del mesangio: Las células mesangiales se contraen generando así una reducción del KF (coeficiente de ultrafiltración), lo cual contribuye decididamente a reducir la superficie de filtración[29].

g) Disbalance entre sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras: Los mecanismos antes mencionados de vasoconstricción arteriolar y contracción mesangial están estimulados por un incremento local de sustancias vasoconstrictoras (angiotensina II, factor activador de las plaquetas (PAF), adenosina, endotelina 1, tromboxano A2, etc) y una reducción de las vasodilatadoras (prostaglandina E2, óxido nítrico, etc) que se instala durante la IRA[23-28, 30].

h) Obstrucción intratubular: En la IRA parenquimatosa, las células tubulares redistribuyen sus integrinas (moléculas de adhesión de la membrana celular) las cuales se desplazan de su posición habitual (polo capilar) y se reubican en el polo apical. Este fenómeno contribuye a la obstrucción intratubular pues las células tubulares, ahora ya no tan adheridas a la membrana basal, descaman hacia la luz tubular donde merced a sus integrinas se agregan tanto entre sí, como a la cara apical de aquellas que aun siguen unidas a la membrana basal. A este conglomerado celular suele sumársele la proteína tubular de Tam-Horsfall, con lo cual termina aumentando el volumen de estos tapones celulares y por consiguiente su poder obstructivo[22].

i) Inflamación intersticial: Las células inflamatorias serían reclutadas a nivel del intersticio renal por la liberación local de citokinas (ej: TNF alfa, etc) a partir de un estímulo hipóxico o tóxico. Dicha infiltración generaría edema y compromiso de la microcirculación local[15].

j) Activación de enzimas proteolíticas: La isquemia tisular conduce a un aumento de los niveles de calcio intracelular, el cual tendría un efecto deletéreo para las células tubulares. El calcio intracelular desencadena la activación de enzimas que dañan las estructuras subcelulares: Por ejemplo, así se activa el calpain, una proteasa que daña el citoesqueleto tubular. Esta observación ha llevado a algunos autores a proponer el uso de bloqueantes cálcicos en la IRA parenquimatosa[15].

k) Stress oxidativo: Las noxas capaces de producir IRA parenquimatosa son también inductoras de la aparición de metabolitos histotóxicos derivados del oxígeno[31].

l) Factores de crecimiento tisular: el daño celular estimula la liberación de diversos factores de crecimiento que contribuyen a la regeneración de las células tubulares necrosadas, incluso algunas de ellas como IGF o EGF han demostrado su efectividad al ser utilizados exógenamente en modelos animales de IRA. Sin embargo, la actividad de algunos de estos factores puede contribuir a la generación de excesiva fibrosis durante los procesos de reparación[32-33].

De lo antes expuesto podemos obtener dos conclusiones principales:

- **Los tres mecanismos fisiopatológicos propuestos para interpretar la generación de una IRA: hipoflujo, daño tisular y obstrucción se dan en alguna medida conjuntamente en la IRA parenquimatosa.**
- **Decididamente un modelo fisiopatológico monocausal, al estilo del pensamiento médico del siglo pasado, no puede dar cuenta de un fenómeno complejo como es la insuficiencia renal aguda[34-35]. Sólo una mirada de perspectiva multicausal pareciera ser la adecuada para entender y resolver este sindrome.**

REFERENCIAS

1. Racusen LC. The morphologic basis of acute renal failure. In: Acute renal failure: A comparison to Brenner and Rector´s The Kidney. Molitoris BA, Finn WF, editors. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001; 1-12

2. Stein JH, Lifschitz BD, Barnes LD. Current concepts on the pathophysiology of acute renal failure. Am J Physiol 1978; 234:F171-81

3. Musso C, Macías-Núñez JF. Renal disease. In: Principles and Practice of Geriatric Medicine. Pathy MSJ, Sinclair AJ, Morley, J.E editors. Chichester: John Wiley and sons. 2006;1496-1506.

4. Lamiere NH, Van Den Noortgate N, Vanholder RC. Acute renal failure in the elderly. In: Oxford Textbook of Clinical Nephrology.Davison A, Cameron JS, Grünfeld JP, Ponticelli C, Ritz E, Winearls, C.G, Van Ypersele Ch, editors. Oxford: Oxford University Press 2005;1630-1644

5. Solez K, Altman J, Rienhoff H et al.: Early angiographic and renal blood flow changes after HgCl2 or glycerol administration. Kidney Int 1976; 10:S153-S159

6. Hsu CH, Kurtz TW, Rosenzweig J, Weller JM: Renal hemodynamics in HgCl2-induced acute renal failure. Nephron 1977; 18:326-332

7. Goormaghtigh N. Existence of an endocrine gland in the arteriolar media of renal arterioles. Proc Soc Exp Biol Med 1939; 42: 688-9

8. López-Novoa JM, Casado S, Hernando L: Protection by propanolol against Glycerol-induce acute renal failure. Role of extracellular volume expansion. Biomedicina 1978; 29:303-306.

9. Macias-Núñez JF, Lopez Novoa JM, Martinez Maldonado, M. Acute renal failure in the aged. Seminars in Nephrology 1996;16: 330-338

10. Flamenbaum W, McNeil JS, Kotchen TW, Saladino AJ. Experimental acute renal failure induced by uranyl nitrate in the dog. Circ Res 1972; 31:682-698

11. Venkatachalam MA, Bernard BD, Donohoe JF y Levinsky NG. Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: differences among the S1, S2 and S3 segments. Kidney Int 1978; 14:31-49

12. Baylis C, Rennke HG, Brenner BM: Mechanisms of the defect in glomerular ultrafitration associated with gentamicin administration. Kidney Int 1977; 12:344-353

13. Schor N, Ichikawa I, Rennke HG et al.: Pathophysiology of altered glomerular function in aminoglycoside-treated rats. Kidney Int 1981; 19:288-296

14. Aspelin P, Aubry P, Franson S et al. Nephrotoxic effects in high risk patients undergoing angiography. N. Engl.J.. Med 2003;348:491-9.

15. Lameire NH and Vanholder RC. Acute renal failure: Pathophysiology and prevention. In: Oxford Textbook of Clinical Nephrology.Davison A, Cameron JS, Grünfeld JP, Ponticelli C, Ritz E, Winearls, C.G, Van Ypersele Ch, editors. Oxford: Oxford University Press 2005;1445-1464

16. Mason J, Olbricht C, Takabatake T, Thurau K: The early phase of experimental acute real failure. Intratubular pressure and obstruction. Pflügers Arch 1977; 370:155-163

17. Akposso K, Hertig A, Couprie R et al. Acute renal failure in patients over 80 years old: 25 years´ experience. Intensive care medicine.2000; 26: 400-406).

18. Macías JF, Sánchez Tomero J.A. Acute renal failure in old people. In: Renal function and disease in the elderly. Macias Núñez JF, Cameron J.S, editors. London: Butterworths, 1987; 461-484

19. Rodriguez Mañas L.Aging and the Vascular Wall Circulation 200,104:2638-40.

20. Avasthi P, Evan AP, Hay D: Glomerular endothelial cells in uranyl nitrate-induced acute renal failure in rats. J Clin Invest 1980; 65:121-127

21. Ramos B, López-Novoa JM y Hernando L: Role of hemodynamic alterations in the partial protection afforded by uninephrectomy against glycerol-induced acute renal failure in rats. Nephron 1982; 30: 68-72

22. Donohoe JF, Venkatachalam MA, Bernard DB, Levinsky NG: Tubular leakage and obstruction after renal ischemia: structure-function correlations. Kidney Int 1978; 13:208-222

23. Werb R, Clark WF, Lindsay RM et al.: Protective effect of prostaglandin (PGE2) in glycerol-induced acute renal failure in rats. Clin Sci Mol Med 1978; 55:505-507

24. Mauk RH, Patak RV, Fadem SZ et al.: Effect of prostaglandin E administration in a nephrotoxic and a

vasoconstrictor model of acute renal failure. Kidney Int 1977;12:122-130

25. Role of endothelin in the patogenesis of hypertension. Perez del Villar C, Garcia Alonso C J, Feldstein CA, Luncos LA, Romero JC. Mayo Clin Proc. 2005;80:84-96

26. Garcia RE. Therapeutic strategies in the prevention of acute renal failure. Ren. Fail. 1997; 19: 231-235.

27. Tsau YK, Tsai WS, Chen Ch. Urinary entothelin-1 in children with acute renal failure of tubular origin. J. Fromo. Med Assoc 1998; 97: 387-391

28. Macías JF, García Iglesias C, Santos JC, Villamediana LM, López-Novoa J.M: Influence of plasma renin content, intrarrenal angiotensin II, captopril and calcium channel blockers on the vasoconstriction and renin release promoted by adenosine in the kidney. J Lab Clin Med 1985; 106: 562-567

29. Martínez-Salgado C, Rodríguez-Barbero A, Rodríguez-Puyol D, Pérez de Lema G, López-Novoa JM: Involvement of phospholipase A2 in gentamicin-induced rat mesangial cell activation. Am. J. Physiol 1997; 273: F60-F66

30. Kolonko A, Wiecek A, Kokot F: The nonselective adenosine antagonist theophylline does prevent renal dysfunction induced by radiographic contrast agents. J Nephrol 1998; 11:151-156

31. Valdivielso JM, Rivas cabañero L, Perez-Barriocanal F, Lopez-Novoa JM: Effect of nitric oxide synthesis modification on renal function in gentamicin-induced nephrotoxicity. Environ Toxicol Pharmacol 1997; 3: 123-128

32. López-Novoa JM: Potential role of platelet activating factor in acute renal failure, Kidney Int 1999; 55: 1672-1682.

33. Griño JM. BN 52021: A platelet activating factor antagonist for preventing post-transplant renal failure. A double-blind, randomized study. Ann Intern Med 1994; 121:345-347

34. Miroli A. La medicina en el tiempo. Buenos Aires. El Ateneo. 1978

35. Escuela Nacional de Salud Pública. La causalidad compleja: ¿un nuevo paradigma causal en epidemiología?. Rev Cubana Salud Publica 2004; 30(3): 1-10

Comentario del revisor Abdías Hurtado Aréstegui MD. PhD. Hospital Arzobispo Loayza. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Peru

La Insuficiencia renal aguda (IRA) es un síndrome que puede ser definido como una perdida rápida (horas a días) de la función renal, el que es ocasionado por diversas enfermedades, por lo que podemos suponer que hay diferentes mecanismos de daño renal.

Los modelos experimentales de IRA han generado hipótesis hemodinámicas (disminución del coeficiente de ultrafiltración, vasoconstricción, congestión medular), y de injuria tubular (retrodifusión del filtrado, obstrucción), el advenimiento de la biología molecular ha permitido describir alteraciones celulares (injuria del citoesqueleto, perdida de la polaridad) que conducen a la célula tubular a la muerte[1-2]. La revisión de Musso y col, enumera las alteraciones que se han descrito en estos estudios experimentales.

1.- Bonventre JV. Pathophysiology of acute kidney injury: roles of potential inhibitors of inflammation. Contrib Nephrol. 2007; 156: 39-46.
2.- Lameire N. The pathophysiology of acute renal failure. Crit Care Clin. 2005; 21:197-210

Comentario del revisor Secundino Cigarran Guldrís, MD. Servicio de Nefrología - Complexo Hospitalario Universitario de Vigo. Pontevedra. España

El articulo de Musso y colaboradores, aporta de una forma académica, breve y concisa una actualización sobre los factores implicados en el desarrollo y perpetuación del fracaso renal agúdo. Los mecanismos fisiopatológicos son tratados de forma clara y sobre todo actual combinando los evidenciados en forma experimental como en el humano, con amplia bibliografía.

Supone para el lector una amplia bibliografía actual donde buscar las lineas futuras, y es de agradecer el cuidadoso uso del lenguaje.

Recibido: 26 de Diciembre de 2007.
Publicado: 29 de Febrero de 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

PHYSIOPATHOLOGY OF ACUTE RENAL FAILURE. NEW CLUES FOR AN OLD DILEMMA

Carlos G. Musso[1] Juliana Reynaldi[2], Juan F. Macías Núñez[2]

[1]Nephrology Division. Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina

[2]Nephrology Division. Hospital Universitario de Salamanca. España.

carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:67-71

Version en español

Comment of the reviewer Abdías Hurtado Arístegui. MD, DM. Hospital Arzobispo Loayza. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Peru.

Comment of the reviewer Secundino Cigarrán Guldrís, MD. Servicio de Nefrología - Complexo Hospitalario Universitario de Vigo. Pontevedra. España

---

SUMMARY

Acute renal failure (ARF) is the term used to describe the sustained and abrupt reduction of the glomerular filtration, which causes the retention of waste products that come from the metabolism. Normally, the mechanisms potentially involved in ARF are divided into: pre-renal, parenchymatous, and post-renal. Regarding the etiology of the parenchymatous ARF, it would seem to be the sum of multiple pathogenic variables such as: tubular necrosis and apoptosis, alteration of the filtration barrier, retrodifusion of glomerular filtration, intrarenal vasoconstriction, contraction of the mesangium, intratubular obstruction, intersticial swelling, activation of proteolytic enzymes, and so on. Because of the above exposed data, only a multicausal perspective would seem to be adequate to understand and solve this syndrome.

KEY WORDS: Acute renal failure, glomerular filtration

RESUMEN

Insuficiencia renal aguda (IRA) es el término con el cual se designa a la reducción abrupta y sostenida del filtrado glomerular, de la cual resulta la retención de productos de desecho del metabolismo corporal. Clásicamente se dividen los mecanismos de la IRA en pre-renal, parenquimatoso, y obstructivo. En el caso de la IRA parenquimatosa, ésta pareciera ser el resultado de la sumatoria de las múltiples variables: necrosis y apoptosis tubular, alteración de la barrera de filtración, retrodifusión del filtrado glomerular, vasoconstricción intra-renal, contracción del mesangio, obstrucción intratubular, inflamación intersticial, activación de enzimas proteolíticas, entre otros. Por este motivo se postula que sólo una mirada de perspectiva multicausal de este síndrome pareciera ser la estrategia adecuada para conseguir su entendimiento cabal y tendiente a la resolución del mismo.

PALABRAS CLAVE: Insuficiencia renal aguda, filtrado glomerular

INTRODUCTION

Acute renal failure (ARF) is the term used to describe the sustained and abrupt reduction of the glomerular filtration, which causes the retention of waste products that come from the metabolism [1-3].

Although currently a universal definition for this syndrome has not been found, it is reasonable to take as a parameter for its detection, the documentation of a sustained and acute increase of 0.5 mg/dl in basal serum creatinine, if it is lower than 2,5 mg/dl, or an increase higher than 20%, if its basal value is higher than 2,5 mg/dl [1,2,4-].

Normally, the mechanisms potentially involved in ARF are divided into:

1. Fall of the renal flow preserving the integrity of the parenchyma (pre-renal ARF) [5-9].

2. Acute renal parenchymatous damage (intrinsec ARF) [10-14].

3. Urinary flow obstruction (post renal ARF) [15-16].

4. Mixed[15,17-18].

Regarding the etiology of the parenchymatous ARF, after more than half a century of research a central physiopathologycal mechanism has not been found, which would seem to be the sum of the multiple pathogenic variables displayed in such condition. Below we will discuss each one of these variables we know about thanks to experimental models (based on the use of ischemic or toxic agents) carried out mainly on rodents:

a) Tubular necrosis: any of the renal damaging agents can lead to the death of the tubular cells due to damage of at least one of its constitutive elements: cellular membrane, lysosomes, etc causing the condition known as *acute tubular necrosis* (ATN). However, the number of necrotic cells is not enough to justify renal failure per se which is characteristic of this syndrome [10-14].

b) Tubular Apoptosis: In recent years, some authors have stressed the importance not only of the induction of tubular necrosis inducing agents in the physiopathology of ARF, but also of the phenomenon which prematurely activates the usual programmed cellular death mechanism or apoptosis, thus adding the concept of *cellular apoptosis* to the typical ATN [15].

c) Alteration of the filtration barrier: A reduction in the length and density has been documented at the level of the endothelial pores of the glomerulus [19-21].

d) Retrodifusion of glomerular filtration: Another of the mechanisms which participates in the decrease of the renal function is the retrodifusion of glomerular filtration as a result of the alteration of the Starling´s forces around the proximal tubules. Therefore, most of the initially filtrated substances are reabsorved returning immediately to the vascular compartment, thus making the filtration ineffective [16,22].

e) Intrarenal vasoconstriction: This mechanism is to some extent responsible for the decrease of glomerular filtration characteristic of the parenchymatous ARF, but it is not its main cause since the magnitude of the decrease is lower than the filtration one, and even re-establishing the renal perfusion is usually not only accompanied by the persistance of the decrease in glomerular filtration but also of a more serious damage [23-28].

f) Contraction of the mesangium: Mesangial cells are contracted generating a reduction of the Kf (ultrafiltration coefficient), which helps reducing the filtration surface [29].

g) Disbalance between vasoconstrictor and vasodilator substances: The arteriolar vasoconstriction and mesangial contraction mechanisms already mentioned are stimulated by a local of vasoconstrictor substances (angiotensin II, platelet activating factor (PAF), adenosine, endothelin 1,A2 thromboxane, etc) and a reduction of the vasodilators (prostaglandine E2, nitric oxide, etc) which occurs during ARF [23-28, 30].

h) Intratubular obstruction: In parenchymatous ARF, the tubular cells redistribute their integrins (adhesion molecules

of the cellular membrane) which move away from its usual position (capillary pole) and relocate in the apical pole. This phenomenon contributes to the intratubular obstruction phenomenon because the tubular cells, not so adhered now to the basal membrane, fall towards the tubular light where despite its integrins, they adhere among them, as well as to the apical face of those which are still adhered to the basal membrane. Generally the Tam-Horsfall tubular protein is added to this conglomerate, which increases the volume of these cellular plugs thus increasing its obstructive power [22].

i) Intersticial swelling: The inflammatory cells would be recruited at the renal intersticial level due to the local release of cytokines (e.g. alfa TNF, etc) via a hypoxic or toxic stimulus. Such infiltration would generate an edema and compromise of the local microcirculation [15].

j) Activation of proteolytic enzymes: Tissue ischemia leads to an increase in the levels of intracellular calcium, which would have a bad effect in the tubular cells. Intracellular calcium triggers the activation of enzymes which damage sub-cellular structures: For example, this is how calpain is activated, a protease which damages the tubular cytoskeleton. This observation has made some authors propose the use of calcium blockers in parenchymatous ARF[15].

k) Oxidative stress: The damaging agents which can produce parenchymatous ARF are also exciters of histotoxic metabolites derived from oxygen [31].

l) Tissue growth factors: Cellular damage stimulates several growth factors which contribute to the regeneration of necrotic tubular cells, even some of them, such as IGF or EGF have demonstrated its effectiveness when used exogenously in animal models of ARF. Nevertheless, the activity of some of these factors can contribute to the generation of excessive fibrosis during the repairing processes [32-33].

From what was discussed above we can obtain two main conclusions:

- **The three physiopathological mechanisms proposed to interpret the generation of an ARF: decreased flow, tissue damage and obstruction appear, to some extent, together in parenchymatous ARF.**
- **Definitely, a monocausal physiopathological model, as it was thought in the past century, cannot cause a complex phenomena such as acute renal failure [34-35]. Only a multicausal perspective would seem to be adequate to understand and solve this syndrome.**

REFERENCES

1. Racusen LC. The morphologic basis of acute renal failure. In: Acute renal failure: A comparison to Brenner and Rector´s The Kidney. Molitoris BA, Finn WF, editors. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001; 1-12

2. Stein JH, Lifschitz BD, Barnes LD. Current concepts on the pathophysiology of acute renal failure. Am J Physiol 1978; 234:F171-81

3. Musso C, Macías-Núñez JF. Renal disease. In: Principles and Practice of Geriatric Medicine. Pathy MSJ, Sinclair AJ, Morley, J.E editors. Chichester: John Wiley and sons. 2006;1496-1506.

4. Lamiere NH, Van Den Noortgate N, Vanholder RC. Acute renal failure in the elderly. In: Oxford Textbook of Clinical Nephrology.Davison A, Cameron JS, Grünfeld JP, Ponticelli C, Ritz E, Winearls, C.G, Van Ypersele Ch, editors. Oxford: Oxford University Press 2005;1630-1644

5. Solez K, Altman J, Rienhoff H et al.: Early angiographic and renal blood flow changes after HgCl2 or glycerol administration. Kidney Int 1976; 10:S153-S159

6. Hsu CH, Kurtz TW, Rosenzweig J, Weller JM: Renal hemodynamics in HgCl2-induced acute renal failure. Nephron 1977; 18:326-332

7. Goormaghtigh N. Existence of an endocrine gland in the arteriolar media of renal arterioles. Proc Soc Exp Biol Med 1939; 42: 688-9

8. López-Novoa JM, Casado S, Hernando L: Protection by propanolol against Glycerol-induce acute renal failure. Role of extracellular volume expansion. Biomedicina 1978; 29:303-306.

9. Macias-Núñez JF, Lopez Novoa JM, Martinez Maldonado, M. Acute renal failure in the aged. Seminars in Nephrology

1996;16: 330-338

10. Flamenbaum W, McNeil JS, Kotchen TW, Saladino AJ. Experimental acute renal failure induced by uranyl nitrate in the dog. Circ Res 1972; 31:682-698

11. Venkatachalam MA, Bernard BD, Donohoe JF y Levinsky NG. Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: differences among the S1, S2 and S3 segments. Kidney Int 1978; 14:31-49

12. Baylis C, Rennke HG, Brenner BM: Mechanisms of the defect in glomerular ultrafitration associated with gentamicin administration. Kidney Int 1977; 12:344-353

13. Schor N, Ichikawa I, Rennke HG et al.: Pathophysiology of altered glomerular function in aminoglycoside-treated rats. Kidney Int 1981; 19:288-296

14. Aspelin P, Aubry P, Franson S et al. Nephrotoxic effects in high risk patients undergoing angiography. N. Engl.J.. Med 2003;348:491-9.

15. Lameire NH and Vanholder RC. Acute renal failure: Pathophysiology and prevention. In: Oxford Textbook of Clinical Nephrology.Davison A, Cameron JS, Grünfeld JP, Ponticelli C, Ritz E, Winearls, C.G, Van Ypersele Ch, editors. Oxford: Oxford University Press 2005;1445-1464

16. Mason J, Olbricht C, Takabatake T, Thurau K: The early phase of experimental acute real failure. Intratubular pressure and obstruction. Pflügers Arch 1977; 370:155-163

17. Akposso K, Hertig A, Couprie R et al. Acute renal failure in patients over 80 years old: 25 years´ experience. Intensive care medicine.2000; 26: 400-406).

18. Macías JF, Sánchez Tomero J.A. Acute renal failure in old people. In: Renal function and disease in the elderly. Macias Núñez JF, Cameron J.S, editors. London: Butterworths, 1987; 461-484

19. Rodriguez Mañas L.Aging and the Vascular Wall Circulation 200,104:2638-40.

20. Avasthi P, Evan AP, Hay D: Glomerular endothelial cells in uranyl nitrate-induced acute renal failure in rats. J Clin Invest 1980; 65:121-127

21. Ramos B, López-Novoa JM y Hernando L: Role of hemodynamic alterations in the partial protection afforded by uninephrectomy against glycerol-induced acute renal failure in rats. Nephron 1982; 30: 68-72

22. Donohoe JF, Venkatachalam MA, Bernard DB, Levinsky NG: Tubular leakage and obstruction after renal ischemia: structure-function correlations. Kidney Int 1978; 13:208-222

23. Werb R, Clark WF, Lindsay RM et al.: Protective effect of prostaglandin (PGE2) in glycerol-induced acute renal failure in rats. Clin Sci Mol Med 1978; 55:505-507

24. Mauk RH, Patak RV, Fadem SZ et al.: Effect of prostaglandin E administration in a nephrotoxic and a vasoconstrictor model of acute renal failure. Kidney Int 1977;12:122-130

25. Role of endothelin in the patogenesis of hypertension. Perez del Villar C, Garcia Alonso C J, Feldstein CA, Luncos LA, Romero JC. Mayo Clin Proc. 2005;80:84-96

26. Garcia RE. Therapeutic strategies in the prevention of acute renal failure. Ren. Fail. 1997; 19: 231-235.

27. Tsau YK, Tsai WS, Chen Ch. Urinary entothelin-1 in children with acute renal failure of tubular origin. J. Fromo. Med Assoc 1998; 97: 387-391

28. Macías JF, García Iglesias C, Santos JC, Villamediana LM, López-Novoa J.M: Influence of plasma renin content, intrarrenal angiotensin II, captopril and calcium channel blockers on the vasoconstriction and renin release promoted by adenosine in the kidney. J Lab Clin Med 1985; 106: 562-567

29. Martínez-Salgado C, Rodríguez-Barbero A, Rodríguez-Puyol D, Pérez de Lema G, López-Novoa JM: Involvement of phospholipase A2 in gentamicin-induced rat mesangial cell activation. Am. J. Physiol 1997; 273: F60-F66

30. Kolonko A, Wiecek A, Kokot F: The nonselective adenosine antagonist theophylline does prevent renal dysfunction induced by radiographic contrast agents. J Nephrol 1998; 11:151-156

31. Valdivielso JM, Rivas cabañero L, Perez-Barriocanal F, Lopez-Novoa JM: Effect of nitric oxide synthesis modification on renal function in gentamicin-induced nephrotoxicity. Environ Toxicol Pharmacol 1997; 3: 123-128

32. López-Novoa JM: Potential role of platelet activating factor in acute renal failure, Kidney Int 1999; 55: 1672-1682.

33. Griño JM. BN 52021: A platelet activating factor antagonist for preventing post-transplant renal failure. A double-blind, randomized study. Ann Intern Med 1994; 121:345-347

34. Miroli A. La medicina en el tiempo. Buenos Aires. El Ateneo. 1978

35. Escuela Nacional de Salud Pública. La causalidad compleja: ¿un nuevo paradigma causal en epidemiología?. Rev Cubana Salud Publica 2004; 30(3): 1-10

Comentario del revisor Abdías Hurtado Aréstegui MD. PhD. Hospital Arzobispo Loayza. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Peru

Acute renal failure is a syndrome which have been defined as a rapid (in hours or days) renal function reduction. Since this syndrome can be caused by several sort of diseases, there are many physiopathologic mechanisms involved in its installation.

Several hypothesis have been proposed to explain acute renal failure etiology which are based on information obtained from experimental models: hemodynamic alterations (Kf reduction, vasoconstriction, medulla congestion), tubular injury (back-filtration, intratubular obstruction), and those proposed by molecular biology such as cytoskeleton damage or cellular polarity alteration[1-2]. The above review of Musso et al, lists the changes which have been described in these pilot studies.

1.- Bonventre JV. Pathophysiology of acute kidney injury: roles of potential inhibitors of inflammation. Contrib Nephrol. 2007; 156: 39-46.
2.- Lameire N. The pathophysiology of acute renal failure. Crit Care Clin. 2005; 21:197-210

Comentario del revisor Secundino Cigarran Guldrís, MD. Servicio de Nefrología - Complexo Hospitalario Universitario de Vigo. Pontevedra. España

In this article Musso et al. deliver in an academic, clear and brief way an up to date of the physiopathologic mechanisms involved in acute renal failure development and perpetuation.

The delivered information is based on data which comes from basic and clinical reaserch.

Received: December 26, 2007.
Published February 29, 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

HACIA UNA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA

Enrique García Toro MD.

Servicio de Anatomía Patologica. Complejo Asistencial de Burgos. España

egarciat @ hgyg.sacyl.es

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:72-76

Comentario del revisor Prof. Pilar Muñiz Rodríguez PhD. Profesora Titular de Biología Molecular. Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Burgos. España

Comentario del revisor Dra. Sandra Liliana Quijano. Especialista en Clinica Medica - "Centro de Hemoterapia de la Provincia de El Chaco". Argentina

---

RESUMEN

Los avances en el campo de la Biología Molecular han permitido agrupar a los carcinomas mamarios en varios tipos en función de distintos perfiles de expresión genética. Esta clasificación molecular parece mostrar mucha mayor relevancia clínica que la clasificación morfológica clásica, con mayor valor pronóstico y predictivo de la respuesta a los distintos tratamientos. Además permite descubrir casos de carcinoma hereditario sin otros criterios de sospecha y facilita la investigación en nuevas dianas terapeúticas.

PALABRAS CLAVE: Cancer de mama. Marcador basales. Expresión genética. Dianas moleculares.

SUMMARY: TOWARDS A MOLECULAR CLASSIFICATION OF THE BREAST TUMORS

Advances in the field of Molecular Biology have led to regroup the breast carcinomas several types according to different gene expression profiles. This molecular classification seems to show much greater clinical significance that the morphological classification, more prognostic and predictive of response to the different treatments. It also enables discover cases of hereditary carcinoma without other criteria for suspicion and facilitates research on new therapeutic targets.

KEY WORDS: Breast cancer. Basal marker. Expression profile. Molecular targeting drug

---

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es la primera causa de muerte tumoral en el sexo femenino. Debido a su frecuencia, a la cantidad de recursos que consume y a la alarma social que genera, es un problema de salud generalmente prioritario para las Administraciones Sanitarias[1]. A pesar de la trascendencia del problema la clasificación histopatológica actual tiene poca relevancia clínica al no reflejar la variabilidad de las neoplasias en su comportamiento biológico, ni tener valor predictivo de la respuesta o resistencia a

los distintos tratamientos.

En los últimos años se ha hecho necesario completar el informe histológico habitual con un segundo informe en el que se determina por inmunohistoquímica la expresión de marcadores relacionados con el pronóstico y con la presencia o ausencia de dianas terapeúticas específicas para tratamientos actualmente disponibles (inhibidores de la aromatasa o tamoxifeno caso de expresar receptores de estrógenos y trastuzumab si expresan C-erbB-2). Se da la paradoja de que actualmente este informe complementario es mucho más relevante para el manejo oncológico de las pacientes que el principal y por tanto se puede interpretar que la clasificación histológica clásica se está quedando obsoleta y que los nuevos marcadores están anticipando la llegada de una "era molecular" a la clasificación del cáncer de mama.

PERFILES DE EXPRESIÓN

Puesto que tumores semejantes y homogéneos en cuanto a sus factores pronósticos se comportan de forma distinta, cabe suponer que la diferencia entre los mismos se establece a nivel molecular, al expresar distintos genes, que les otorgan diferente comportamiento biológico y distinta sensibilidad a los tratamientos[2-3]. Basándose en este razonamiento recientes investigaciones de patrones de expresión de cientos de genes en series de carcinomas mamarios utilizando la técnica de "microarrays" de ADNc han permitido obtener un "retrato molecular" de cada tumor y un agrupamiento de los mismos en unas pocas categorías en base a sus perfiles de expresión genética[2-5].

Los "microarray" o matriz de ADN utilizan sondas (moléculas de ADNc) complementarias de los genes de interés, se amplifican por PCR, se purifican y se fijan en un portaobjetos con ayuda de un robot. Posteriormente el ARN extraído de las muestras de estudio (indicativo de expresión génica) se convierte en ADNc fluorescente mediante una reacción catalizada por la enzima transcriptasa inversa en presencia de fluoróforos específicos. Las dianas fluorescentes se hibridan posteriormente con las sondas de la matriz y los híbridos creados de esta forma son retenidos en la matriz y producen una emisión característica al ser excitados por un rayo láser. Luego, un programa informático normaliza e integra los resultados en una imagen coloreada en función de los niveles de expresión de los distintos genes[2].

NUEVAS AGRUPACIONES

Diferentes estudios publicados demuestran que la clasificación resultante con esta tecnología define grupos diferentes en cuanto a su pronóstico y con distintas probabilidades de respuesta a los diferentes tratamientos[2-6].

Un primer grupo corresponde a las neoplasias que se han denominado luminales por expresar receptores de estrógenos y queratinas de bajo peso molecular (CK7, CK8, CK18, etc) de forma semejante al epitelio luminal de los conductos mamarios. Este grupo se puede dividir al menos en otros dos y es el subtipo que en curvas de supervivencia y de intervalo libre de enfermedad muestra un mejor pronóstico[2-3]. Al expresar receptores de estrógenos, estos tumores pueden ser tratados con tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa. Sin embargo trastuzumab no es efectivo y parecen mostrar una baja tasa de respuesta a la quimioterapia neoadyuvante. Los carcinoma lobulillares, tubulares y túbulo-lobulares de la clasificación histológica clásica suelen pertenecer a este tipo molecular.

Un segundo grupo estaría constituido por los tumores que no expresan receptores hormonales ni HER-2 y sin embargo expresan queratinas de alto peso molecular (CK5/6, CK14) y P63 de forma semejante al epitelio basal de los conductos mamarios. Este grupo se ha denominado carcinomas de tipo basal y muestran el peor pronóstico careciendo además de dianas terapéuticas específicas en la actualidad[2-3].

Un tercer grupo está constituido por los tumores que no expresan receptores hormonales pero si HER2. Este grupo (denominado Her2 +) está constituido también por neoplasias de mal pronóstico pero que pueden ser tratadas con trastuzumab. No obstante, y a pesar de su agresividad, estos dos tipos moleculares suelen mostrar una buena respuesta a la quimioterapia neoadyuvante[2-3,7].

Por último definen un cuarto grupo de tumores que muestran una fuerte expresión de genes normalmente expresados por tejido adiposo y otros tipos celulares no epiteliales. Este grupo también muestra una fuerte expresión de genes epiteliales basales y baja expresión de genes epiteliales luminales y se ha denominado "normal - breast like" (semejante a la mama normal)[2].

Desde la publicación de estos estudios se ha despertado un enorme interés en estos "retratos moleculares" de las neoplasias mamarias con implicaciones pronósticas y terapeúticas, valorando la posibilidad de reproducir la clasificación en la clínica utilizando un limitado número de marcadores discriminativos entre las distintas categorías[8-11].

CARCINOMAS BASALES

En los últimos años ha sido especialmente estudiado el subgrupo de los carcinomas basales por definir la variedad de peor pronóstico y carecer de dianas terapeúticas (Cerb-2 y receptores de estrógenos negativos). Este subgrupo supone

aproximadamente el 15% del total[5,11-12]. Parece existir una fuerte relación de los carcinomas medulares de la clasificación histológica clásica con el inmunofenotipo basal y con mutaciones en el gen BRCA1. Por lo tanto los carcinomas medulares con inmunofenotipo basal parecen tener un valor predictivo de carcinoma hereditario y esta circunstancia supone otra interesante aplicación clínica[13-15]. Además de los carcinomas medulares también los carcinomas metaplásicos parecen corresponder en su mayoría a carcinomas basales[16-17].

En cuanto a su comportamiento biológico, algunos autores han sugerido un patrón de diseminación diferente para los tumores de tipo basal, con mayor tendencia a desarrollar metástasis a distancia (pulmón y cerebro)[18]. Un elevado porcentaje de los carcinomas basales sobreexpresan EFGR (Epidermal Growth Factor Receptor) y muestran amplificación del gen. Esta circunstancia, sobre todo si se asocia a mutaciones en el gen TP53 parece conferirles especial agresividad. Sin embargo es posible que en el futuro puedan recibir tratamientos específicos contra el dominio extracelular de EFGR (cetuximab) o bien inhibidores de la actividad tirosin-quinasa del receptor (gefitinib, erlotinib o lapatinib, este último con acción no solamente sobre EFGR sino también sobre HER2)[17-19].

EL RETO DE LA REPRODUCTIBILIDAD

Algunos estudios sugieren que es posible reproducir la nueva clasificación en la clínica con un limitado número de marcadores discriminativos entre las distintas categorías (queratinas basales o de alto peso molecular, queratinas luminales o de bajo peso molecular, P63, Cerb-2, receptores de estrógenos y progesterona y EFGR como marcadores más relevantes), permitiendo clasificar a un elevado número de tumores con una mejor definición pronóstica de la enfermedad y permitiendo diseñar los tratamientos de forma individualizada[11,20]. No obstante es posible que la clasificación molecular sufra cambios en un futuro próximo al estudiarse la expresión de nuevos genes o bien al estudiar un mayor número de casos con "microarrays de DNAc". Sin embargo los grupos actualmente definidos parecen relevantes clínicamente aunque son necesarios más estudios para confirmar la reproductibilidad en la clínica de la nueva clasificación molecular.

REFERENCIAS

1.- Cáncer de mama. Guía para la gestión integrada de procesos relacionados con el cáncer: "proyecto oncoguías". Consejería de Sanidad. Dirección General de Planificación y Ordenación. Depósito Legal: VA-100/05.

2.- Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Eystein Lønning P, Børresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98:10869-10874.

3.-Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lønning PE, Brown PO, Børresen-Dale AL, Botstein D. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100: 8418-8423.

4.- Nuyten DSA, Chang HY, Brown PO, Van de Vijver MJ. Reproducibility of molecular portraits in early stage breast cancer. Breast Cancer Res 2005;7(Suppl 2): P4.26 (doi: 10.1186/bcr1156).

5.- Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, Kim HH, Kim SB, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. Human Pathology 2006. 37: 1217-1226. Pubmed

6.- Carey LA, Perou CM, Livasy CA et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. JAMA. 2006;295: 2492-2502.

7.- Hatake K, Tokudome N, Ito Y. Next generation molecular targeted agents for breast cancer: focus on EGFR and VEGFR pathways. Breast Cancer. 2007;14:132-149.

8.- Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, Zeferino LC, Schmitt F. P63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. Virchows Arch 2005. 447: 688-694.

9.- Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, Sneige N. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: from expression profiling to clinical practice. Adv Anat Pathol. 2007;14:419-430. Pubmed

10.- Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, Perou CM. Phenotypic evaluation of the

basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Mod Pathol. 2006;19:264-271.

11.- Cheang MC, Voduc D, Bajdik C et al Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. Clin Cancer Res. 2008. 14: 1368-1376.

12.- Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L, Akslen LA, Ragaz J, Gown AM, Gilks CB, van de Rijn M, Perou CM. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Clin Cancer Res. 2004;10:5367-5374.

13.- Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. Clin Cancer Res 2005. 11: 5175-5180.

14.- Foulkes WD. BRCA1 functions as a breast stem cell regulator. J Med Genet. 2004;41:1-5.

15.- Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, Springall RJ, Ryder K, Steele D, Savage K, Gillett CE, Schmitt FC, Ashworth A, Tutt AN. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. Oncogene. 2007;26:2126-2132. Pubmed

16.- Reis-Filho JS, Milanezi F, Steele D, Savage K, Simpson PT, Nesland JM, Pereira EM, Lakhani SR, Schmitt FC. Metaplastic breast carcinomas are basal-like tumours. Histopathology. 2006;49:10-21. Pubmed

17.- Reis-Filho JS, Milanezi F, Carvalho S, Simpson PT, Steele D, Savage K, Lambros MB, Pereira EM, Nesland JM, Lakhani SR, Schmitt FC. Metaplastic breast carcinomas exhibit EGFR, but not HER2, gene amplification and overexpression: immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization analysis. Breast Cancer Res. 2005;7:R1028-1035.

18.- Tsuda H, Takarabe T, Kanai Y, Fukutomi T, Hirohashi S. Correlation of DNA hypomethylation at pericentromeric heterochromatin regions of chromosomes 16 and 1 with histological features and chromosomal abnormalities of human breast carcinomas. Am J Pathol. 2002;161:859-866.

19.- Bhargava R, Gerald WL, Li AR, Pan Q, Lal P, Ladanyi M, Chen B. EGFR gene amplification in breast cancer: correlation with epidermal growth factor receptor mRNA and protein expression and HER-2 status and absence of EGFR-activating mutations. Mod Pathol. 2005;18:1027-1033.

20.- Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application?. J Clin Oncol. 2005;23:7350-7360. Pubmed

Dirección para la correspondencia:
Dr. Enrique García de Toro
Servicio de Anatomía Patológica. Complejo Asistencial de Burgos.
Avda. del Cid 96. 09005 Burgos
egarciat @ hgyg.sacyl.es

Comentario del revisor Prof. Pilar Muñiz Rodríguez PhD. Profesora Titular de Biología Molecular. Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Burgos. España

El artículo del Dr. Garcia Toro, muestra la necesidad de ampliar los estudios dirigidos al desarrollo y aplicación de nuevos marcadores moleculares que permitan establecer una nueva clasificación de los carcinomas mamarios.

En esta revisión el autor presenta una clasificación de los mismos resultado del estudio de perfiles de expresión génica de tumores de mama, aplicando la técnica del microarray, que permite establecer grupos diferentes en cuanto a pronóstico y probabilidad de respuesta a tratamientos. No siendo esta una clasificación cerrada ya que el estudio de la expresión de nuevos genes puede introducir cambios en la misma.

Este estudio además introduce la posibilidad de seleccionar alguno de estos marcadores con el objetivo de una mejor clasificación de los tumores en relación al pronostico de la enfermedad y a un tratamiento más individualizado.

Comentario del revisor Comentario del revisor Dra. Sandra Liliana Quijano. Especialista en Clinica Medica - Especialista en Clinica Medica - "Centro de Hemoterapia de la Provincia de El Chaco". Argentina
El articulo del Dr. Garcia Toro evidencia la necesidad actual de establecer una clasificación de los carcinomas mamarios desde el estudio molecular, que en la clínica oncológica nos brindaría una mejor elección terapéutica y un más acertado pronostico que desde la clásica clasificación anatomopatologica.

Si bien aun esta clasificacion se encuentra en estudio y podria presentar cambios al observarse la expresion de nuevos genes, seria ella de gran ayuda para la practica de la especialidad

Recibido: 30 de marzo de 2008.
Publicado: 14 de abril de 2008.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicina

ISSN: 1697-090X

Letters to the Editor / Cartas al Editor

INTESTINAL DIALYSIS IN VERY OLD PATIENTS

Musso CG[1], Michelangelo H[2], Reynaldi J[1], Martinez B[2], Vidal F[2], Quevedo M[2], Parot M[2], Waisman G[2], Algranati L[1]
Nephrology[1] and Internal Medicine Divisions[2]. Hospital Italiano de Buenos Aires - Argentina

carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:77-78

To the Editor:

Patients older than 75 showed a 67 % rise in the incident rate of end-stage renal disease (ESRD) as compared to 24 % for those between 5 and 74 years [1]. Chronic dialysis is a valid therapeutic option in ESRD seniors patients[1-2], even though the survival for octogenarians on dialysis, as happens in younger patients, is far lower than age-matched general population [3]. Moreover, in high-risk, highly dependent patients with ESRD, the decision to dialyze or not has little impact on survival [1].

En algunas oportunidades, pacientes muy ancianos lúcidos (o su familia cercana en el caso de pacientes con demencia moderada) se niegan a iniciar el tratamiento dialítico propuesto, prefiriendo algún tipo de terapéutica alternativa menos invasiva.

Sometimes, lucid very old patients (or their close family in moderate demented ones) do not agree with starting dialysis treatment, but they prefer a less invasive management. Among the above mentioned conservative therapeutic options are: a very low-protein diet, changing intestinal bacteria flora (probiotics), or activated charcoal[4-6].

Charcoal is activated by exposing it to oxidazing gas compound at high temperatures resulting in the production of increased surface area from the creation of pores. A 50 grams dose of activated charcoal has a surface approximately equal to 10 football fields. Urea and other waste products which diffuse into the gastrointestinal tract from the blood are bound to charcoal and excreted in the feces, creating a concentration gradient for continued diffusion, giving place to a process called "intestinal dialysis" [7].

Charcoal contraindications are: absence of bowel sounds (ileus), presence of gastrointestinal perforation, gut obstruction, recent abdominal surgery, risk of gastrointestinal hemorrhage. Serious adverse effects such as intestinal obstruction and aspiration pneumonia can be avoid by co-administering cathartic (non-based on magnesium ones) or not using this product in patients who have a reduced ability to protect his airway. Other reported adverse effects are vomiting, acute appendicitis, allergic reaction, and luminal drug adsorption: carbamazepine, digoxine, furosemide, mycophenolate, theophylline, and olanzapine[8].

In the present letter we would like to share our successful experience of treating three very old ESRD patients with intestinal dialysis based on oral activated charcoal administration. Two of the treated patients were lucid and they had refused to dialyze, while the third one, who suffered from moderate dementia, had relatives (his wife and daughter) who had not accepted to dialyze him. All these patients passed urine, had neither edema, significant metabolic acidosis, nor hyperkalemia.

Activated charcoal was initiated at a dose of 15 grams (powder), diluted in a glass of water. It was administered after meals, far from other medications, initial dose was twice a day (30 grams), being later progressively risen until a significant serum urea reduction was reached. Maximal used dose was 60 g/day. We observed that activated charcoal was able to maintain their serum urea level in a significantly lower value (Table 1). All the patients were free of uremic symptoms, such as nausea, insomnia, asthenia, pruritus, or hyporeaxia. Only one of then showed constipation which was solved by adding an oral cathartic to his therapeutic scheme.

In conclusion, in our experience orally administered activated charcoal was a useful therapeutic alternative to handle end-stage renal disease in very old patients who had denied starting dialysis.

	Before charcoal	After charcoal	p
Serum urea (mg/dl)	178 ± 37	125 ± 34	0.007
Serum creatinine (mg/dl)	4 ± 0.7	3.3 ± 0.7	0.07

Table 1: serum urea and creatinine level before and after a week of starting intestinal dialysis (activated charcoal)

REFERENCIAS

1) Misra M. Dialysis in the elderly. Blood Purification 2008; 26: 41- 44

2.- Cook W, Jassal V. Prevalence of fall among seniors maintained on hemodialysis. 2005; 37: 649-652

3.- Kurella M, Covinsky K, Collins A, Chertow G. Octogenarians and nonagenarians starting dialysis in the United States. Annals of Internal Medicine. 2007; 146: 177-183

4.- Brunori G, Viola B, Maiorca P, Cancarini G. How to manage elderly patients with chronic renal failure: conservative management versus dialysis. Blood Purification 2008; 26: 36-40

5.- Pendse S, Singh A. Approach to patients with chronic kidney disease, stages 1- 4: 3-13

6.- Friedman E. Bowel as a kidney substitute in renal failure.American Journal of Kidney Disease. 1996; 28 (6): 943-950

7.- Charcoal. In Lacy C, Armstrong L, Goldman M, Lance L. (Eds). Drug information handbook. Lexi-Comp. 2004. 310-311

8.- Micromedex Healthcare Series - Drugdex - 2008

Recibido 15 de marzo de 2007.
Publicado 17 de marzo de 2007

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Letters to the Editor / Cartas al Editor

DIÁLISIS INTESTINAL EN PACIENTES MUY ANCIANOS

Musso CG[1], Michelangelo H[2], Reynaldi J[1], Martinez B[2], Vidal F[2], Quevedo M[2], Parot M[2], Waisman G[2], Algranati L[1]
Servicios de Nefrología[1] y Medicina Interna[2]. Hospital Italiano de Buenos Aires - Argentina

carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:79-80

Sr. Editor:

Los pacientes mayores de 75 años de edad presentan un incremento del 67% en la incidencia de enfermedad renal crónica (ERC) respecto del 24% que muestran aquellos pacientes cuya edad oscila entre 5 y 74 años[1]. La diálisis crónica es una opción terapéutica válida en los ancianos portadores de insuficiencia renal crónica terminal[1-2], sin embargo la sobrevida de los pacientes octogenarios en diálisis, a igual que sucede con los jóvenes, es mucho menor que la correspondiente a personas de la población general de la misma edad[3]. Por otra parte, en pacientes de alto riesgo, así como en aquellos de alto grado de dependencia, la decisión de iniciar diálisis influye poco en su sobrevida[1].

En algunas oportunidades, pacientes muy ancianos lúcidos (o su familia cercana en el caso de pacientes con demencia moderada) se niegan a iniciar el tratamiento dialítico propuesto, prefiriendo algún tipo de terapéutica alternativa menos invasiva.

Entre las alternativas antes mencionadas se encuentra: la dieta muy baja en proteínas, la modificación de la flora bacteriana intestinal (probióticos), o el uso de carbón activado[4-6].

El carbón es activado mediante su exposición a gas oxidante a altas temperaturas, tras lo cual se logra que aumente su superficie de contacto mediante la formación de poros en él. De este modo resulta que una dosis de 50 gramos de carbón activado representa una superficie de contacto equivalente a la de 10 campos de fútbol.

La urea y otros productos de desecho del metabolismo corporal que difunden desde la sangre a la luz gastro-intestinal, se adhieren al carbón activado y son excretados luego en las heces, lo cual crea a su vez un gradiente de concentración en favor de una difusión continua de estos productos de desecho desde el compartimiento vascular al lumen intestinal, dando lugar así al proceso conocido como diálisis intestinal[7].

Se consideran contraindicaciones para el uso de carbón activado: la falta de motilidad intestinal (íleo), la presencia de perforación gastro-intestinal, obstrucción intestinal, cirugía abdominal reciente, riesgo de hemorragia gastro-intestinal. Efectos adversos serios, como la obstrucción intestinal o la neumonía aspirativa pueden evitarse co-administrando catárticos (no aquellos a base de magnesio) o evitando la utilización de este producto en aquellos pacientes con reducción de su habilidad para proteger la vía aérea. Otros efectos adversos reportados son: la aparición de vómitos, apendicitis aguda, reacción alérgica, y la adsorción en el lumen intestinal de fármacos tales como: carbamazepina, digoxina, micofenolato, teofilina y olanzapina[8].

En la presente carta querríamos mostrar la buena experiencia que hemos tenido tratando tres pacientes muy ancianos mediante el uso de diálisis intestinal a base del aporte oral de carbón activado. Dos de los pacientes eran lúcidos y habían rechazado el ofrecimiento de iniciar diálisis, mientras que el tercero era un paciente portador de demencia moderada cuya familia directa (su esposa e hija) no habían aceptado su incorporación a un programa de diálisis crónica. Todos estos pacientes tenían una adecuada diuresis residual, no presentaban edemas, ni acidosis metabólica significativa, ni hiperkalemia.

El suministro de carbón activado fue prescripto a una dosis de 15 gramos (polvo), diluido en un vaso de agua, después de las comidas, alejado del resto de la medicación del paciente. La dosis inicial fue de dos veces por día (30 gramos) siendo elevada progresivamente de ser necesario hasta lograr un descenso significativo de la uremia. La dosis máxima utilizada fue de 60 gramos/día. En esta experiencia piloto observamos que el carbón activado fue significativamente capaz de descender y mantener los niveles séricos de urea (Tabla 1). Todos los pacientes estaban libres de síntomas urémicos tales como nauseas, insomnio, astenia, prurito, o hiporexia. Sólo uno de ellos mostró constipación la cual fue resuelta agregando un catártico (oral) a su esquema terapéutico.

Conclusión: En nuestra experiencia el suministro de carbón activado fue una alternativa terapéutica útil en el mantenimiento de la uremia significativamente descendida, y el paciente asintomático, a fin de manejar la enfermedad renal crónica terminal de pacientes muy ancianos que habían rechazado iniciar diálisis.

	Antes del carbón activado	Después del carbón activado	p
Uremia (mg/dl)	178 ± 37	125 ± 34	0.007
Creatininemia (mg/dl)	4 ± 0.7	3.3 ± 0.7	0.07

Tabla 1: uremia y creatininemia antes y después de una semana de iniciar diálisis intestinal (los valores logrados se mantuvieron tras tres meses de seguimiento)

REFERENCIAS

1) Misra M. Dialysis in the elderly. Blood Purification 2008; 26: 41- 44

2.- Cook W, Jassal V. Prevalence of fall among seniors maintained on hemodialysis. 2005; 37: 649-652

3.- Kurella M, Covinsky K, Collins A, Chertow G. Octogenarians and nonagenarians starting dialysis in the United States. Annals of Internal Medicine. 2007; 146: 177-183

4.- Brunori G, Viola B, Maiorca P, Cancarini G. How to manage elderly patients with chronic renal failure: conservative management versus dialysis. Blood Purification 2008; 26: 36-40

5.- Pendse S, Singh A. Approach to patients with chronic kidney disease, stages 1- 4: 3-13

6.- Friedman E. Bowel as a kidney substitute in renal failure.American Journal of Kidney Disease. 1996; 28 (6): 943-950

7.- Charcoal. In Lacy C, Armstrong L, Goldman M, Lance L. (Eds). Drug information handbook. Lexi-Comp. 2004. 310-311

8.- Micromedex Healthcare Series - Drugdex - 2008

Recibido 15 de marzo de 2007.
Publicado 17 de marzo de 2007

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Letters to the Editor / Cartas al Editor

FRACTURA AVULSIVA DE LA TUBEROSIDAD ISQUIÁTICA.

Alfredo Martín Acosta Inguanzo, Lázaro González Robaina, Manuel González Reina, Jesús Carlos Uranga Gafas, Virginia Fernández Niebla.
Ortopedia y Traumatología. HMC "Dr. Carlos J. Finlay", Ciudad de la Habana. Cuba.

alfredoacos @ infomed.sld.cu

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:81-85

Sr. Editor:

Las fracturas por avulsión de las diferentes apófisis de la pelvis y del extremo proximal del fémur constituyen un tipo de patología poco frecuente, y la mayoría de los trabajos publicados se refieren a casos aislados[1-3]. En general, los pacientes son vistos tardíamente ya que estas lesiones suelen acompañarse de una escasa y /o inespecífica sintomatología. Por ello, no es raro que las imágenes radiográficas observadas cierto tiempo después del traumatismo sean interpretadas como exostosis, miositis osificante e incluso como lesiones tumorales óseas.

Las avulsiones traumáticas de la tuberosidad isquiática son las más frecuentes de las localizadas en la pelvis y a veces pasan inadvertidas por la escasa sintomatología que la acompaña[4]. Por ello, no es raro que las imágenes radiográficas observadas cierto tiempo después del traumatismo sean interpretadas como exostosis, miositis osificante e incluso como lesiones tumorales óseas, lo que provoca exploraciones y procedimientos quirúrgicos complementarios no exentos de complicaciones[5-7].

CASO CLINICO:
Recientemente hemos visto el caso de un paciente de 42 años de edad, con antecedente de haber sufrido accidente automovilístico 20 años atrás, que acude por presentar dolor en región isquioglútea izquierda que se intensifica con actividades como carreras, saltos, subir escaleras y largas caminatas y que se ha ido incrementando paulatinamente causándole molestias para sentarse y tener relaciones sexuales.

Fue visto en varias consultas de su área de salud donde se le diagnosticó una masa tumoral ósea pélvica que se proyectaba sobre la región isquiática izquierda. Con el diagnóstico de una posible miositis osificante se le prescribieron varios tratamientos con indometacina y fisioterapia, a pesar de lo cual se mantuvo la misma sintomatología. Por tal motivo fue remitido a nuestro centro donde se decidió su ingreso para estudio y tratamiento.

Al examen físico se constata una masa tumoral sobre la tuberosidad isquiática izquierda, de consistencia dura, no movible, dolorosa a la palpación, que le causa limitación dolorosa de los movimientos de flexión y extensión de la cadera.

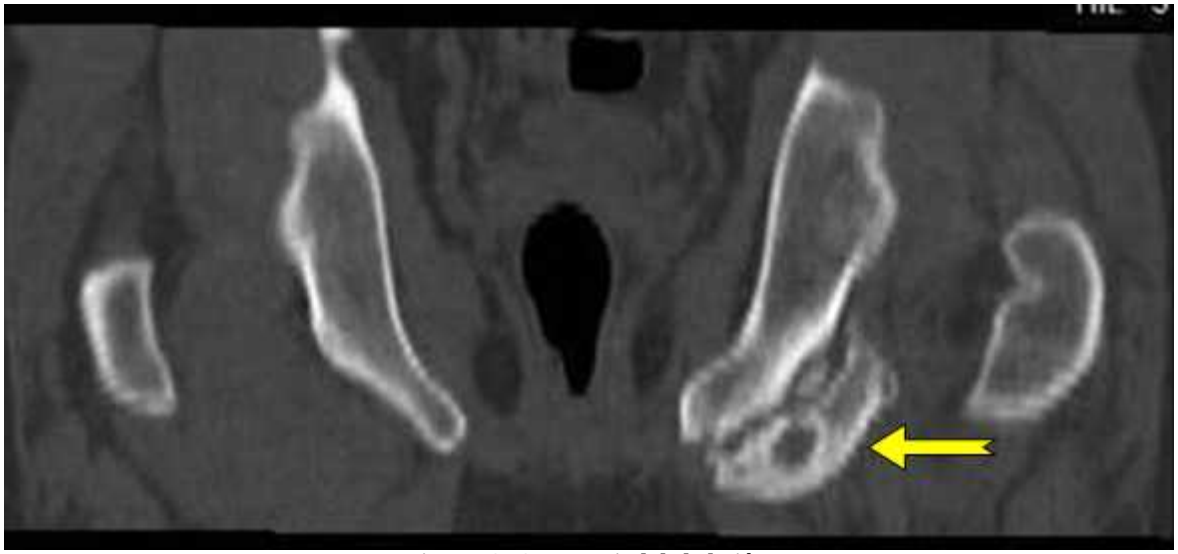
Se le solicitan estudios de laboratorio como hemograma, eritrosedimentación, fosfatasa alcalina, fosfastasa ácida, calcio sérico,

fósforo, etc... Los resultados están dentro de los límites normales. Se le realiza una tomografía computerizada: En los cortes axiales se observa una imagen de densidad ósea que se proyecta por debajo y lateralmente al isquion, pero independiente de este, con su centro radiotransparente y sus bordes irregulares (Figura 1). Se observa que la imagen de apariencia tumoral se mantiene separada del isquion (Figura 2).

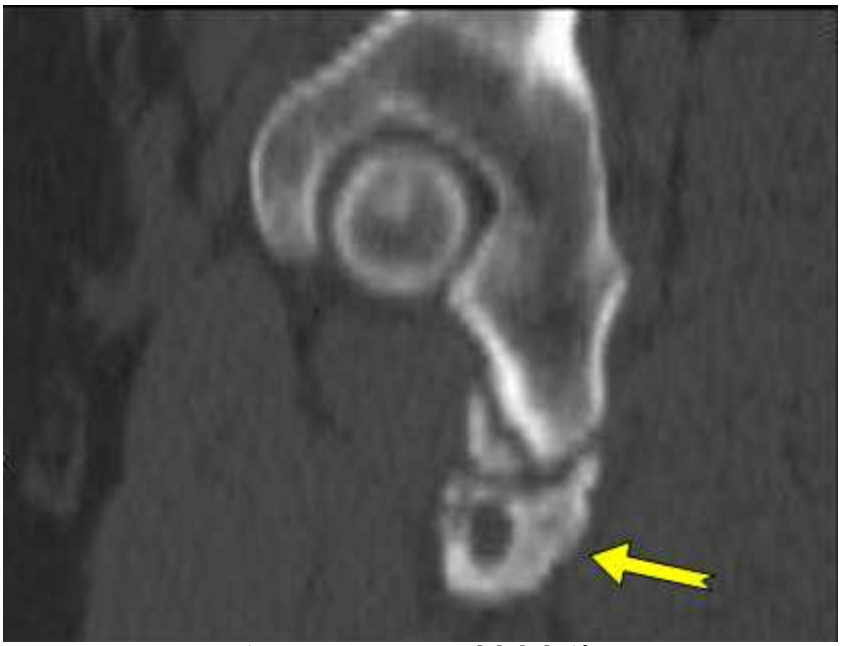
Figura 1: cortes axiales

Figura 2: Centro de la lesión e imagen tumoral " separada" del isquion.

Los cortes sagital y coronal de la lesión, así como la recostrucción topográfica se muestran a continuación (Figuras 3-6).



Figuras 3: Corte sagital de la lesión.



Figuras 4: Corte coronal de la lesión.

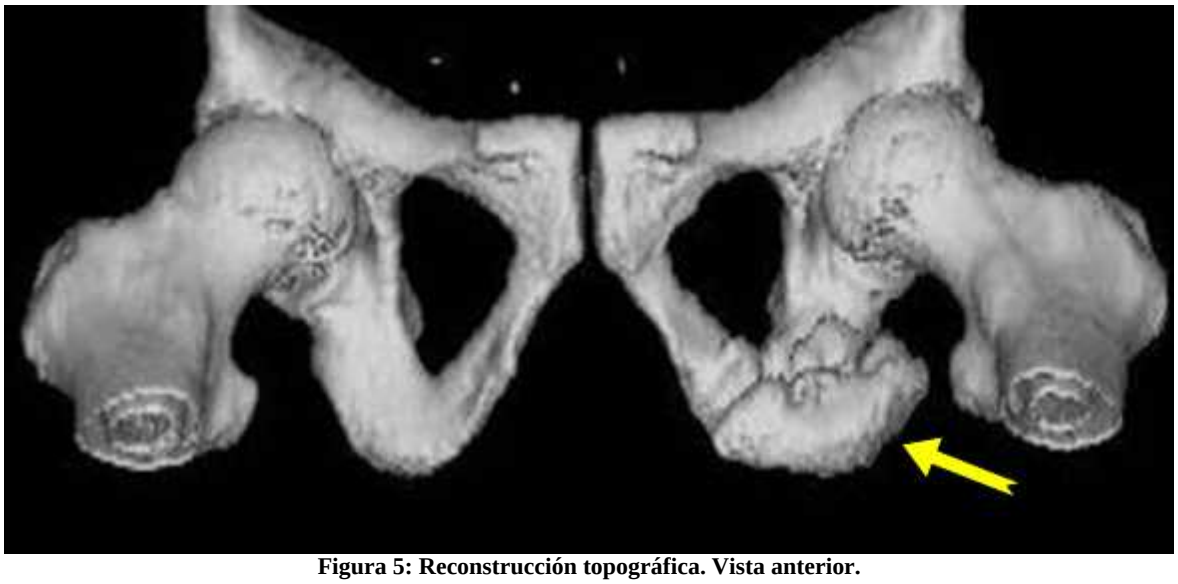


Figura 5: Reconstrucción topográfica. Vista anterior.

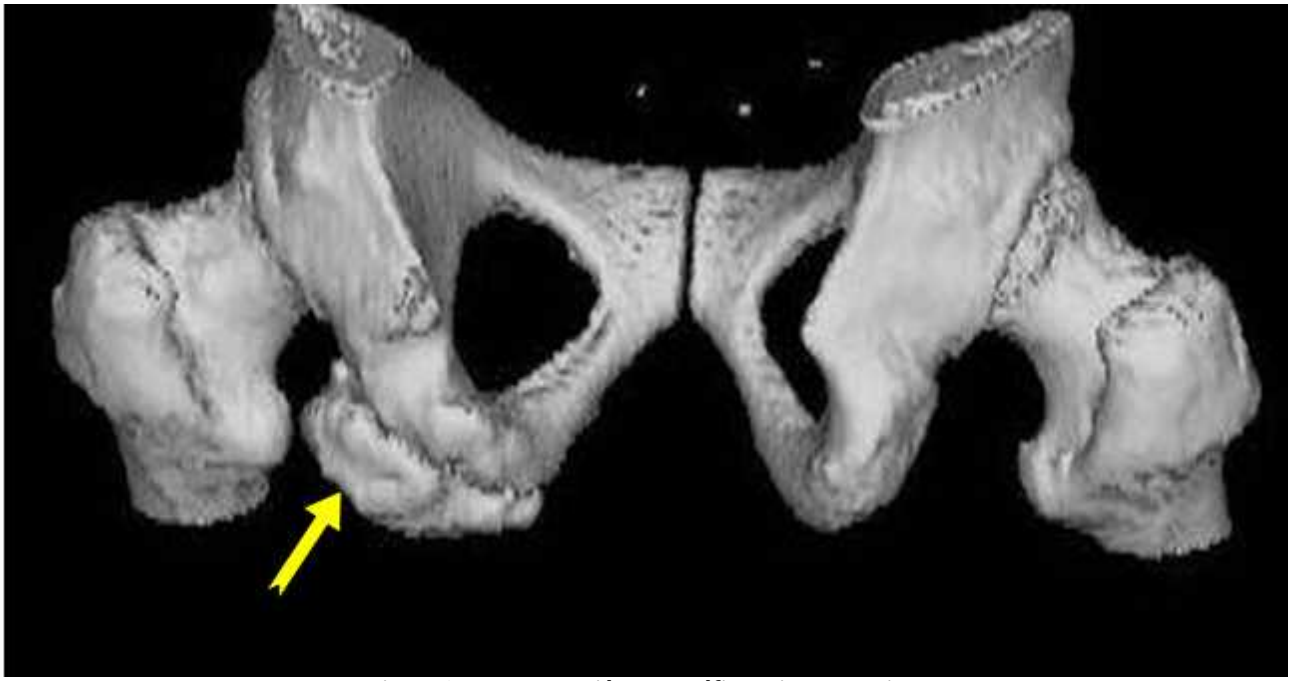


Figura 6: Reconstrucción topográfica. Vista Posterior.

Tras finalizar el estudio se descartó que fuese una lesión tumoral y se plantearon dos diagnósticos: una avulsión de la tuberosidad isquiática, la cual había evolucionado formando una masa ósea que se encontraba independiente del isquion, o una miositis osificante de la inserción de los músculos isquiotibiales.
Debido a que el paciente había llevado numerosos tratamientos médicos y rehabilitadores sin mejoría alguna, se decidió su intervención quirúrgica realizando un abordaje de Radley modificado con resección de toda la masa ósea. El resultado anatomopatológico informó que se trataba de tejido óseo normal, sin alteraciones histológicas, descartándose, por tanto, la miositis osificante al no estar presente el patrón por zona que es característico de esta enfermedad.
Tras la intervención quedó una fístula en la zona del drenaje que se cerró espontáneamente con posterioridad. Con rehabilitación, el paciente evolucionó satisfactoriamente.

DISCUSION

La falta de un diagnóstico inicial obliga a plantear el diagnóstico diferencial con un tumor óseo (encondroma, osteocondroma, condrosarcoma). La imagen que se presenta en una avulsión traumática de la apófisis es de una tumoración irregular fusiforme, de tamaño variable, en íntimo contacto con el hueso y que muestra una cortical intacta, mientras que los sarcomas se extienden del centro a la periferia y a veces interrumpen dicha cortical.

Las avulsiones traumáticas de las apófisis de la pelvis y del extremo proximal del fémur se deben a una fuerte contractura de los músculos que en ellas se insertan después de actividades deportivas o como consecuencia de movimientos bruscos incoordinados. Por ello, no es raro que este tipo de lesiones incida más en varones.

El diagnóstico definitivo se realiza mediante la exploración radiológica. Es necesario obtener imágenes de gran calidad de toda la pelvis. Así mismo, las proyecciones axiales y oblicuas deben ser de ambas caderas para hacer un estudio comparativo. El tratamiento de estas avulsiones es principalmente conservador y sólo serán intervenidos quirúrgicamente aquellos casos que requieran mejorar la sintomatología dolorosa o irritativa[8].

REFERENCIAS

1. Dosani A, Giannoudis PV, Waseem M, Hinsche A, Smith RM. Unusual presentation of sciatica in a 14-year-old girl. Injury. 2004;35:1071-1072

2. Salvi AE, Metelli GP, Corona M, Donini MT. Spontaneous healing of an avulsed ischial tuberosity in a young football player. A case report. Acta Orthop Belg. 2006;72:223-225.

3. Kaneyama S, Yoshida K, Matsushima S, Wakami T, Tsunoda M, Doita M. A surgical approach for an avulsion fracture of the ischial tuberosity: a case report. J Orthop Trauma. 2006;20:363-365.

4. Gidwani S, Jagiello J, Bircher M. Avulsion fracture of the ischial tuberosity in adolescents--an easily missed diagnosis. BMJ. 2004;329:99-100.

5. Proubasta Renart I, Ardila Cuervo C, Delgado López F, Perafán Campo P. Avulsiones traumáticas de la pelvis y del extremo proximal del fémur. Rev Colomb Ortop Traumatol. 1988; Disponible en: URL: http://www.encolombia.com/ortopedia2288avulsiones.htm [29/02/2008]

6. Proubasta RI, Roig Vancells M, Mata J, Palacio A. Epifisiolisis traumática del isquión. Barcelona - Quirúrgica 1985; 28: 40-44.

7. Barnes S.T., Hinds R.B.: Pseudotumor of the ischium, a late manifestation of avulsion of the ischial epiphysis. J Bone Joint Surg. 1972; 54a: 645-647.

8. Shlonsky J., Olix M.L.: Functional disability following avulsion fracture of the ischial epiphysis. J Bone Joint Surg 1972; 54A: 641-643.

Correspondencia:
Dr. Alfredo Martín Acosta Inguanzo1,
Ortopedia y Traumatología. Cortina 504½ apto 8. 10 de Octubre. Ciudad Habana. Cuba. CP 10500
alfredoacos @ infomed.sld.cu

Recibido 19 de mayo de 2007.
Publicado 3 de marzo de 2007