

Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*.

TAMARIZ ORTIZ, Jesús Humberto *, CAPCHA MENDOZA, Roberto**, PALOMINO CADENAS, Edwin Julio***, AGUILAR OLANO, José**.

SUMMARY

Actually it is accepted the pathogenic role of *Helicobacter pylori* in the generation of gastritis and gastric ulcer, as well as the direct relation among the eradication of the bacteria and the absence of complications and subsequent recurrences. Considering the anti-ulcerogenic activity attributed to the “Sangre de grado” (*Croton lechleri*). **Objective:** To determine the antibacterial activity of the “sangre de grado” against the bacteria. **Material and methods:** Our work has been done with 41 strains of *Helicobacter pylori* of clinical origin and four different presentations of “Sangre de grado”. In a first phase the inhibiting effect of the growth was determined in a qualitative way. Subsequently the minimum inhibitory concentration was determined (MIC) as well as the minimum bactericide concentration (CMB) of the “Sangre de grado” against the bacteria. **Results:** The results shown that the “Sangre de grado” in high concentrations inhibits the growth of *Helicobacter pylori*. The antibacterial effect of the concentrated product was determined. **Conclusion:** These results suggest that the healing activity of “Sangre de grado” tested in previous studies and complemented with the antibacterial activity determined in the present study, would be the responsible for the curative capacity of this product in gastric ulcers. (*Rev Med Hered* 2003; 14:81-88).

KEY WORDS : Sangre de grado, *Helicobacter pylori*, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration, minimum bactericide concentration

RESUMEN

Actualmente ha sido aceptado el rol patogénico de *Helicobacter pylori* en la generación de gastritis y úlcera gástrica, así como la relación directa entre la erradicación de la bacteria y la ausencia de complicaciones y posteriores recurrencias. Considerando la actividad anti ulcerosa atribuida a la “sangre de grado” (*Croton lechleri*). **Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana de la sangre de grado frente a la bacteria. **Material y métodos:** Se trabajó con 41 cepas de *Helicobacter pylori* de origen clínico y cuatro presentaciones de sangre de grado. En una primera etapa se determinó de manera cualitativa el efecto inhibitor del crecimiento, posteriormente se determinó la concentración mínima inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida (CMB) de la sangre de grado frente a la bacteria. **Resultados:** Los resultados muestran que la sangre de grado inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori* en concentraciones elevadas, también se determinó el efecto bactericida del producto concentrado. **Conclusión:** Estos resultados sugieren que la actividad cicatrizante de la sangre de grado probada en estudios anteriores y complementada con la actividad antibacteriana determinada en el presente estudio, serían las responsables de la capacidad curativa de este producto frente a las úlceras gástricas. (*Rev Med Hered* 2003; 14:81-88)

PALABRAS CLAVE : Sangre de grado, *Helicobacter pylori*, actividad antibacteriana- concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida

* Escuela de Tecnología Médica – Facultad de Medicina - UPCH

** Laboratorio Inmunología – Departamento Microbiología - UPCH

*** Universidad Santiago Antunez de Mayolo - Ancash

INTRODUCCIÓN

La gastritis y la úlcera péptica son enfermedades ampliamente difundidas en el mundo (1,2). Desde inicios de siglo se trató de identificar sus factores causales, siendo la contribución más importante al respecto, la de Warren y Marshal que en 1982 describieron un organismo espirilar Gram negativo en estrecha asociación con la presencia de gastritis antral, úlcera gástrica y duodenal, llegando a la conclusión que su erradicación eliminaba las recurrencias. Desde entonces, la úlcera péptica es considerada por algunos investigadores, de etiología infecciosa. Estos mismos autores anotaron que esta relación no existe con la dispepsia no ulcerosa (3,4).

Actualmente se sabe que *Helicobacter pylori* cumple un reconocido rol patogénico en la úlcera duodenal, donde la prevalencia de la infección es de 90 a 95%. De otro lado, también se ha reconocido el rol patogénico de la bacteria en la úlcera gástrica, en la cual la infección ocurre con una prevalencia del 60% a 80%, aunque en este caso prevalecen dos causas (*Helicobacter pylori* y AINEs) y muchos pacientes pueden presentar ambas (3).

Muchos estudios clínicos han demostrado que la erradicación del *Helicobacter pylori* altera la historia natural de la enfermedad ulcerosa y que la recurrencia de la úlcera luego de la erradicación de la bacteria, es rara. Además, se ha observado que su erradicación puede prevenir el sangrado de la úlcera (3,5).

Estudios en la población peruana han demostrado que en nuestro medio la bacteria se presenta en el 91% de los casos de gastritis crónica activa, 73% de pacientes con úlcera gástrica y 87% en casos de úlcera duodenal (5,6).

Por otra parte *Helicobacter pylori* implicado desde su aislamiento, en diversas afecciones gastrointestinales, fue clasificada en 1992 como agente carcinogénico (Agencia Internacional para la investigación del Cáncer IARC - 1994). Esta agencia auspiciada por la OMS, ha categorizado a la infección por *Helicobacter pylori* como un carcinógeno clase I, notificando que la proporción de nuevos casos de cáncer gástrico atribuibles a la bacteria, asciende a más de 300,000 casos al año en todo el mundo. El grupo de estudio Eurogast determinó que la presencia del *Helicobacter pylori* confiere aproximadamente 6 veces más riesgo de cáncer gástrico frente a aquellos que no la presentan (7,8).

Existen dos cánceres asociados con *Helicobacter*

pylori: el carcinoma gástrico y el linfoma de la mucosa asociada con tejido linfoide (MALT). En el primer caso, de los dos tipos histológicos existentes de cáncer gástrico (el llamado difuso o anaplásico y el intestinal o adenocarcinoma bien diferenciado), es este último el que presenta una prevalencia en ascenso (epidémico) en el tercer mundo y se encuentra fuertemente asociado al *Helicobacter pylori*; sin embargo ambos tipos tienen mayor prevalencia en personas infectadas con la bacteria (8,9).

En el caso del linfoma de la mucosa asociada con tejido linfoide (MALT) pueden precederse cambios malignos, que más tarde causarían un linfoma gástrico de grado bajo. Estudios biopsicos retrospectivos muestran que el 90% de los linfomas MALT, están asociados con la presencia de *Helicobacter pylori*.

Los estudios de seguimiento sugieren que los mecanismos inmunes del organismo contra *Helicobacter pylori* inducen atrofia gástrica, una lesión avanzada asociada al posterior desarrollo de cáncer de estómago (8). Además, respecto a los mecanismos carcinogénicos, la intensa amonemia resultante de la actividad de la ureasa, puede promover la división celular. De otro lado, la excesiva producción de metabolitos reactivos de oxígeno podrían conducir al daño del DNA y a mutaciones moleculares posteriores (9,10).

Debido a la alta prevalencia de *Helicobacter pylori* a nivel mundial, ésta ha llegado a ocupar el segundo lugar de todas las enfermedades infecciosas que se conocen. Se calcula que en los países en desarrollo afecta a cerca del 20% de las personas menores de 40 años y al 50% de las personas mayores de 60 años de edad.

La presencia de *Helicobacter pylori*, es más frecuente en poblaciones de estrato social bajo y su prevalencia en niños incrementa el riesgo de transmisión a la población adulta, principalmente entre miembros familiares (11). En el Perú se ha encontrado igual prevalencia de la infección en todos los grupos socioeconómicos, con excepción de mujeres de alto nivel socioeconómico (12). Del mismo modo en nuestro país se ha demostrado que la infección en niños se produce en edades más tempranas que en el resto del mundo (6).

Sangre de Grado, (*Croton lechleri*) árbol de gran tamaño (entre 10 a 20 metros) que crece a lo largo de los trópicos y las regiones del Amazonas de América del Sur, contiene una resina roja o "sangre", la cual junto con su corteza tienen una larga historia de uso indígena en América del Sur. La usan las tribus

indígenas en nuestro país internamente y externamente como cicatrizante de heridas, leucorrea, fracturas (13,14,15,16) y también en la medicina folclórica Brasileña, para enfermedades intestinales y úlceras gástricas (15,18).

Otros usos indígenas incluyen baños vaginales antes de la menarquia (16), hemorragias después de las menarquia (17), desórdenes de la piel (18,19), duchas vaginales antisépticas, para las heridas y úlceras en la boca, garganta y estómago (18), así como para los desórdenes superficiales como el eczema (20,22).

Puesto que mucha de la investigación en Sangre de Grado se ha realizado en países en vías de desarrollo, gran parte de ésta no ha sido publicada. Además de ello, la mayoría de los estudios han estado orientados a la determinación de sus componentes y no tanto en relación a sus propiedades, menos aún sobre sus propiedades antibacterianas.

Algunos principios activos de Sangre de Grado han sido identificados, e incluyen proantocianinas (antioxidantes), taninos, un língan de nombre Dimetil cedrusina, y un alcaloide llamado Taspina. El alcaloide Taspina ha sido documentado como cicatrizante, antiinflamatorio, actividad contra el desarrollo de sarcomas y acción antiviral (específicamente contra Herpesvirus) (23). Varios estudios entre 1991 y 1993 también le confieren propiedades antitumorales in vitro (24). Málaga en 1991 demostró el efecto cicatrizante de Taspina en úlceras gástricas agudas inducidas por Indometacina en ratas, sugiriendo que este efecto se debería a la estimulación de la migración de fibroblastos, actividad atribuida al clorhidrato de Taspina (27).

En 1994, se encontraron otros fitoquímicos, incluyendo los compuestos fenólicos, proantocianinas y diterpenos que mostraron actividad antibacteriana potente así como propiedades curativas de heridas (25).

Estudios realizados por Chen y col. en Bélgica revelaron que la resina cruda estimuló la curación de heridas, ayudando a la formación de una cicatriz en el sitio de la herida, acelerando la regeneración de la piel y la formación de nuevo colágeno (26).

En este sentido, tomando en consideración la importancia de *Helicobacter pylori* en la generación de úlceras gástricas y duodenales, y la información existente sobre las propiedades curativas de la Sangre de Grado frente a estas afecciones, y motivado por la necesidad de productos alternativos que contribuyan a la prevención y erradicación de esta enfermedad, se realizó el presente trabajo de investigación que tuvo

como objetivo determinar in vitro, la actividad antibacteriana de la sangre de grado, frente a *Helicobacter pylori*.

MATERIALES Y METODOS

MUESTRA BIOLÓGICA

Se emplearon 41 cepas de *Helicobacter pylori* aisladas de muestras clínicas (biopsias gástricas), las mismas que fueron reconstituidas en agar Columbia (Remel Lanexa) con 5% de sangre de carnero mas suplemento Skirrow (Vancomicina 2.0 mg, Polimixina 50 ug, Trimetoprim 1 mg), las placas fueron incubadas en microaerofilia con generadores para tal fin, por un periodo de cuatro a cinco días. Las colonias obtenidas fueron identificadas mediante coloración Gram, prueba oxidasa, catalasa y ureasa, siendo positivas a todas ellas.

VARIEDADES DE SANGRE DE GRADO

Se emplearon cuatro presentaciones diferentes de Sangre de Grado:

- a) Látex libre de solventes brindado por laboratorios Química Suiza código 901200083.
- b) Látex libre de solventes obtenido en la Ciudad de Tarapoto, proporcionado por un alumno de la Escuela de Tecnología Médica – UPCH, oriundo de la zona.
- c) Sangre de grado comercial marca “Dragón” , comprado en un centro naturista de la Av. Tacna en Lima .
- d) Sangre de grado obtenido en un puesto ambulatorio Naturista del Distrito de Breña en Lima .

En todos los casos se empleó la sangre de grado tal y como fue recibida de sus fuentes originales.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

MÉTODO DE DIFUSIÓN

Una primera etapa estuvo orientada a la determinación cualitativa de la actividad antibacteriana, para tal fin se empleó el método de difusión de discos, empleando como medio de cultivo agar Columbia con 5% de sangre de carnero (obtenida del Instituto Nacional de Salud), con suplemento adicional de 1% de IsoVitalex (BBLTM – Becton Dickinson and Co.).

Sobre la superficie del medio, se inocularon las cepas

de *Helicobacter pylori* con hisopos estériles a partir de una suspensión en suero fisiológico con turbidez equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/ml), seguidamente se colocaron discos de papel filtro estériles de tamaño estándar, a los que se añadió 10 µL de sangre de grado de cada una de las presentaciones por separado.

Las placas fueron incubadas a 37°C en condiciones de microaerofilia por un periodo de tres a cuatro días, luego de los cuales se midieron los halos de inhibición producidos alrededor del disco.

Se incluyeron controles de crecimiento: discos estériles embebidos en suero fisiológico.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA

Para la determinación de la concentración inhibitoria mínima, se realizó la prueba de dilución en microplacas, para tal fin se empleó agar Columbia con 5% de sangre de carnero, suplementado con 1% de Isovitalex. A este medio se añadió la sangre de grado de las diversas procedencias en diluciones de: 1:2, 1:4, 1:8, 1:10, 1:25, 1:50, 1:100, considerando en cada caso la cantidad de medio de cultivo para el volumen final.

2 ml del medio fueron vertidos en placas para cultivos celulares de 24 pocillos (6 X 4). Incluyéndose un pocillo con medio de cultivo libre de sangre de grado, como control positivo de crecimiento para cada cepa testada.

Preparado el medio en las condiciones habituales de esterilidad, fue expuesto a luz ultravioleta por dos horas e incubadas a 37°C por 24 horas a fin de descartar contaminación.

El inóculo empleado fue preparado en tubo 13X100 con 4 ml de suero fisiológico estéril, al que se le añadieron colonias de *Helicobacter pylori* hasta alcanzar una turbidez equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de Mc Farland (aproximadamente 1.5×10^8 UFC/ml), se realizó una dilución 1:10 de este tubo a partir del cual se extrajo 10 µl de muestra (1.5×10^5 UFC/ml) que fue el inóculo final.

El inóculo final fue depositado sobre la superficie de las placas con el medio de cultivo en concentraciones decrecientes y estas fueron incubadas en microaerofilia a 37 °C por un periodo de tres a cuatro días, luego del cual se extrajeron las placas para observar el crecimiento microbiano en la superficie de las placas. Las colonias fueron sometidas a coloración Gram, prueba de oxidasa y ureasa.

Se consideró como el MIC, la concentración más baja de sangre de grado que inhibió el crecimiento visible de la bacteria.

DETERMINACION DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

Una vez determinada la CIM, se procedió a determinar la concentración mínima bactericida de la Sangre de Grado frente a *Helicobacter pylori*. Se realizaron diluciones decrecientes de sangre de grado en caldo BHI (1:2, 1:4, 1:6), así mismo se empleó un tubo estéril con 2 ml de sangre de grado pura y otro de caldo BHI puro como control de crecimiento.

Se inoculó a cada tubo una misma concentración de *Helicobacter pylori* (10^5 UFC), estos medios fueron incubados en condiciones de microaerofilia a 37 °C por 24 horas. Luego de este tiempo se extrajeron 100 µl del medio de cultivo que fueron sembrados en placas de agar Columbia con 5% de sangre de carnero suplementado con 1% de IsoVitalex, estas placas fueron incubadas hasta por siete días en condiciones de microaerofilia a 37°C.

Luego del período de incubación las placas fueron revisadas para evidenciar crecimiento de la bacteria, se consideró como la CMB a la menor concentración a partir de la cual no se recuperaba a la bacteria.

RESULTADOS

MÉTODO DE DISCOS DE DIFUSIÓN

Los resultados muestran un efecto inhibitor del crecimiento de *Helicobacter pylori* por las cuatro presentaciones de Sangre de Grado, sin embargo diferentes presentaciones de sangre de grado pueden tener diferente actividad antibacteriana, así tenemos que el halo de inhibición producido por la Sangre de Grado proporcionado por los laboratorios Química Suiza varía entre 12 a 18 mm de diámetro, con un promedio de 15.56 mm, mientras que la Sangre de Grado proveniente de la ciudad de Tarapoto, produjo un halo de inhibición que varía entre 11 a 17 mm de diámetro con una media de 14.98 mm.

En el caso de la sangre de grado comercial (marca Dragón) el halo de inhibición varía entre 11 y 17 mm de diámetro, con un promedio de 14.68 mm, finalmente con la sangre de grado procedente de un puesto naturista del distrito de Breña el halo de inhibición varía entre 11 y 16 mm de diámetro, con promedio de 14.22 mm.

El análisis estadístico de los resultados mostró que

esta diferencia fue altamente significativa entre los resultados obtenidos a partir del producto proporcionado por Laboratorios Química Suiza y el Centro Naturista ($p < 0.0001$), una diferencia significativa entre los resultados de la Sangre de Grado de Química Suiza y la Sangre de Grado marca Dragón ($p < 0.01$), así también una diferencia significativa entre los resultados con la Sangre de Grado proveniente de Tarapoto y del centro naturista ($p < 0.01$).

No se ha encontrado diferencia estadísticamente significativa entre los resultados obtenidos entre el producto de Laboratorios Química Suiza y el Producto proveniente de Tarapoto, entre la Sangre de Grado marca "Dragón" y la del centro naturista, tampoco entre la Sangre de Grado proveniente de Tarapoto con la de marca "Dragón".

DETERMINACION DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)

Los resultados obtenidos en las pruebas de determinación de la concentración mínima inhibitoria muestran que el efecto inhibitorio de Sangre de grado frente a *Helicobacter pylori* se da a las mayores concentraciones. La CIM de las diferentes presentaciones de sangre de grado varía entre el producto puro (sin diluir) y la dilución de 1:8. Diluciones iguales o superiores a 1:10 no muestran efecto inhibitorio del crecimiento de la bacteria.

Los resultados obtenidos de acuerdo a la procedencia de la sangre de grado muestran diferencias, al igual que en la determinación cualitativa, así tenemos que para el caso de la sangre de grado proporcionada por Laboratorios Química Suiza, el MIC_{90} (concentración que inhibe al 90 de cepas testadas) fue el producto puro (concentrado), el MIC_{50} (concentración que inhibe al 50 de cepas testadas) fue la dilución de 1:2.

Para las otras presentaciones de sangre de grado (proveniente de Tarapoto, comercial de marca Dragón y la de expendio ambulatorio) el MIC_{90} y MIC_{50} fue en todos los casos el producto concentrado, como se puede observar en la tabla N° 1.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

Los resultados obtenidos muestran un efecto bactericida de la sangre de grado concentrada (producto puro) frente a *Helicobacter pylori*. Estos resultados se repiten de manera similar con todas las presentaciones evaluadas.

Sin embargo se ha determinado que la sangre de grado diluida pierde su efecto bactericida. Los resultados muestran que el producto a partir de la dilución $\frac{1}{2}$ y las posteriores, no presentan efecto bactericida, estos resultados se repiten para cualquiera de las presentaciones de la sangre de grado evaluadas.

DISCUSIÓN

En la actualidad está ampliamente aceptado que *Helicobacter pylori* es el agente etiológico de una infección, que se expresa a través de diferentes formas clínicas: gastritis, enfermedad ulcerosa e inclusive un tipo histológico de cáncer gástrico. Por lo tanto resulta evidente la necesidad de abordar el problema mediante una terapia de erradicación de la bacteria.

Para ello existen diferentes esquemas de tratamiento antimicrobiano, pero la aplicación a gran escala de regímenes de antibióticos es costosa y presenta dificultades relacionadas con la aceptación de los pacientes, efectos colaterales, seguimiento del régimen de tratamiento y también aparición de resistencia a los antibióticos que puede conducir a la disminución a mediano o largo plazo de la efectividad de este enfoque de tratamiento para esta importante afección.

En tal sentido surge la necesidad de alternativas de tratamiento a los antimicrobianos existentes. Una opción a considerar son el uso de productos naturales, que en los últimos tiempos están alcanzando niveles mayores de aceptación, ello debido a su accesibilidad económica, baja tasa de efectos colaterales y la difusión de sus efectos benéficos, ejemplo de ello es la Sangre de Grado, motivo de esta investigación.

Los resultados de este estudio demuestran que la Sangre de grado tiene actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori*, así mismo se ha demostrado que para el producto concentrado, este efecto es de tipo bactericida y no solo bacteriostático. Así también, los resultados indican que el efecto antibacteriano se da a concentraciones elevadas del producto y que no la hemos evidenciado a diluciones de 1/10 o mayores.

Estudios anteriores han mostrado que la sangre de grado tiene efecto positivo en el tratamiento de las úlceras gástricas y la gastritis (13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24). La actividad curativa estaría relacionada con el efecto cicatrizante del Clorhidrato de Taspina, producto de la estimulación en la migración de los fibroblastos, como ha sido probada por Málaga y Vaisverg respectivamente (27).

Esta propiedad cicatrizante de la sangre de grado podría ser complementada con la actividad antibacteriana que

conllevaría a la disminución o erradicación de *Helicobacter pylori*, con lo que se eliminaría la alteración producida a nivel de la mucosa gástrica por la colonización de la bacteria.

Algunos estudios han mostrado que la sangre de grado a concentraciones mayores de 1:300, tienen efecto citotóxico sobre las células de la mucosa gástrica (22,24). La dosis usual en los nativos de la amazonia es bastante diluida (aproximadamente tres gotas en un vaso de agua o una cucharada pequeña en un litro de agua) obviamente mucho mas diluida que la concentración que inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori*, según lo muestran nuestros resultados. Aparentemente ello nos conduce a una discrepancia entre la actividad antibacteriana de sangre de grado y sus efectos terapéuticos en gastritis y úlcera gástrica.

Al respecto Miller y col. (24) realizaron un estudio *in vivo* en el que experimentalmente produjeron úlceras en estomago de ratas y luego las trataron con diluciones de 1:1000 y 1:10,000 de sangre de grado (equivalente a las empleadas por los nativos amazónicos). Sus resultados evidenciaron disminución de la flora bacteriana estadísticamente diferente a los controles no tratado con sangre de grado, en este estudio se consideró únicamente enterobacterias y no *Helicobacter pylori*. El mismo estudio mostró que la sangre de grado además de su potente actividad antibacteriana *in vivo*, reduce la actividad de la enzima Mieloperoxidasa, así como reducción en el tamaño de la úlcera gástrica, y la disminución de la expresión de genes proinflamatorios: factor de necrosis tumoral- α , Oxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), Interleukina 1 β , Interleukina-6 y Ciclooxygenasa-2, principalmente iNOS e IL-6. Comparando esta actividad *in vivo* frente a los resultados obtenidos con Ampicilina, sus resultados muestran que la dilución de sangre de grado 1:1000, es más efectiva que los resultados obtenidos con Ampicilina en la dosis terapéutica, además que el efecto antibacteriano de sangre de grado esta acompañado por una disminución de la inflamación, lo que no ocurre con la Ampicilina.

Por otra parte, Elliot y col. (25) realizando un estudio *in vitro*, encontraron que la sangre de grado tiene un efecto inhibitor del crecimiento de *Escherichia coli*, hasta en una dilución de 1:10, y que a 1:100, el efecto inhibitor no se manifiesta. Resultados similares a los nuestros con *Helicobacter pylori*, que nos llevaría a postular que la actividad antibacteriana se potencia notablemente *in vivo*, acompañado por factores inmunológicos que posibilitarían tal efecto. Ello se ratifica por la descripción de Elliot y col. de un factor "epidermal" de crecimiento y la evidencia de los

cambios en la absorbancia UV, cuando la sangre de grado es mezclada con la secreción gástrica, lo que sugiere una interacción que alteraría el microambiente gástrico transformándolo en un medio incompatible con el crecimiento de la bacteria (26).

El efecto antibacteriano, a concentraciones elevadas de sangre de grado frente a *Helicobacter pylori*, no disminuye la importancia de este producto natural en el tratamiento efectivo de las afecciones causadas por esta bacteria, como es explicado en los párrafos anteriores. Al respecto se debe considerar también que, la sangre de grado está compuesta por diversos componentes: proantocianinas (antioxidantes), taninos, un lignan de nombre dimetil cedrusina, y un alcaloide llamado Taspina, entre otros. Uno o más de los cuales presentaría un efecto antibacteriano, pero que su actividad se encuentra disminuida por su dilución entre los demás componentes de la sangre de grado.

El estudio que presentamos, tiene como ventaja frente a los anteriores que se trabajó directamente con *Helicobacter pylori*, agente etiológico de la gastritis y úlcera, así mismo la metodología empleada (métodos de referencia para evidenciar efecto antibacteriano), nos permitió determinar la concentración mínima inhibitoria y la actividad bactericida de la sangre de grado.

Los resultados obtenidos, atribuyen efecto inhibitor del crecimiento a las distintas presentaciones de sangre de grado incluidas en el presente estudio, sin embargo existen diferencias notables en la actividad antibacteriana entre estos productos, observándose la mayor diferencia entre el producto proveniente de Laboratorios Química Suiza y el obtenido de un centro naturista, tal como se muestra en los resultados.

Asumimos que estas diferencias se podrían deber a la pureza del producto, y su origen, pues se sabe que existen diversas especies del género *Croton* y las propiedades curativas son atribuidas a la especie *Croton lechleri*, para el caso de la sangre de grado donada por Química Suiza y la proveniente de la ciudad de Tarapoto, su pureza y origen se encuentran garantizadas, y los resultados analíticos muestran que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano de estas dos presentaciones.

La menor actividad inhibitora de la sangre de grado marca Dragón y la obtenida del centro naturista, respondería a que en estos casos el producto pudo haber sido suspendido en algún solvente, lo cual disminuiría su actividad antibacteriana o provenga de otra especie del género.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, estimulan a continuar las investigaciones sobre diversos aspectos todavía desconocidos: actividad antibacteriana de los componentes de la sangre de grado frente a *Helicobacter pylori*, estudios *in vivo* con el modelo animal adecuado que permitan dilucidar la incógnita existente sobre los factores y mecanismos involucrados en la diferencia entre la actividad *in vitro* e *in vivo*, además de su actividad frente a otras especies bacterianas.

Estudios de esta naturaleza permitirán mejorar el tratamiento, estandarizarlo con el soporte de evidencia científica y difundirlo; posibilitando con ello ampliar la cantidad de beneficiados, con un producto de bajo costo, sin efectos adversos, elevada efectividad y ampliamente difundido en nuestro territorio, inclusive fuera de la amazonia.

Agradecimientos: Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONCYTEC, por haber financiado el estudio.

Al Dr. Raul Leon Barua por su invaluable apoyo profesional brindado para la presentación de este trabajo

Correspondencia:

Jesús Tamariz Ortiz
Facultad de Medicina "Alberto Hurtado"
Universidad Peruana Cayetano Heredia
Av. Honorio Delgado s/n Urb Ingeniería
San Martín de Porres Lima Peru

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Feldman M. *Helicobacter pylori* and the Etiology of Duodenal Ulcer: Necessary but Not Sufficient. *Am J Med* 1991;91:563-5.
- Novartis Biosciences Perú S.A Enfermedad Ácido Péptica (Monografía Zurcal®) 1997; 27-33.
- Labenz J, Guillenburg B. Long term consequences of *Helicobacter pylori* eradication: clinical aspects. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996; 215 : 111-115.
- Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 173.
- Ramírez-Ramos, León-Barúa R, Gilman RH, et al. *Helicobacter pylori* and gastritis in Peruvian patients : relationship to socioeconomic level, age and sex. *Am J Gastroenterol* 1990; 85(7) : 819-23.
- Klein P. The Gastrointestinal Physiology Working Group of Cayetano Heredia and the Johns Hopkins Universities, Graham D, et al High prevalence of *Campylobacter pylori* (CP) infection in poor and rich Peruvian children determined by 13C-urea breath test (13C-UBT). *Gastroenterology* 1989; 96 : A260.
- EUROGAST Study Group. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet* 1994; 341: 1359-62.
- Forman D. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Scand J Gastroenterol* 1996; 215: 48-51.
- Forman D, Newell DG, Fullerton F et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence of a prospective investigation. *Br Med J* 1991; 302:1302-5.
- Brener T Sudhop T. Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Germany. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996 ; 89 (1) : 47-52.
- Ramírez Ramos A, Gilman RH, Recaverren S, et al. Detección del *Campylobacter pilorico* en pacientes con enfermedades gastroduodenales. *Acta Gastroent Latin American* 1986; 16 : 9-22.
- Ramírez Ramos A, Gilman RH, Recavarren S, et al . *Campylobacter pylori*, gastritis crónica, duodenitis crónica úlcera gástrica y úlcera duodenal . *Arq Gastroent Sao Paulo* 1987 ; 24 : 10-5.
- Vasquez, M. R., *Useful Plants of Amazonian Perú*. Second Draft. Filed with USDA's National Agricultural Library. U, 1990.
- Piles Rutter, R.A. *Catalogo de Plantas Utiles de la Amazonia Peruana*. Instituto Linguistico de Verano. Yarinacocha, Perú.(5) 1990.
- Duke, James & Vasquez, Rudolfo, *Amazonian Ethnobotanical Dictionary*, CRC Press Inc.: Boca Raton, FL, 1994.
- Maxwell, Nicole, *Witch Doctor's Apprentice, Hunting for Medicinal Plants in the Amazon*, 3rd Edition, Citadel Press: New York, NY. 1990.
- Rios, Marlene Dubkin de, *Amazon Healer, The Life and Times of an Urban Shaman*. Avery Publishing Group, Carden City Park, NY 1992; (268).
- Phillipson JD. A matter of some sensitivity. *Phytochemistry*, 1995.
- Kember Mejia and Elsa Reng, *Plantas medicinales de uso popular en la Amazonia Peruana*. AECI and IIAP, Lima, Perú.(75). 1995.
- Vlietinck, A.J. and Dommissie, R.A. eds. *Advances in Medicinal Plant Research*. Wiss. Verlag; Stuttgart, Germany.
- Itokawa H, et al. 1991. A cytotoxic substance from Sangre de Grado. *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 1985; 39(4): 1041-1042.
- Chen ZP, et al. Studies on the anti-tumour, anti-bacterial, and wound-healing properties of dragon's blood. *Planta Med*, 1994 Dec.
- Tieters L, et al. Isolation of a dihydrobenzofuran lignan from South American dragon's blood (Croton p.) as an inhibitor of cell proliferation. *J Nat Prod*, 1993 Jun.
- Mieller Mark, Naughton W., Xiao-Jing Zhang, Thompsom, J., Charbonet R., Bobrowski P., Lao J., Trentacosti A. Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine sangre de grado. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: 192-200
- Elliot SN, Buret A, McKnight W, Miller MJS, Wallace JL. Bacteria rapidly colonize and delay the healing of

- gastric ulcers in rats. Am. J Physiol Gastrointest Liver Physiol 1998; 275: 424-432.
26. Elliot SN, Wallace JL, Mc Knight W, Gall DG, Harding JA, Olson M, Buret A. Bacterial colonization and healing of gastric ulcers: the effects of epidermal growth factor. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000, 278: 105-112.
27. Malaga Trillo G. Efecto del clorhidrato de Taspina sobre la curación de úlcera gástrica inducida en ratas, Tesis para optar el grado de bachiller en Ciencias con mención en Biología. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima 1991.

Síndrome respiratorio agudo severo (SRAS).

GARCIA APAC Coralith^{*}, MAGUIÑA VARGAS Ciro^{*} GUITIERREZ RODRIGUEZ Raul^{&&}.

RESUMEN

En esta revisión actualizada presentamos los principales aspectos históricos, epidemiológicos, clínicos, terapéuticos y medidas de control y prevención de esta nueva enfermedad conocida como SRAS (Síndrome Respiratorio Agudo Severo), que se ha considerado como la primera enfermedad infecciosa de origen viral epidémica del siglo XXI afectando principalmente áreas de China, incluyendo Taiwán y Hong Kong, así como Vietnam, Singapur y Canadá (Toronto).. El agente viral causante de esta enfermedad es un nuevo coronavirus. El tratamiento mas efectivo aun no ha sido definido.

PALABRAS CLAVES: SRAS, Coronavirus, Neumonía Severa

INTRODUCCION

En los últimos treinta años han aparecido nuevas enfermedades, a las que se le han denominado “enfermedades emergentes” , ejemplo de ellas son: la enfermedad de los Legionarios, el SIDA, las enfermedades hemorrágicas severas como el Ebola, Guanarito, Sabia, Hantavirus, entre otras (1).

En este siglo se ha descrito por primera vez una nueva enfermedad infecciosa de origen viral, la que se ha denominado Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SRAS). En noviembre del 2002, un hombre de negocios falleció de una misteriosa enfermedad respiratoria aguda en la provincia de Guangdong (China Popular), la cual cuenta con 75 millones de habitantes.

Posteriormente aparecen cientos de casos similares en esta misma provincia, que fueron causa de numerosas muertes, pero lamentablemente permanecieron sin notificación científica. Es recién, en Febrero del 2003, cuando los médicos de Hong Kong difunden a la comunidad científica la existencia de una enfermedad respiratoria desconocida de comportamiento epidémico

en el continente asiático. Un médico procedente de Guangdong, que presentó este proceso respiratorio febril agudo severo, había estado hospedado en el noveno piso de un hotel de Hong Kong y doce de otros huéspedes del mismo piso enfermaron días después. Todos ellos se convirtieron posteriormente en los casos índices al regresar a Vietnam, Singapur y Canadá (2, 3).

El SRAS fue reconocido por primera vez el 26 de Febrero de 2003 en Hanoi, Vietnam. La posterior aparición de casos a Europa y América del Norte produjeron nuevos brotes en estos países, por ello el 12 de marzo del 2003, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la alerta mundial y bautizó a esta nueva enfermedad con el nombre de Síndrome Respiratorio Agudo Severo (“SRAS”), y definió los casos sospechosos y probables.

Gracias al esfuerzo de varias comunidades científicas de diferentes países, dos semanas después se identificó al agente infeccioso viral. Hasta el 17 de Junio la OMS ha notificado 8,464 casos, 799 de ellos fatales, en 29 países de Asia (92% de estos casos en China), Europa, África, Norte y Sudamérica. En esta última, sólo se

^{*} Departamento de Enfermedades Transmisibles y Dermatológicas (DETD), Hospital Nacional Cayetano Heredia

^{&&} Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia

han reportado 3 casos en Brasil y un caso en Colombia^(2,3).

El mayor número de casos a nivel mundial fue reportado entre la segunda quincena de marzo y la primera quincena de mayo del 2003 (Gráfico 1). A raíz de esta epidemia y la alarma mundial, en Vietnam las autoridades sanitarias y políticas en forma precoz adaptaron medidas estrictas de cuarentena y control sanitario de los casos y contactos, logrando ser el primer país en controlar esta nueva epidemia. Posteriormente otros países han logrado controlar esta nueva enfermedad.

AGENTE INFECCIOSO

Al inicio se pensó que el SRAS era causado por un picornavirus y luego un neumovirus, pero posteriormente en forma rápida y paralela, científicos de diversos países, identificaron el verdadero agente, un nuevo virus perteneciente al género Coronavirus (4) Este género fue descrito por primera vez en 1965 por Tyrrell y Bynoe, como semejante al virus de la bronquitis de los pollos (5), y su naturaleza citopática por Hamre y Procknow al ser aislado en estudiantes de medicina que padecían de resfríos (6). Se estableció el término *coronavirus* (por el prefijo *corona*, que denota dicha apariencia en las proyecciones estructurales de su superficie) para dar significado a este nuevo género viral (7). Se considera como el principal agente viral veterinario que afecta el tracto respiratorio y gastrointestinal, así como el sistema nervioso central y el riñón, y durante los últimos quince años se han descrito partículas coronavirus símil en materias fecales humanas (8).

Las muestras de pacientes que cumplían con la definición de caso de SRAS fueron enviadas al Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC) por colaboradores de Vietnam, Singapur, Tailandia, Hong Kong, USA y Canadá como parte de la investigación del agente etiológico (4). Las características citopatológicas fueron observadas en las células Vero E6 del inóculo de una muestra de hisopado faríngeo. A través de la microscopía electrónica, fueron evaluadas las características ultraestructurales, encontrándose que estas eran similares a las de los coronavirus (Figura 1). Además, se demostró por análisis de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, que eran reactivos contra anticuerpos policlonales del grupo I de estos virus; pero a través de la técnica de PCR, se pudo determinar que la secuencia de nucleótidos era diferente a la de los coronavirus conocidos. Posteriormente se implementó técnicas de ELISA e inmunofluorescencia para la detección de anticuerpos

séricos específicos (4). En base a estos hallazgos, se confirmó la sospecha que un nuevo virus perteneciente a la familia de los coronavirus era el agente asociado a SRAS. ¿Cómo un agente perteneciente a una familia de virus que suele manifestarse como resfrío común en el hombre podía ahora relacionarse con una enfermedad tan severa? Se conoce que los coronavirus producen cuadros respiratorios y gastrointestinales severos en los animales, por lo que no es difícil aceptar la hipótesis de que un coronavirus inicialmente originado en un animal mutó o recombinó, permitiendo infectar al hombre, producir enfermedad y pasar de persona a persona.

Se viene realizando investigaciones tanto en animales salvajes como en los domésticos para reforzar esta teoría (9, 10). Se ha encontrado un coronavirus muy similar al asociado a SRAS en animales salvajes que se consumen en los mercados de Guandong (9), aunque se desconoce si estos animales serían los reservorios naturales o han sido infectados a partir de otro animal. Por otro lado se conoce que las cucarachas y las ratas actúan como huéspedes pasivos, ingiriendo y eliminando el virus, pero sin presentar ninguna evidencia serológica ni histopatológica de infección. Se ha propuesto que el gato doméstico jugaría algún rol en la transmisión del nuevo coronavirus. Si se confirma que el gato puede infectarse, este sería uno de los responsables de introducir al virus dentro de las casas. Los científicos han identificado al gato como potencial modelo sin embargo hasta el momento el único modelo animal reconocido es el mono macaco (10).

HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

Se considera que la principal forma de transmisión es la vía aérea. Se ha detectado más de 100 millones de copias de ARN viral en el esputo de pacientes en la fase aguda (11). Por otro lado, se conoce que el virus puede permanecer en el medio ambiente alrededor de 3 horas. Se han encontrado también partículas vírales en las heces de pacientes convalecientes (11), lo que apoya junto a otras evidencias, la posibilidad de transmisión fecal-oral. Después de un periodo de incubación de 3 a 10 días, el paciente presenta síntomas en forma súbita. No se conoce el periodo de transmisibilidad, tampoco la susceptibilidad e inmunidad.

Fiebre, es un síntoma referido casi en el 100% de los pacientes en las series reportadas (12, 13, 14). Siguen en orden de frecuencia: tos, mialgias, disnea, cefalea, malestar general, escalofríos y diarrea (esta última reportada hasta en el 23% de los casos) (14). En el examen físico es frecuente el hallazgo de crepitantes en campos pulmonares. En los exámenes de laboratorio los hallazgos más prevalentes son linfopenia,

trombocitopenia, proteína C reactiva alta, elevación de las transaminasas, elevación de la deshidrogenasa láctica así como trastornos electrolíticos, especialmente hiponatremia (12, 13, 14). La hipoxemia puede ser severa en algunos pacientes, cerca de la cuarta parte de ellos desarrollan insuficiencia respiratoria. En cuanto a los hallazgos radiográficos, según una serie de 144 casos descritos en Canadá (14), al momento del ingreso se observaron infiltrados unilaterales y bilaterales, en el 46% y 29%, respectivamente. Del 25% de pacientes que presentaban una radiografía normal, el 58% de ellos, presentó infiltrados unilaterales o bilaterales, durante la evolución.

La mayoría de los pacientes con SRAS son adultos previamente sanos, entre 25 y 70 años con una media de 54 años. Los brotes en Toronto y Hong Kong (12, 14) han involucrado a adultos jóvenes, con una edad que oscila entre 39 y 42 años y en ambos brotes alrededor de 50% de pacientes eran trabajadores de salud. Fue necesario la admisión a una unidad de cuidados intensivos en 21 a 38% de los casos, y del 14 al 38% necesitaron ventilación mecánica. La mortalidad reportada ha sido entre 4 y 6%. No se han reportado casos fatales en USA. Sin embargo existe una diferencia importante entre las tasas de mortalidad entre las series reportadas en la China y Canadá (3.6% vs 5.6%, respectivamente).

Los análisis estadísticos con modelos multivariados en las series reportadas, establecen la identificación de algunos factores asociados a mal pronóstico, entre ellos fundamentalmente la edad mayor de 60 años y la comorbilidad (14).

TRATAMIENTO

La mayoría de pacientes han recibido antibióticos diversos (incluyendo una cefalosporina de tercera generación y un macrólido, entre otros), sin mayor variación en la evolución. En Singapur, Hong Kong, Guangdong y Canadá se ha utilizado una combinación del antiviral ribavirina con corticoides a dosis altas (12, 13, 14). Existe en la actualidad gran controversia en cuanto a la eficacia de este esquema terapéutico, sin embargo en ausencia de otro esquema alternativo probablemente se siga utilizando.

La ribavirina es una droga que puede ser tóxica en algunas personas. Cerca del 50% de los pacientes experimentan el descenso de la hemoglobina de por lo menos 2g/dl y en 66% de estos pacientes se evidencia hemólisis, con la elevación de la bilirrubina indirecta (14). Se reconoce también el incremento en el riesgo

de desarrollo de arritmias cardíacas. Por otro lado, su eficacia contra el virus del SRAS es desconocida (15). Se sabe que es efectiva contra otros virus como el virus sincitial respiratorio, el cual es similar al metapneumovirus, aislado inicialmente en Hong Kong y que se creyó era el agente causal de SRAS. Además, *in vitro*, la concentración inhibitoria de la ribavirina contra el nuevo coronavirus es ± 30 , valor mucho más alto que el nivel usual (entre 1 y 5) para otros virus asociados a enfermedades respiratorias. Es también conocido su efecto teratogénico, por lo cual no se recomienda su uso en el primer trimestre del embarazo.

En cuanto al uso de corticoides, tampoco se ha llegado a un acuerdo. Los que apoyan su uso (13) argumentan que es necesario suprimir la respuesta inflamatoria la que es mediada por una serie de citoquinas y de esta manera detener la progresión de la enfermedad pulmonar. Los que están en contra (16) refieren que en base al manejo del síndrome de distress respiratorio agudo, en donde el uso de corticoides ha sido controversial, estos no deberían ser incluidos como parte del manejo de SRAS. Existe alrededor de 10% de pacientes que no responden en forma favorable al esquema de ribavirina más corticoides. En estos pacientes se ha intentado la inmunización pasiva con plasma de pacientes en estado de convalecencia, que contiene títulos altos de anticuerpos antivirales. En este grupo de pacientes también se ha usado plasmáferesis, inmunoglobulina y pentaglobulina. La eficacia de estas intervenciones terapéuticas aún no ha sido evaluada.

Se ha propuesto el uso de esquemas profilácticos con ribavirina oral para trabajadores de salud expuestos a pacientes con SRAS, lo que ha generado también gran controversia, por lo que su uso no ha sido muy difundido.

CONTROL

La estrategia para el control de esta nueva enfermedad esta basada en tres pilares fundamentales: la detección temprana del caso, su aislamiento y el manejo de los contactos (2, 3). La definición de caso sospechoso y caso probable propuesto por la OMS se muestra en los cuadros 1 y 2 respectivamente (2). La mejor estrategia para limitar la transmisión dentro del hospital es el aislamiento. Desde el triaje, el paciente debe ser evaluado en un ambiente aislado y debe usar una mascarilla que filtre el aire espirado. El personal de salud que lo atiende debe usar mascarilla, lentes protectores y debe lavarse las manos antes y después de atender al paciente. Debe recordarse que el estetoscopio y otras herramientas son potenciales rutas de transmisión. El uso de desinfectantes debería estar disponible a

concentraciones adecuadas. Si el paciente cumple con los criterios de caso sospechoso o probable debe ser hospitalizado y aislado, idealmente en una habitación a presión negativa o en su defecto una habitación simple con una cama y baño propio. El paciente no debe salir de la habitación, y si lo hace debe usar una mascarilla.

Debe prestarse particular atención a las intervenciones que generen aerolización como nebulizaciones, fisioterapia respiratoria, broncoscopia y gastroscopia.

El lavado de manos antes y después de la atención del paciente sigue siendo una intervención crucial. Se puede usar desinfectantes de piel basados en alcohol.

La limpieza de la habitación debe hacerse con desinfectantes de conocida acción antiviral. Todo el personal involucrado incluyendo el personal de limpieza así como las visitas (las cuales permanecerán restringidas) deben usar un equipo de protección personal que incluya el uso de mascarilla, P99 o P100 (que filtra el 99 y el 99.97% del aire espirado, respectivamente), lentes protectores, guantes y mandilón. Todo el personal debe estar entrenado para mantener las medidas de control de infección en el cuidado del paciente con SRAS. El paciente permanecerá hospitalizado hasta la etapa de convalecencia, cuando permanezca afebril, no presente tos, los exámenes de laboratorio inicialmente anormales tiendan a normalizarse y los hallazgos radiográficos tiendan a resolverse (2).

CONTACTO CERCANO

La detección y control de los contactos es una de las medidas de control más efectivas. Se define como contacto cercano a toda persona que este en riesgo de desarrollar SRAS debido a la exposición de un paciente con esta enfermedad, entendiéndose como exposiciones de riesgo el vivir, cuidar o tener contacto directo con secreciones respiratorias u otros fluidos corporales de un paciente con SRAS (2, 3). Dependiendo si el caso índice fue sospechoso o probable, el contacto también se definirá como contacto de caso sospechoso o probable, respectivamente. El contacto casual con un paciente con SRAS no se considera una exposición de riesgo. Los contactos deben ser educados acerca de las diferentes características de la enfermedad haciendo énfasis en el reconocimiento de la fiebre que suele ser el síntoma mas frecuente y precoz. El contacto de caso probable debe permanecer en casa voluntariamente por espacio de 10 días. Se le debe realizar una vigilancia activa mediante la visita diaria de un trabajador de salud.

En cambio, el contacto de caso sospechoso, puede continuar realizando sus actividades fuera de casa pero comunicándose diariamente por teléfono con un servicio de salud.

¿Qué hacer a nivel internacional? Debe educarse a los viajeros internacionales sobre el reconocimiento de los principales síntomas de SRAS: fiebre, tos y/o disnea.

Para prevenir la diseminación de SRAS los viajeros deben ser evaluados al salir de un área de transmisión reciente a través de un cuestionario y la toma de temperatura. Hasta el 17 de Junio, esta recomendación debe llevarse a cabo en Toronto (Canadá), Beijing, Hong Kong y Taiwan (China). No hay restricciones en cuanto al transporte de alimentos o animales desde estas áreas (2, 3). Si el viajero al regresar a su país, presenta algunos de los síntomas descritos dentro de los 10 días de su llegada debe solicitar atención médica. Desde abril del 2003 la OMS/CDC ha recomendado posponer los viajes que no sean esenciales a las diferentes áreas de transmisión de SRAS. Esta recomendación es reevaluada día a día. Hasta el 17 de junio, la única localidad en la que se sigue manteniendo esta recomendación es en Beijing (China).

CONCLUSIONES

Esta nueva enfermedad producida por un virus del género coronavirus, ha sido la primera enfermedad viral de tipo epidémico que en un tiempo récord ha sido diagnosticado, gracias a la colaboración de los científicos de varios países. Así mismo, en forma extraordinaria se ha logrado desarrollar el genoma del virus y con medidas de control tan sencillas y antiguas como la cuarentena, se ha podido controlar y evitar la diseminación en muchos lugares. Si bien ha causado pánico y zozobra a nivel mundial, en comparación con el virus de la inmunodeficiencia humana, tuberculosis, malaria e influenza, han sido relativamente pocos los casos de SRAS así como un limitado número de muertes. Sin embargo, aún no se puede predecir cual será el curso de esta nueva enfermedad ni el impacto global que genere. Pero desde ya sabemos que el SRAS ha cambiado la forma de practicar la medicina de hoy.

Las mascarillas tendrán que ser usadas por el paciente y el doctor durante la atención médica y cada una de éstas a su vez se convertirán en un riesgo potencial.

Una vez más la vocación y el interés de ayudar superaran el temor de enfermar y morir; de hecho, cientos de trabajadores de salud superaron el miedo y

hoy se cuentan entre los héroes.

Correspondencia:

Coralith García Apac
5B-101 Unidad Vecinal del Rimac
03345@upch.edu.pe

RESUMEN BIBLIOGRAFICO

1. Chin, J. El control de las enfermedades transmisibles. Publicación científica y técnica 581. XVII Edición. Organización Panamericana de la Salud. 2001
2. www.cdc.gov/ncidod/sars
3. www.who.int/csr/sars
4. Ksiazek T, Erdman D, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *The New Engl J of Med* 2003;348(20):1953-1966
5. Tyrrell DA, Bynoe ML. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *British Med J* 1965;1:1467-70
6. Almeida JD, Tyrrell DA. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J Gen Virol* 1967;1:175-78
7. McIntosh K, Dees JH, Becker WB, et al. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1967;57:933-40
8. Holmes KV, Lai MC. Coronaviridae and their replication. En: Fields B, Knipe D, Howley P eds. *Fields Virology*. 3rd ed. Philadelphia. Lippincot-Raven 1996:1075
9. Cyranosky D, Abbott A. Virus detectives seek sources of SARS in China s wild animals. *Nature* 2003; 423(2939):467
10. Abbott A. Pet theory comes to the fore in fight against SARS. *Nature* 2003; 423(6940):576
11. Drosten C, Gunther S, et al. Identification of a novel coronavirus in patient with severe acute respiratory syndrome. *The New Engl J of Med* 2003;348(20):1967-1976
12. Lee N, Hui D, et al. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *The New Engl J of Med* 2003;348(20):1986-1994
13. Tsang H, Ho P, et al. A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *The New Engl J of Med* 2003;348(20):1977-85
14. Booth C, Matukas I, et al. Clinical features of short term outcome of 144 patients with SARS in the greater Toronto area. *JAMA* 2003; 289 (2): 2801-2805
15. Koren, G. King S, et al. Ribavirina in the treatment of SARS: a new trick for an old drug. *CMAJ* 2003; 168(10): 1289-1292
16. Oba Y. The use of corticosteroids in SARS. *The New Engl J of Med* 2003; 348 (20):2034-2035.

Aspectos inmunológicos de la infección por papilomavirus humano. Rol del complejo mayor de histocompatibilidad .

CERVANTES Jorge *

INTRODUCCION

El cáncer cervical es un problema importante de Salud Pública en los países en vías de desarrollo. Constituye cerca del 30% del total de neoplasias en la mujer, en Latinoamérica (1,2) y es la principal causa de muerte en mujeres en el Perú (3). Existe un rol comprobado de ciertos genotipos de papilomavirus humano (HPVs por sus siglas en Inglés : *Human Papillomavirus*) en la patogénesis del cáncer de cuello uterino, siendo la infección por ciertos tipos de HPV, el principal factor de riesgo para el desarrollo de cáncer cervical (4,5,6,7,8).

ASPECTOS VIRALES

El papilomavirus humano pertenece a la familia Papovaviridae, virus sin cubierta, con genoma compuesto de DNA de doble cadena, circular, de entre 6,800 a 8000 pares de bases en tamaño.

El genoma del virus consiste básicamente de tres regiones: Una región no codificadora, y las regiones que codifican los genes tempranos y tardíos .

El DNA viral existe, independientemente del DNA cromosomal, en forma de plásmido (forma episomal) en lesiones benignas o premalignas, y se encuentra más bien integrado en el DNA celular en la mayoría de los tumores que ocasiona (9). Cuando el DNA del virus se integra en el genoma del hospedero en lesiones pre-invasivas tardías o en cáncer invasivo, activa los genes

tempranos E6 y E7 (10), esto lleva a la expresión de dos oncoproteínas (llamadas asimismo E6 y E7), capaces de interferir con dos anti-oncogenes importantes del hospedero: p53 y pRb, encargadas de controlar la replicación celular . La proteína E6 bloquea al anti-oncogen p53, y la proteína E7 bloquea al anti-oncogen pRb, con la subsecuente transformación y malignización (11).

El papilomavirus humano es un virus epiteliotrópico, infecta el estrato basal del epitelio, manteniendo la transcripción y replicación de su DNA a niveles muy bajos. El epitelio del tracto anogenital es el blanco de infección de papilomavirus mucosotrópicos (12). El condiloma acuminado, y casi todas las neoplasias de células escamosas del tracto anogenital son causados por papilomavirus específicos (6).

Hasta la fecha, más de cien diferentes genotipos del virus han sido identificados, de los cuales 40 infectan el tracto anogenital (13). Los genotipos anogenitales están subdivididos de acuerdo a su presunto potencial oncogénico, en tipos de bajo-riesgo, y tipos de alto-riesgo oncogénico (14).

La infección por HPV es la enfermedad viral de transmisión sexual más común, con prevalencias de infección que van desde el 10% hasta 50% en mujeres sexualmente activas (14). En algunos lugares del mundo distintos de Europa (de donde se cuenta con gran información desde el inicio), algunos tipos de HPV,

* Médico egresado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia
Departamento de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Kagoshima, Kagoshima, Japón

diferentes a los clásicos tipos de alto-riesgo HPV-16 y HPV-18, pueden tener mayor relevancia. Esto se ha observado en varios países de Asia (15,16,17,18,19, 20), y en algunos reportes de Brasil (6) y Bolivia (21, 22). En el Perú sin embargo, la distribución de tipos parece seguir a la que se describe en países Europeos (23). Lo mismo se ha observado en Mestizos Mexicanos (24), y en mujeres hispánicas en los Estados Unidos (25).

Debemos también prestar atención a las infecciones por múltiples tipos, ya que diferentes tipos pueden tener efectos antagónicos o por el contrario sinérgicos con respecto a la carcinogénesis. (26).

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad humano (MHC, por sus siglas en Inglés *human Major Histocompatibility Comple*), al cual se refiere también como HLA (por *Human Leukocyte Antigen*), comprende una familia de genes que controlan la respuesta inmune hacia agentes patógenos, aceptación o rechazo de transplantes (de ahí el termino "histocompatibilidad"), y vigilancia de tumores. El MHC ha sido el foco de muchos estudios en las últimas décadas. Su extenso polimorfismo define una "huella dactilar" del sistema inmune de cada individuo, y es por ello que las aplicaciones del HLA van mas allá de la medicina (transplantes) e investigación medica (asociaciones con múltiples enfermedades), sino que también es útil en situaciones legales de discusión de paternidad, por ser capaz de excluir el parentesco en casos de falsa acusación (27), y en antropología molecular, brindando soporte científico acerca de patrones migratorios y evolutivos humanos (28).

El complejo mayor de histocompatibilidad está codificado en el brazo corto del cromosoma 6 en el humano, e incluye por lo menos 200 genes. El complejo se encuentra dividido en tres regiones: Clase II (con los genes HLA-DR, -DP y -DQ), clases III (que incluye los genes que codifican las proteínas del complemento y factor de necrosis tumoral), y clase I (con los genes HLA-A, -B, -C, -E, -H, -G y -F) (29).

Aspectos Inmunológicos

Aspectos inmunológicos y genéticos del hospedero juegan también un rol importante en el resultado de la enfermedad asociada con la infección por HPV. El riesgo de cáncer cervical depende del tipo de HPV (30) y de la población (31), siendo necesarios tanto factores virales como del hospedero, para del desarrollo de lesiones precancerosas y finalmente cáncer cervical (32).

Se han reportado incrementos en las frecuencias de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) y neoplasia cervical en pacientes luego de transplante renal (33, 34), inmunosupresión (35), e inmunodeficiencias primarias (36), así como un riesgo incrementado de cáncer cervical en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (37) y reactivación de infección por HPV pre-existente en mujeres con cargas virales de VIH altas (38). Todo esta evidencia apunta hacia el hecho de que la inmunidad hacia el virus juega un rol importante en la prevención del desarrollo de neoplasia cervical.

La infección por el virus antecede al desarrollo del cáncer por varios años (39). Se ha postulado que la respuesta inmunológica controla la infección por HPV en la mayoría de las mujeres, siendo así estas infecciones transitorias (40). Sin embargo, en una proporción pequeña de mujeres, la infección deviene en persistente y lleva al desarrollo de lesiones precancerosas y últimamente cáncer (32,40,41).

Rol del Complejo Mayor de Histocompatibilidad

La respuesta inmune mediada por linfocitos T hacia los antígenos del HPV, está restringida por el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA). De ahí que ciertos fenotipos de HLA correlacionen con una respuesta inmune efectiva contra el HPV. (42). Ya que el complejo mayor de histocompatibilidad juega un papel importante en erradicación viral, así como en la vigilancia inmune contra ciertas neoplasias, alguna asociación entre HLA y cáncer cervical o lesiones precancerosas, podría significar una relativa incapacidad de erradicar la infección, o una relativa incapacidad de proveer vigilancia inmune contra el tejido displásico. La expresión de las moléculas de HLA se ve alterada de muchas maneras en células cervicales cancerosas (43). Se han reportado además diferencias en las frecuencias de algunos alelos de HLA de clase II en pacientes con NIC II y III que no portaban infección por HPV (44).

Varios alelos y haplotipos HLA de clase II han sido descritos asociados a susceptibilidad a cáncer cervical e infección por HPV. Sin embargo los reportes de asociaciones entre polimorfismos de HLA y carcinoma cervical han sido controversiales (45,46,47). En muchos casos estos estudios se centran solamente en la detección de HPV-16.

En algunos casos una mayor prevalencia de un alelo en particular está asociada a estar o no infectado más que a un estadio histológico. Lo cual tienen mucho sentido si pensamos que mujeres portando el alelo en cuestión son incapaces de montar una respuesta inmune

apropiada contra el virus, lo que las predispone al desarrollo de cáncer cervical (48). Por otro lado el no hallar una asociación estadísticamente significativa entre un alelo previamente reportado, puede deberse tan solo a una baja prevalencia de éste en la muestra poblacional estudiada.

Las moléculas de HLA de clase II influyen en la respuesta inmune a epítopes específicos del virus (49). Un alelo en particular, que se encuentre en mayor proporción en sujetos infectados significa que otorga susceptibilidad para dicha infección.

La mayoría de los estudios que reportan asociaciones de neoplasia cervical con alelos del complejo de histocompatibilidad, han sido realizados en población caucásica europea. Los reportes provenientes de Latinoamérica han sido hechos mayormente en población mestiza, que por llevar aún consigo una serie de alelos caucásicos dan resultados acordes con aquellos de mujeres europeas (50). Sin embargo en países andinos la situación puede ser un tanto diferente. En el vecino país de Bolivia, donde la carga indígena andina de la población es importante, he reportado recientemente la asociación de un alelo de HLA de clase II (HLA-DRB1*1602) con infección por HPV (51). Este es un alelo típico Amerindio, infrecuente en otras poblaciones, incluso en Mestizos (52).

Existen muchos indicios de que el fondo genético confiere susceptibilidad a la infección por determinados genotipos. Ya que el sistema inmune está genéticamente determinado, es importante investigar si determinados grupos étnicos son en realidad más susceptibles. De hecho se ha observado ya variación entre grupos étnicos, de cofactores de la infección por HPV, tales como el uso de anticonceptivos orales, o fumar (53). Se ha observado además que mujeres hispánicas en los EEUU, en comparación con mujeres no hispánicas, tienen un riesgo mayor de desarrollar displasia cervical (54).

La identificación de grupos susceptibles a la infección, ayudará en el diseño de vacunas efectivas contra el virus para las poblaciones que más lo necesitan. El cáncer cervical debe verse como una enfermedad prevenible (13). El desarrollo de una vacuna efectiva contra el HPV podrá prevenir las condiciones pre-malignas y malignas asociadas con esta infección.

Correspondencia:

Jorge Cervantes
jccervantes@medscape.com

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Odunsi KO, Ganesan TS. The roles of the human major histocompatibility complex and human papillomavirus infection in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 1997; 9(1):4-13.
2. Rios Dalenz J, Castro MD. Evaluación de la Situación del Cáncer de Cuello Uterino en Bolivia. Revisión Bibliográfica. OPS/OMS Ministerio de Salud Y Previsión Social. Engender Health, Formerly AVSC International. 2001
3. IARC (1998) Globocan I, Cancer Incidence and Mortality Worldwide (IARC Cancer Base No3). International Agency for Research on Cancer: Lyon
4. Zur Hausen H (1994). Human pathogenic papillomaviruses. In "Molecular Pathogenesis of Cancer of the Cervix and its causation by specific Human Papillomavirus Types". *Curreny Topics in Microbiology and Immunology CTMI186*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1994; pp131-56
5. Gaarenstroom KN, Melkert P, Walboomers JM, Van Den Brule AJ, Van Bommel PF, Meyer CJ, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst TJ. Human papillomavirus DNA and genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 1994 ; 4(2):73-78.
6. Lorincz AT, Temple GF, Kurman RJ, Jenson AB, Lancaster WD. Oncogenic association of specific human papillomavirus types with cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1987;79(4):671-7
7. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; 79(3):328-37.
8. Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM, DeRouen TA, Galloway DA, Vernon D, Kiviat NB. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992; 327(18):1272-8
9. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremmlau A, zur Hausen H. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 1985;314 (6006):111-4
10. Jeon S, Lambert PF. Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical

- carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(5):1654-8.
11. Adams M, Borysiewicz L, Fiander A, Man S, Jasani B, Navabi H, Lipetz C, Evans AS, Mason M. Clinical studies of human papilloma vaccines in pre-invasive and invasive cancer. *Vaccine* 2001; 19:2549-2556.
 12. Tjiong MY, Out TA, Ter Schegget J, Burger MP, Van Der Vange N. Epidemiologic and mucosal immunologic aspects of HPV infection and HPV-related cervical neoplasia in the lower female genital tract: a review. *Int J Gynecol Cancer*. 2001; Jan-Feb;11 (1): 9-17
 13. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. Review Article. *Canadian Medical Association or its licensors CMAJ*. Apr.3, 2001; 164 (7); 1017-1025
 14. Hagensee ME. Infection with Human Papillomavirus: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Curr Infect Dis Rep*. 2000; Feb;2(1):18-24.
 15. Chan PK, Li WH, Chan MY, Ma WL, Cheung JL, Cheng AF. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Chinese women with cervical cancer and precancerous lesions. *J Med Virol*. 1999; Oct;59(2):232-8.
 16. Chan R, Khoo L, Ho TH, Koh CF, Lee IW, Yam KL, Chandra D, Pang M, Chow V. A comparative study of cervical cytology, colposcopy and PCR for HPV in female sex workers in Singapore. *Int J STD AIDS*. 2001; Mar;12(3):159-63
 17. Wong YF, Chung TK, Cheung TH, Nobori T, Hampton GM, Wang VW, Li YF, Chang AM. p53 polymorphism and human papillomavirus infection in Hong Kong women with cervical cancer. *Gynecol Obstet Invest*. 2000; 50(1):60-3
 18. Chichareon S, Herrero R, Munoz N, Bosch FX, Jacobs MV, Deacon J, Santamaria M, Chongsuvivatwong V, Meijer CJ, Walboomers JM. Risk factors for cervical cancer in Thailand: a case-control study. *J Natl Cancer Inst*. 1998; Jan 7;90(1):50-7.
 19. Sasagawa T, Basha W, Yamazaki H, Inoue M. High-risk and multiple human papillomavirus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; Jan;10(1):45-52.
 20. Hwang T. Detection and typing of human papillomavirus DNA by PCR using consensus primers in various cervical lesions of Korean women. *J Korean Med Sci*. 1999; Dec;14(6):593-9
 21. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2002; Apr;55(4):244-65.
 22. Lema CH, Hurtado LV, Segurondo D, Romero F, Dulon A, Asturizaga D, Panoso W, Garcia G, Fujiyoshi T, Yashiki S, Li HC, Lou H, Cervantes J, Hurtado L et Sonoda S. Human Papillomavirus Infection among Bolivian Amazonian Women. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2001; 2:135-141
 23. Santos C, Munoz N, Klug S, Almonte M, Guerrero I, Alvarez M, Velarde C, Galdos O, Castillo M, Walboomers J, Meijer C, Caceres E. HPV types and cofactors causing cervical cancer in Peru. *Br J Cancer*. 2001; Sep 28;85(7): 966-71
 24. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Munoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P, Hernandez P, Salmeron J, Hernandez M. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer*. 2001; Feb 1,91(3):412-20.
 25. Apple RJ, Erlich HA, Klitz W, Manos MM, Becker TM, Wheeler CM. HLA DR-DQ associations with cervical carcinoma show papillomavirus-type specificity. *Nat Genet*. 1994; Feb;6(2):157-62.
 26. Silins I, Wang Z, Avall-Lundqvist E, Frankendal B, Vikmanis U, Sapp M, Schiller JT, Dillner J. Serological evidence for protection by human papillomavirus (HPV) type 6 infection against HPV type 16 cervical carcinogenesis. *J Gen Virol*. 1999; Nov;80 (Pt 11):2931-6.
 27. Bryant, Neville J. The HLA system in *An Introduction to Immunohematology*. Third Edition 1994. W.B. Saunders Company. pp 256- 273
 28. Apple Raymond J and Erlich Henry A. HLA class II genes: structure and diversity, in *HLA and MHC: genes, molecules and function*. Edited by M. Browning and A. McMichael. BIOS Scientific Publishers Limited, 1996; pp 97-112
 29. Moss DJ, Khanna R. Major histocompatibility complex: from genes to function. *Immunol Today*. 1999; Apr, 20 (4):165-7.
 30. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol*. 1992; Mar, 79(3):328-37
 31. IARC (1998) *Globocan I, Cancer Incidence and Mortality Worldwide (IARC Cancer Base No3)*. International Agency for Research on Cancer: Lyon
 32. Cuzick J, Terry G, Ho L, Monaghan J, Lopes A, Clarkson P, Duncan I. Association between high-risk HPV types, HLA DRB1* and DQB1* alleles and cervical cancer in British women. *Br J Cancer*. 2000; Apr;82 (7):1348-52
 33. Halpert R, Fruchter RG, Sedlis A, Butt K, Boyce JG, Sillman FH. Human papillomavirus and lower genital neoplasia in renal transplant patients. *Obstet Gynecol*. 1986 Aug;68(2):251-8.
 34. Schneider V, Kay S, Lee HM. Immunosuppression as a high-risk factor in the development of condyloma acuminatum and squamous neoplasia of the cervix. *Acta Cytol*. 1983 May-Jun;27(3):220-4
 35. Kinlen LJ, Sheil AG, Peto J, Doll R. Collaborative United Kingdom-Australasian study of cancer in patients treated with immunosuppressive drugs. *Br Med J*. 1979 Dec 8;2(6203):1461-6
 36. Koss LG. Cytologic and histologic manifestations of human papillomavirus infection of the female genital tract and their clinical significance. *Cancer*. 1987 Oct 15;60(8 Suppl):1942-50.
 37. Serraino D, Carrieri P, Pradier C, Bidoli E, Dorrucci M, Ghetti E, Schiesari A, Zucconi R, Pezzotti P, Dellamonica P, Franceschi S, Rezza G. Risk of invasive cervical cancer among women with, or at risk for, HIV infection. *Int J Cancer*. 1999 Jul 30;82(3):334-7
 38. Palefsky JM, Minkoff H, Kalish LA, Levine A, Sacks HS, Garcia P, Young M, Melnick S, Miotti P, Burk R. Cervicovaginal human papillomavirus infection in human

- immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. *J Natl Cancer Inst* 1999 Feb 3;91(3):226-36.
39. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87(11):796-802
40. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, Scott DR, Rush BB, Lawler P, Sherman ME, et al. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis* 1994; 169(2):235-40.
41. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998 ;338(7):423-8
42. Krul EJ, Schipper GM, Schreuder GJ, Fleuren, GG Kenter, Melief JM. HLA and Susceptibility to Cervical Neoplasia. *Human Immunology* (1999) 60:337-342
43. Brady CS, Bartholomew JS, Burt DJ, Duggan-Keen MF, Glenville S, Telford N, Little AM, Davidson JA, Jimenez P, Ruiz-Cabello F, Garrido F, Stern PL. Multiple mechanisms underlie HLA dysregulation in cervical cancer. *Tissue Antigens* 2000;55(5):401-11.
44. Tabrizi SN, Fairley CK, Chen S, Borg AJ, Baghurst P, Quinn MA, Garland SM. Epidemiological characteristics of women with high grade CIN who do and do not have human papillomavirus. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106(3):252-7.
45. Glew SS, Stern PL, Davidson JA, Dyer PA. HLA antigens and cervical carcinoma. *Nature*. 1992 Mar 5;356(6364):22
46. Vandenvelde C, De Foor M, van Beers D. HLA-DOB1*03 and cervical intraepithelial neoplasia grades I-III. *Lancet* 1993;341(8842):442.
47. Glew SS, Duggan-Keen M, Ghosh AK, Ivanson A, Sinnott P, Davidson J, Dyer PA, Stern PL. Lack of association of HLA polymorphisms with human papillomavirus-related cervical cancer. *Hum Immunol* 1993;37(3):157-64
48. Mehal WZ, Lo YM, Herrington CS, Evans MF, Papadopoulos MC, Odunis K, Ganesan TS, McGee JO, Bell JI, Fleming KA. Role of human papillomavirus in determining the HLA associated risk of cervical carcinogenesis. *J Clin Pathol* 1994;47(12):1077-81.
49. Apple RJ, Lin P, Becker TM, Erlich HA, Wheeler CM. Both HLA-B7 and DRB1*1501 appear to be required to confer risk to HPV-16 associated invasive cancer, but function as independent risk factors for HPV 16-associated severe dysplasia. In : Genetic diversity of HLA. Functional and Medical Implication. Volume I. pp758-760 Dominique Charron, Editor EDK Medical and Scientific International Publisher. 1997
50. Silva B, Vargas-Alarcon G, Zuniga-Ramos J, Rodriguez-Reyna TS, Hernandez-Martinez B, Osnaya N, Kofman S, Torres-Lobaton A, Granados J. Genetic features of Mexican women predisposing to cancer of the uterine cervix. *Hum Pathol* 1999;30(6):626-8.
51. Cervantes J, Hurtado LV, Lema C, Andrade R, Hurtado L, Yashiki S, Fujiyoshi T, and Sonoda S. HLA-DRB1*1602 allele association with HPV infection in Bolivian women. *Tissue Antigens* 2002; 59(2):122 P32.12
52. Salazar M, Varela A, Ramirez LA, Uribe O, Vasquez G, Egea E, Yunis EJ, Iglesias-Gamarra A. Association of HLA-DRB1*1602 and DRB1*1001 with Takayasu arteritis in Colombian mestizos as markers of Amerindian ancestry. *Int J Cardiol* 2000;75 Suppl 1:S113-6
53. Kenney JW. Ethnic differences in risk factors associated with genital human papillomavirus infections. *J Adv Nurs* 1996;23(6):1221-7.
54. Becker TM, Wheeler CM, Key CR, Samet JM. Cervical cancer incidence and mortality in New Mexico's Hispanics, American Indians, and non-Hispanic whites. *West J Med* 1992;156(4):376-9.

Tumor del seno endodermal extragonadal en la infancia. Reporte de dos casos.

SÁNCHEZ LIHON Juvenal *, CASAVILCA ZAMBRANO Sandro **, GARCIA MADRID Jorge ***, KLINGE CASTRO German ***.

SUMMARY

We report two cases of extragonadal pelvic endodermal sinus tumor diagnosed at the Department of Pediatric of the National Institute of Neoplastic Diseases and discuss the clinical presentation, differential diagnosis and pathologic study. (*Rev Med Hered 2003; 14:98-103*).

KEY WORDS: Extragonadal endodermal sinus tumor.

INTRODUCCION.

Los tumores de células germinales son neoplasias derivadas de las células germinales primordiales que pueden ser de localización gonadal o extragonadal. El tumor del seno endodermal es el tumor maligno de células germinales más frecuente en la edad pediátrica, cuya localización más frecuente es la región sacrococcigea en recién nacidos (1). En niñas mayores y adolescentes su principal localización es el ovario, con menos frecuencia se localiza en mediastino, retroperitoneo, área pineal y vagina (2). La alfa fetoproteína es la principal proteína sérica del feto, producida en un principio por el saco embrionario, por lo que es un indicador para el diagnóstico, seguimiento y detección de recurrencias (3).

Las niñas con tumor del seno endodermal se presentan generalmente con descenso sanguinolento o una masa

que protruye por la vagina (3,4), pudiendo ser tratados exitosamente con cirugía y quimioterapia (5).

CASO I.

Paciente de once meses de edad, natural y procedente de La Libertad, que ingresa al INEN el 14.06.02, referida del Hospital Regional de Trujillo con Diagnóstico por biopsia de neoplasia maligna consistente con carcinoma de células claras. La madre refiere que desde los 6 meses de edad presenta sangrado vaginal escaso que progresivamente se ha incrementado en cantidad y frecuencia.

Exámenes auxiliares: Hb (103), Hto (32.1), AFP 35595.0 ng / ml. Los demás exámenes se encuentran dentro de límites normales. Ecografía: Proceso neofornativo de localización retrovesical que mide 6.5 cm. de diámetro que podría ser de origen uterino o de

* Jefe del Departamento de Patología del INEN.

** Médico Patólogo, Residente INEN de Patología Oncológica.

*** Médico Asistente del Departamento de Patología.

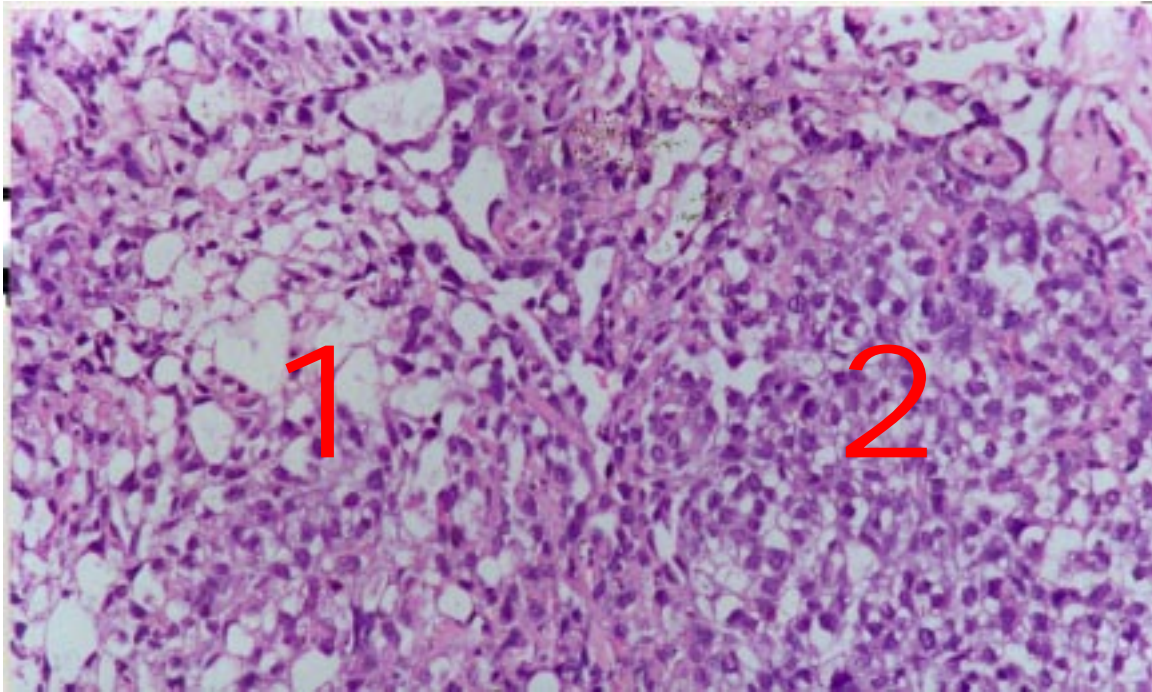


Foto 1. Tumor del seno endodermal en 100 aumentos. Se evidencian patrones histológicos reticular microquístico (1) y sólido (2). H&E x 100

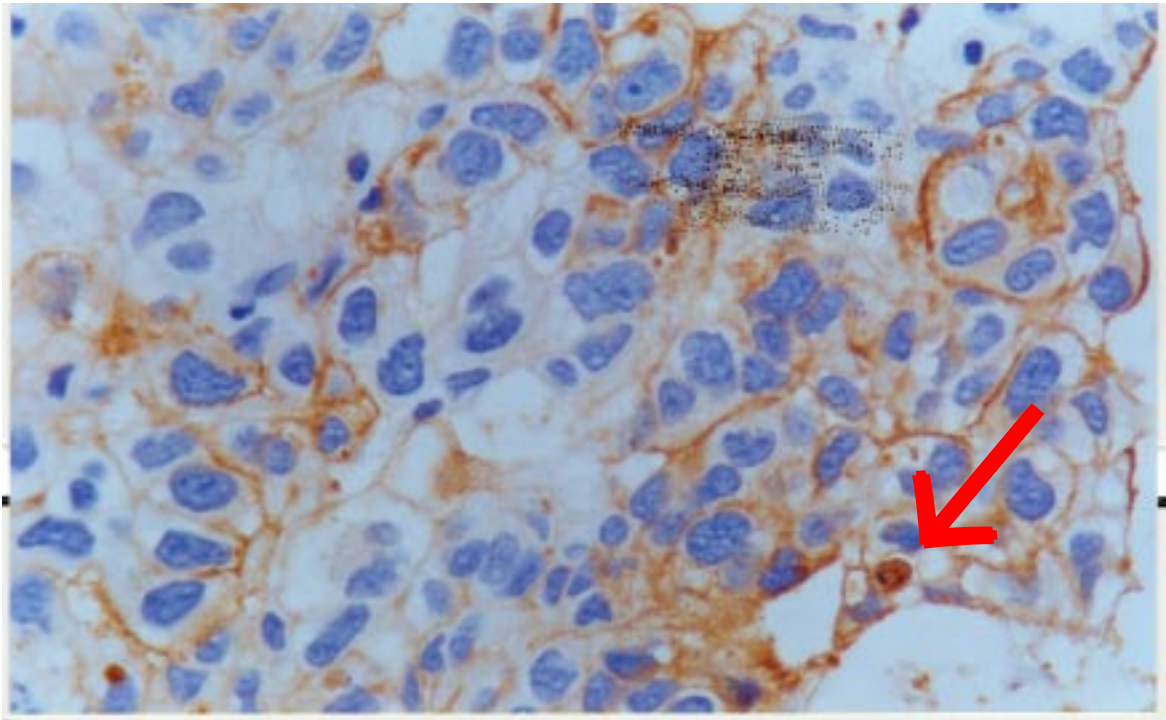


Foto 2. Alfa fetoproteína policlonal que marca citoplasma y glóbulos intracitoplasmáticos (cuerpos hialinos) (flecha).

la cara posterior de la vejiga. No se observan signos de hidronefrosis. El resto de órganos abdominales, retroperitoneales y pélvicos son de caracteres normales.

Resonancia magnética: Proceso neofornativo intraraquideo y extradural, que mide 3.4 cm de diámetro y se localiza en el lado derecho del espacio epidural comprendido entre D7 y D11. Signos de compromiso secundario múltiple del hígado y ambos pulmones. Proceso neofornativo pélvico de localización retrovesical.

Examen físico:

Abdomen que a la palpación evidencia tumoración hipogastrica suprapubica dolorosa de 7 x 4 cm.

Se evidencia a través del canal vaginal tejido rojo vinoso nodular aparentemente tumoral. Se explora con espejulo virginal identificándose tumor que parece depender del utero y que infiltra el tercio superior de vagina procediendo a tomar biopsia.

Informe anatomopatológico 048949, Tumor del seno endodermal.

Inmunojistoquímica: Alfa fetoproteina (positiva), queratina (positiva) y PLAP (positivo). 20.06.02. Inicia terapia con Platino, Bleomicina y Etoposido.

CASO II.

Paciente de un año y dos meses de edad, natural y procedente de Lima, quien ingresa al INEN el 06.09.2002, con un tiempo de enfermedad de 15 días, referida del Instituto Nacional de Salud del Niño con el diagnóstico de sarcoma botroide. Desde su ingreso cursa con sangrado genital.

Exámenes auxiliares: Hb (92), Hto (29.2), AFP 14970.0 ng/ml. Los demás exámenes se encuentran dentro de los valores normales. Ecografía: Hígado, bazo, páncreas aparentemente normales. Se evidencia proceso expansivo heterogéneo, multilobulado en canal vaginal de 40 x 42 x 36 mm. Radiografía de torax normal. Estudio de medula ósea normal (10.09.2002).

Examen físico:

Abdomen blando, depresible, no signos peritoneales, RHA (+), no se palpan masas ni tumoraciones.

Genitales externos congestivos, lesión tumoral rojo vinosa sangrante en tercio inferior y medio de la vagina,

difícil de resecar por la ubicación y dificultad técnica.

Se toma biopsia en sacabocado.

Informe de lámina AP.53252, Neoplasia maligna que sugiere tumor del seno endodermal.

Inmunojistoquímica: Alfa fetoproteina (positiva), desmina (negativa) y HCG (negativa).

18.09.2002. Pediatría: Inicia terapia con Platino, Bleomicina, Etoposido.

DISCUSION

La localización pélvica extragonadal del tumor del seno endodermal es rara si se excluyen las localizaciones presacra y sacrococcigea (4), de estos tumores en 30 a 40% de los casos la localización no es definida claramente, 10 a 15% se originan en cervix y 50% en vagina (3). El tumor del senoendodermal de localización vaginal y cervical se presenta como una masa sesil o polipoide, friable, blanco grisacea que protruye a través de la vagina y que incluye una historia de flujo vaginal sanguinolento (1,3,4). Cuando se localiza en la vagina generalmente se origina en la pared vaginal posterior (7,11) y el diagnóstico diferencial incluye al sarcoma botroides y el carcinoma de células claras (3,4,6,11).

La neoplasia se caracteriza histológicamente por los cuerpos de Schiller Duval, estructuras glomeruloides constituidas por canales anastomóticos y tubulos tapizados por células cuboidales de citoplasma claro y núcleo hiperocrómico (3,12). La presencia de glóbulos hialinos PAS positivos, de localización intracelular y extracelular es esencial para el diagnóstico. A la microscopia electrónica se identifican como material electrodens y a la inmunojistoquímica marcan intensamente para alfa fetoproteina (6,9).

La neoplasia se presenta casi exclusivamente en niñas menores de tres años (1,4,10,11,12). En nuestra revisión encontramos un reporte de una niña de 10 años con diagnóstico de tumor del seno endodermal localizado en la pared posterior de la vagina (6).

La inmunojistoquímica con alfa fetoproteina es positiva en casi todos los casos y es útil para el diagnóstico diferencial. También es positiva para alfa 1 antitripsina, CD15, albumina y citoqueratina (3,11,12).

La media de supervivencia es de 11 meses y 10 a 15% mueren dentro de los 2 años. De 35 casos con seguimiento clínico solo tres han reportado

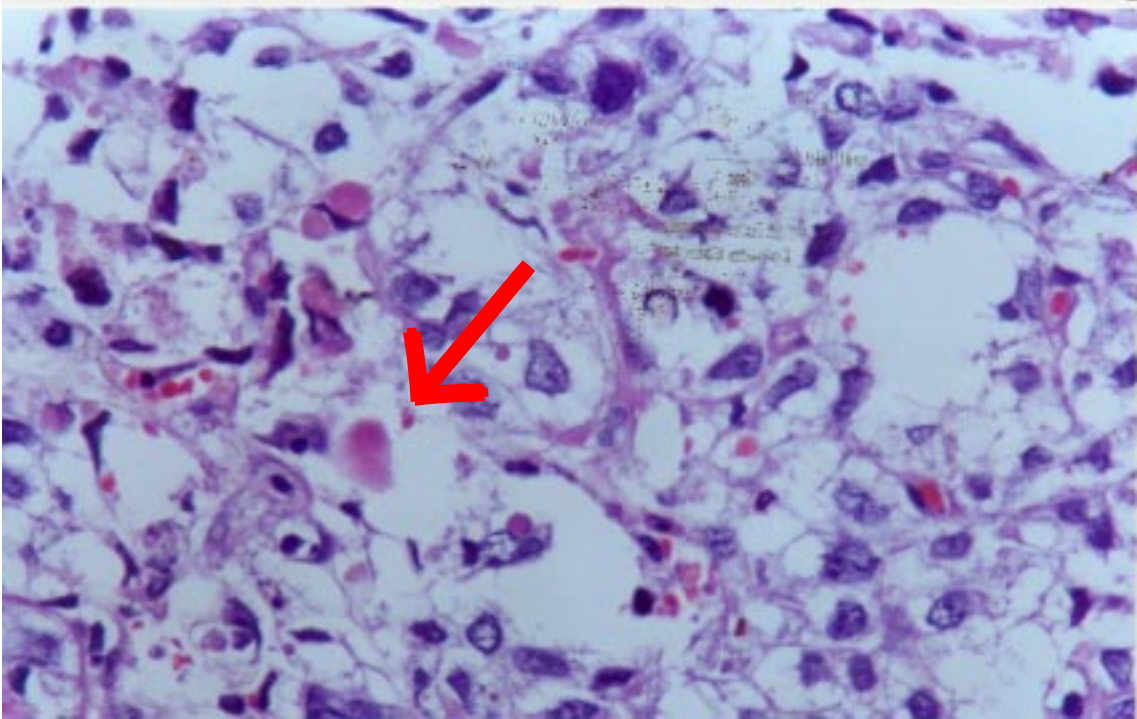


Foto 3. Tumor del seno endodermal que evidencia la presencia de cuerpos hialinos.
H&E x 400 .

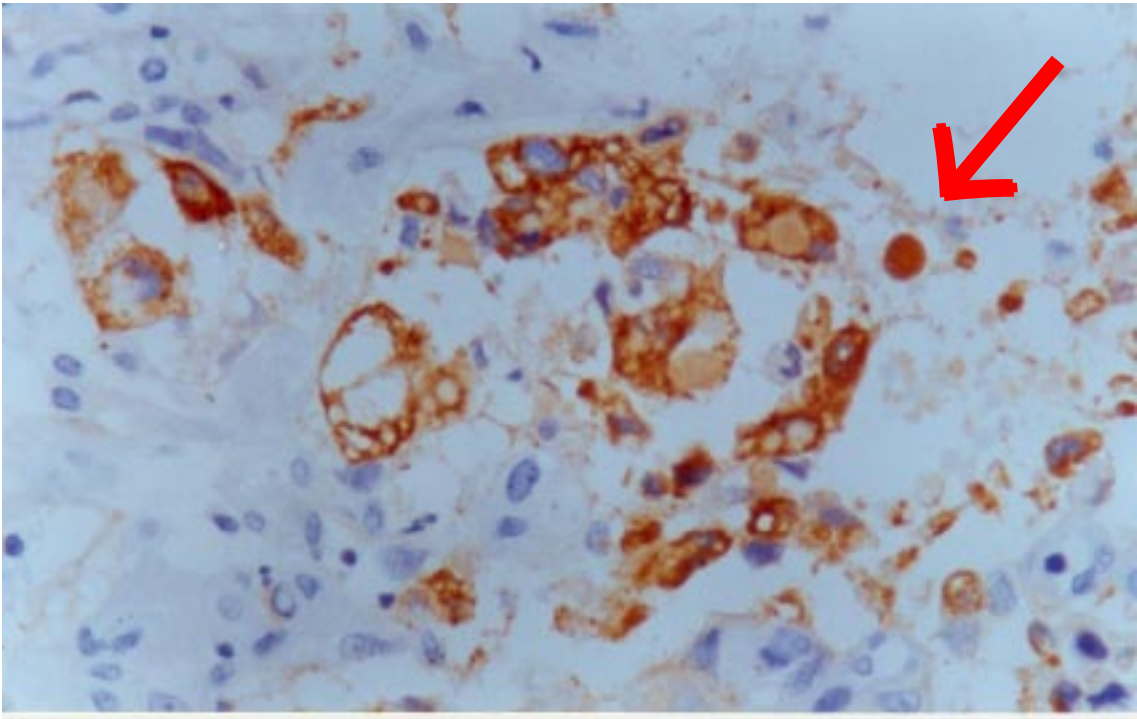


Foto 4. Inmunohistoquímica que marca positivo para alfa fetoproteína a los glóbulos hialinos.
H&E x 400.

supervivencia a 5 años (3). El tumor no responde a la radioterapia, pero el tratamiento combinado de quimioterapia y cirugía ha mejorado considerablemente el pronóstico. El tratamiento con VAC (Vincristina, Dactinomicina y Ciclofosfamida) se describe como el tratamiento de elección, produciendo reducción del volumen local del tumor (5).

Correspondencia:

Dr. Juvenal Sanchez Lihon.
Jefe del Departamento de Patología.
Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.
Av. Angamos 2520. Surquillo – Lima.
Telefonos: 4499137 – 2171300.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Kurman R, Norris H, Wilkinson E. Tumors of the Vagina; Atlas of tumor Pathology Tumors of the Cervix Vagina and Vulva. Third Series Fascicle Four. Armed Forces Institute of Pathology, Bethesda Maryland 1992: 141 – 178.
2. Chong S, Wee A, Yeoh S, Nilsson B, Chan S. Retroperitoneal Endodermal Sinus Tumor Report of a Case With an Abnormal Cervicovaginal Smear. *Acta Cytol* 1994; 38: 562 – 567.
3. Copeland L, Sneigge N, Ordoñez N, Hancock K, Gershenson D. Endodermal Sinus tumor of the vagina and cervix. *Cancer* 1985; 55: 2558 – 2565.
4. Clement P, Young R, Scully R. Extraovarian Pelvic Yolk Sac Tumors. *Cancer* 1988; 62: 620 – 626.
5. Andersen W, Sabio H, Durso N, Mills S, Levien M. Endodermal Sinus Tumor of the Vagina. *Cancer* 1985; 56: 1025 – 1027.
6. Ishi K, Suzuki F, Saito A, Koyatsu J, Kubota T. Cytodiagnosis of Vaginal Endodermal Sinus Tumor A Case Report. *Acta Cytol* 1998; 42: 399 – 402.
7. Imai A, Furui T, Yocoyama Y, Sawairi M, Shimokawa K. Case Report Endodermal Sinus Tumor of the Vagina in an Infant: Magnetic Resonance Imaging Evaluation. *Gynecologic Oncology* 1993; 48: 402 – 405.
8. Nogales F, Bergeron C, Carvia R, Alvaro T, Fulwood H. Ovarian Endometrioid Tumors with Yolk Sac Tumor Component an Unusual Form of Ovarian Neoplasm. *Am J Surg Pathol* 1996; 20 (9): 1056 – 1066.
9. Nogales F, Silverberg S, Bloustein P, Martínez-Hernandez A, Pierce B. Yolk Sac Carcinoma (Endodermal Sinus Tumor) Ultrastructure and Histogenesis of Gonadal and Extragonadal Tumors in Comparison with Normal Human Yolk Sac. *Cancer* 1977; 39: 1462 – 1474.
10. Parham D, Bugg M, Pratt C. Carcinomas, Adenomas, Precursor Lesions and Second malignancies; Pediatric neoplasia Morphology and Biology. Lippincott – Raven Publishers 1996: 363 – 404.
11. Rosai J. Female Reproductive System; Ackerman's Surgical Pathology. Eight Edition, Mosby 1996: 1319 – 1352.
12. Spatz A, Bouron D, Pautier P, Castaigne D, Duvillard P. Case Report Primary Yolk Sac tumor of the Endometrium: A Case Report and Review of the Literature. *Gynecologic Oncology* 1998; 70: 285 – 288.