

# Avances Biomedicina



may-ago 2014 volumen 3 número 2  
<http://erevistas.saber.ula.ve/biomedicina>



Depósito Legal: ppi201102ME3935  
ISSN: 2244-7881



***Sobre la Portada***

La portada resalta parte de los resultados del trabajo original publicado en este número por *Nieves et al*, sobre la evaluación de riesgo de transmisión entomológico de *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Mérida Venezuela.

## AVANCES EN BIOMEDICINA

Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica

### Autoridades ULA

**Dr. Mario Bonucci**

*Rector de la Universidad de los Andes*

**Dr. Patricia Rosenzweig Levy**

*Vicerrector Académico*

**Dr. Manuel Aranguren**

*Vicerrector Administrativo*

**Dr. José María Andrés**

*Secretaría*

**Dr. Gerardo Tovitto**

*Decano de la Facultad de Medicina*

**Dra. Siham Salmen Halabi**

*Directora del Instituto de Inmunología Clínica*

### Consejo Editorial

**Director Editorial**

Siham Salmen Halabi

**Editores Adjuntos**

Lisbeth Berrueta Carrillo

Guillermo Terán-Ángel

Luisa Barboza Carrillo

**Comité Editorial**

Nubia H Silva

Rima C Bahsas Zaky

Leidith Berrueta Carrillo

Daniela Montes-Berrueta

Joselyn Rojas Quintero

**Comisión de Arbitraje**

Barbara E Bierer

Carmen Mazei de Dávila

Darrell L Peterson

Diego F Dávila Spinetti

Jesús Alfonso Osuna

José H Donis

Librado Ortiz-Ortiz

Masyelly D Rojas

Mercedes González Coira

Morella C Bouchard

**Comité de Estilo**

July Andreina Contreras González,

Victoria Vellorín,

Avances en Biomedicina es el órgano divulgativo oficial del Instituto de Inmunología Clínica – ULA. Esta publicación periódica busca la promoción, difusión y discusión del impacto de los trabajos realizados por los miembros de la comunidad científica regional, nacional e internacional. Pretende además fomentar la actividad científica de difusión de resultados en los investigadores noveles, tanto en el área de pregrado como de postgrado.

Es una revista científica online, que a partir del 2013 tendrá una periodicidad cuatrimestral y cuenta con las siguientes secciones: Revisión, artículos originales, casos clínicos, cartas al editor, comunicaciones rápidas; y dos secciones destinadas a los investigadores noveles y a los pioneros en los diferentes campos de las ciencias de la medicina, biología y biotecnología. Esta revista cuenta con sistema de arbitraje, llevado a cabo por al menos dos revisores expertos en el área, seleccionados por el Consejo Editorial.

Avances en Biomedicina no se hace responsable del contenido, opiniones, aplicaciones o material que sea suministrado por los autores. Además, se asume que todas las publicaciones recibidas se rigen por las normas de honestidad científica y ética profesional, por lo que la revista no se hace responsable en el caso de que algún autor incurra en la infracción de las mismas.

#### Indizada en:

1. Repositorio Institucional de la Universidad de los Andes – SABER-ULA.
2. Índice Mexicano de Revistas Biomédicas Latinoamericanas (Inbiomed).
3. REVENCYT código: RV A040
4. Latindex
5. Index Copernicus International S.A.
6. SHERPA/RoMEO
7. DIALNET
8. eRevistas
9. Directory of Research Journal Indexing (DRJI)
10. Periódica (base de datos bibliográfica de revistas de ciencias y tecnología)
11. Directory of Research Journals Indexing
12. Redalyc
13. National Library of Medicine (NLM) Catalog
14. Directory of Open Access Journals (DOAJ)
15. Periódica (base de datos bibliográfica de revistas de ciencias y tecnología)

**VOLUMEN 3, N°2, MAYO-AGOSTO 2014**

**DEPÓSITO LEGAL: PPI201102ME3935**

**ISSN: 2244-7881**

#### Red:

Correos electrónicos:

[avanbiomed.idic@ula.ve](mailto:avanbiomed.idic@ula.ve), [avanbiomed.idic@gmail.com](mailto:avanbiomed.idic@gmail.com)

Acceso online:

<http://erevistas.saber.ula.ve/biomedicina>

<http://www.imbiomed.com.mx>

[http://www.revencty.ula.ve/rev\\_nuevas/principal.htm](http://www.revencty.ula.ve/rev_nuevas/principal.htm)

<http://www.latindex.org/buscador/ficRev.html?folio=21053&opcion=1>

<http://journals.indexcopernicus.com/passport.php?id=7837>

<http://www.sherpa.ac.uk/romeo/search.php?title=avances+en+biomedicina&issn=&zetocpub=Universidad+de+Los+Andes%2C+Instituto+de+Inmunolog%EDa+Cl%EDnica&romeopub=Unive rsidad+de+Los+Andes%2C+Instituto+de+Inmunolog%EDa+Cl%EDnica&fDnum=|&mode=simple &la=en&version=&source=journal&sourceid=23121>

<http://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=19470>

[http://www.erevistas.csic.es/ficha\\_revista.php?oai\\_iden=oai\\_revista751](http://www.erevistas.csic.es/ficha_revista.php?oai_iden=oai_revista751)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/?term=Avances+en+Biomedicina>

<https://doi.org/10.1186/1029-2925-2-1>

<http://www.drii.org/journalProfile.aspx?id=2244-7881>

<http://sjournals.net/sjournalsindex/?p=40>

#### Agradecimiento:

Financiada parcialmente por **FUNDACITE MÉRIDA S12-3863**

#### Instituto de Inmunología Clínica:

Dirección: Edificio Luis Pasteur, al lado del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes. Av. 16 de Septiembre, Sector Campo de Oro. Mérida 5101. Venezuela.

#### Copyright:

Derechos reservados. Queda prohibida la reproducción total o parcial de todo el material contenido en la revista sin el consentimiento por escrito de los editores.



## Tabla de contenido

### EDITORIAL

- 50 **Venezuela: país potencia**  
*Jesús Alfonso Osuna C*

### ARTÍCULOS ORIGINALES

- 51-56 **Concentraciones plasmáticas de cortisol materno secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal**  
*Maternal plasma cortisol concentrations secondary to betamethasone use for fetal lung maturity*  
*Keibis Jiménez-Castillejo, Yolima Ruiz-Lopez, Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Jhoan Aragón-Charris, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil*
- 57-64 **Riesgo de transmisión de Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Mérida Venezuela**  
*Transmission risk of Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in Mérida state Venezuela*  
*Elsa Nieves, Luzmary Oraá, Yorfer Rondón, Mireya Sánchez, Yetsenia Sánchez, Maria Rujano, Maritza Rondón, Masyelly Rojas, Nestor Gonzalez, Dalmiro Cazorla*
- 65-75 **Dinamic changes of pro-inflammatory cytokines, adhesion molecules and lymphocytes activation markers as early indicators of diseases severity in patients with Dengue**  
*Cambios dinámicos de citoquinas proinflamatorias, moléculas de adhesión y marcadores de activación linfocítica como indicadores tempranos de severidad en pacientes con Dengue*  
*Silvana Vielma, María Odreman-Macchioli, Saberio Pérez, Noraida Mosqueda, Guillermo Comach, Luis Téllez, José Mendoza*
- 76-83 **Factor de crecimiento vascular endotelial total y Doppler de las arterias uterinas en preeclámpticas y embarazadas normotensas sanas**  
*Total vascular endothelial growth factor and Doppler of uterine arteries in preeclamptic patients and healthy normotensive pregnant women*  
*Eduardo Reyna-Villasmil, Jorly Mejia-Montilla, Joel Santos-Bolívar, Duly Torres-Cepeda, Yolimar Navarro-Briceño, Nadia Reyna-Villasmil, Ismael Suarez-Torres*

### REVISIONES Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

- 84-92 **Role of Free Radicals, Oxidative Stress and Xenobiotics in Carcinogenesis by Environmental Pollutants**  
*Papel de los radicales libres, estrés oxidativo y xenobioticos en la carcinogénesis por contaminación ambiental*  
*Dibyajyoti Saha*



## CASOS CLÍNICOS

- 93-97 **Leiomioma perianal. Reporte de un caso.**  
*Perianal leiomyoma. A case report*  
Yorlenis C Uzcátegui R, Ángel A Rodríguez U; Luigi R Flores; Rafael E Colina S, Hansely Arcos O, Gery Ruiz C, Henry Ramírez, Humberto Ruz
- 98-101 **Lesión de paladar duro por uso crónico de cocaína. Reporte de un caso**  
*Hard palate lesion due to chronic cocaine use. Report of a case*  
José Luis D'Addino, María Mercedes Pigni, Silvia Venegas
- 102-109 **Linfoma de células B de la zona marginal extraganglionar del tejido linfoide asociado a mucosa (linfoma MALT) de pulmón.**  
*Extranodal marginal zone B-cell lymphoma of pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)*  
Carlos Vergara-Uzcátegui, Melizabeth Ruiz
- 110-115 **Esthesioneuroblastoma, una tumoración poco frecuente. A propósito de un caso**  
*Esthesioneuroblastoma, a rare tumor. A case report*  
Ángel A Rodríguez U, Hansely K Arcos O, Daniel A Ascue G, Saúl A Moreno D, Adán A Muñoz R, Gery R Ruiz C, Helen D Uzcátegui C, Yorlenis C Uzcátegui R, José Plaza, Roger Velazco, Pedro Smith
- 116 **INSTRUCCIONES A LOS AUTORES**
- 117 **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**
- 118-119 **ÉTICA DE LAS PUBLICACIONES & DECLARACIÓN DE MALA PRAXIS/ PUBLICATION ETHICS & MALPRACTICE STATEMENT**

## Editorial

### Venezuela: país potencia

Recientemente el Ministerio del Poder Popular para la Educación convocó a una Consulta Nacional por la Calidad Educativa, acto en el cual el Ministro expresó: “es para lograr que Venezuela sea un país potencia”. Otro funcionario sentenció, “somos el segundo país en América Latina y quinto en el mundo con mayor presencia de jóvenes en recintos universitarios”. En efecto, la matrícula universitaria creció 203% entre el año 1997 y el 2010; en 1997 había 756.000 estudiantes universitarios inscritos, cifra que aumentó hasta 2.294.000 en el año 2010. Estadísticas que generan muchas interrogantes, una de ellas relacionada con la “calidad educativa”; lo cual nos obliga a recordar que hay programas e indicadores confiables para un auténtico diagnóstico del rendimiento de la educación, particularmente de primaria y secundaria. Sin embargo, quienes han conducido la educación en nuestro país, nunca evaluaron seriamente su rendimiento; peor aún, en la última década se ha sacrificado la calidad educativa en aras de la cantidad de matrícula.

En nuestro país, después de la Reforma Educativa en la Educación Básica de 1996, se aplicó un sistema para conocer el rendimiento de la educación básica, pero el proceso no se continuó ni se evaluaron sus resultados. Por otra parte, algunos países Latinoamericanos aplican la Prueba Internacional de Aprendizaje PISA (Programa para la Evaluación Internacional de Alumnos) por sus siglas en inglés, prueba que desde el año 2000 se aplica cada tres años a estudiantes próximos a finalizar la educación obligatoria (15 años de edad), para medir las competencias en: lectura, matemáticas y ciencias. En el año 2009, participaron 65 países; entre ellos nueve de América Latina y el Caribe. Los estudiantes de los países de la región siguen ubicándose entre los de menor desempeño, en todas las competencias. Chile y México son los países de la región con mejor desempeño, pero aun así, por debajo de los resultados arrojados por los países desarrollados. Venezuela dejó de participar en el programa PISA en el año 2003. En el año 2012, aparece registrado con muestra pequeña (Estado Miranda) cuyos resultados fueron evaluados por varios educadores venezolanos.

Tres de las seis grandes conclusiones que se derivaron de PISA 2009: (a) la pieza clave de la calidad de la educación en el medio escolar son y continúan siendo los maestros; (b) más inversión en educación no asegura mejor educación; los recursos financieros son condición necesaria, pero no suficiente; no importa cuánto, sino en qué y cómo se gasta; y (c) no menos importante, incrementar los salarios docentes, junto con mayor atención dedicada a la situación general de los docentes, contribuye a mejorar la calidad de la educación.

Los países que sustentan el progreso y bienestar de sus pueblos lo logran con base en la calidad de sus sistemas educativos. El monto del gasto público destinado para ese fin es un indicador confiable.

Suiza, por ejemplo, destina 8,8% y Finlandia 6,8% de su PIB para educación. Éstos son dos países emblemáticos en relación con niveles de progreso y bienestar social. Venezuela en el año 2009 destinó 6,9% de su PIB en educación, porcentaje alto si lo comparamos con Japón 3,8%, China 6,8%, Canadá 5,0% y USA 5,4%. Sin embargo, una alta inversión no siempre guarda relación directa con mejores resultados en programas educativos. Muchos países que muestran alto nivel educativo, con base en el Programa PISA, no están necesariamente entre los que más invierten en educación. Ejemplo: Japón 3,8% y Singapur 3,3% de su PIB. El asunto no es sólo cuánto se gasta, sino cómo se gasta y cuál es el producto de la inversión. En relación con educación superior tenemos una referencia cercana, Ecuador es el país de América Latina que más invierte en educación superior: 1,86% respecto al PIB, mientras Venezuela, en el 2013, destinó 0,9% del PIB en esta área.

A propósito de la educación superior, las universidades venezolanas que no muestran afinidad con el sistema ideológico que se nos intenta imponer, son objeto de una brutal arremetida, no sólo contra su planta física, sino lo que es peor, contra sus laboratorios y bibliotecas, así como la agresión contra autoridades, docentes y alumnos. El documento del Núcleo de Coordinadores de los Consejos de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) y sus equivalentes, del 22/05/2014, es revelador de la situación de precariedad en que se encuentran las Universidades Venezolanas, en lo que concierne a sus actividades esenciales y en particular, la investigación científica.

Organismos Internacionales que se ocupan de evaluar el desarrollo de la economía en el mundo, proyectan que Venezuela decrecerá 0,5% este año, y que en el próximo 2015 el declive se acentuará hasta menos de 1%, para ubicarnos en los últimos lugares de los países de América Latina. Además, para finales de este año, en nuestro país, se pronostica una inflación de 70%. Alarma en extremo la información precedente, así como, el nada honroso primer lugar que ocupa Venezuela (79,4%), en la lista de 89 países, en el estudio del Índice Mundial de Miseria (2013); la causa principal, según este estudio y de acuerdo con cifras oficiales, son los altos precios de los productos debido a la inflación, seguido de la escasez de productos, (Steve H. Hanke, Profesor de Economía de Johns Hopkins University). Con tan sombrío panorama de duras realidades, y con un sistema educativo que no está en sintonía con los nuevos tiempos ¿podrán los altos jefes de este gobierno mantener la quimera de: “convertir a Venezuela en País Potencia”?

Doctor Jesús Alfonso Osuna C.  
Email: [jesusosuna@gmail.com](mailto:jesusosuna@gmail.com).

Como citar éste artículo: Osuna JA. Venezuela: país potencia. *Avan Biomed* 2014; 3: 50



## Concentraciones plasmáticas de cortisol materno secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal (Maternal plasma cortisol concentrations secondary to betamethasone use for fetal lung maturity)

Keibis Jiménez-Castillejo<sup>1</sup>, Yolima Ruiz-Lopez<sup>1</sup>, Eduardo Reyna-Villasmil<sup>1</sup>✉, Duly Torres- Cepeda<sup>1</sup>, Joel Santos-Bolívar<sup>1</sup>, Jhoan Aragón-Charris<sup>1</sup>, Jorly Mejía-Montilla<sup>1</sup>, Nadia Reyna-Villasmil<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Servicio de Obstetricia y Ginecología, Maternidad "Dr. Nerio Belloso", Hospital "Dr. Urquinaona", Maracaibo - Venezuela.

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 24 de Septiembre de 2013. Aceptado: 02 de Febrero de 2014.

### Resumen (español)

El objetivo de la investigación fue determinar las concentraciones plasmáticas de cortisol materno secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal. Se realizó una investigación con un diseño tipo cuasi-experimental y una muestra no probabilística intencional de 106 pacientes que acudieron a la consulta pre-natal de alto riesgo del Hospital Central "Dr. Urquinaona". Una vez seleccionadas las pacientes se le administró inyecciones intramusculares de betametasona (12 mg) por dos días consecutivos. Las mediciones se realizaron en tres ocasiones: La primera medición, antes de la administración de la primera dosis de betametasona; la segunda medición, 24 horas después de la segunda y última inyección; y la tercera medición, siete días luego de la administración de la última dosis de betametasona. Se observó que las inyecciones con betametasona producían disminuciones de las concentraciones plasmáticas de cortisol materno, ya que el valor de la primera medición fue de 30,1 +/- 9,4 picogramos/dL, las concentraciones disminuyeron a 5,6 +/- 1,9 picogramos/dL durante la segunda medición y luego aumentaron a 23,2 +/- 4,2 picogramos/dL a la tercera medición. Las variaciones de las concentraciones de cortisol de la segunda y tercera medición se consideraron estadísticamente significativas al compararlas con las concentraciones iniciales ( $p = 0,001$ ). Se concluye que el uso de betametasona para inducir la maduración pulmonar fetal produce disminución significativa en las concentraciones plasmáticas de cortisol materno

### Palabras clave (español)

*Betametasona, maduración pulmonar fetal, cortisol.*

### Abstract (english)

The objective of research was to determine plasma concentrations of maternal cortisol secondary to betamethasone use for fetal lung maturity. A quasi-experimental type design was done with an intentional non-probabilistic sample of 106 patients who assisted to High Risk Antenatal Consult at Hospital Central "Dr. Urquinaona". Once patients were selected, two intramuscular injections of betamethasone (12 mg) were administered for two consecutive days. Measurements were done in three occasions: first measurement, before first dose of betamethasone; second measurement 24 hours after second and last injection and third measurement, seven days later of last dose of betamethasone. There was observed that betamethasone injections produced decreased plasma concentrations of maternal cortisol, due first measurement value was 30.1 +/- 9.4 picograms/dL, concentrations decreased to 5.6 +/- 1.9 picograms/dL at second measurement and then rised to 23.2 +/- 4.2 picograms/dL at third measurement. Variations of cortisol concentrations at second and third measurement were considered significant when compared with initial values ( $p = 0.001$ ). It is concluded that betamethasone use for induction of fetal lung maturity produced significant decreased in plasma concentrations of maternal cortisol

### Keywords (english)

*Betametasona, pulmonar maturation, cortisol.*

## Introducción

Liggins y col. (1) fueron los primeros en reportar una disminución del síndrome de dificultad respiratoria entre los recién nacidos prematuros de embarazadas tratadas con corticosteroides antes del parto. Estudios posteriores han confirmado su trabajo y han demostrado beneficios adicionales de la administración de corticosteroides prenatales, incluyendo disminución de la incidencia y severidad de la hemorragia intraventricular, enterocolitis necrotizante y mortalidad perinatal (2). La administración de dos dosis de corticosteroides durante dos días en las embarazadas con riesgo de parto pretérmino es una de las pocas intervenciones perinatales que han demostrado ser beneficiosas para el neonato y se ha convertido en una práctica obstétrica habitual cuando existe el riesgo de parto pretérmino (3).

El cortisol es secretado por las células de la capa fascicular de la corteza suprarrenal. Como son hormonas esteroides, se sintetizan a partir del colesterol, por medio de enzimas de la familia del citocromo P450. La actividad de algunas de estas enzimas, como la colesterol desmolasa, se incrementa por la acción de la corticotropina (ACTH) (4). El ACTH es liberado por la hipófisis anterior en respuesta al estrés, y es el principal estimulador de la síntesis de glucocorticoides. El cortisol puede sufrir la acción de la enzima  $11\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, en el hígado y otros tejidos periféricos (5).

En humanos adultos que reciben tratamiento de reemplazo con glucocorticoides o dosis farmacológicas de corticosteroides sintéticos presentan una disminución (40% - 60%) en las concentraciones de cortisol plasmático (6). Las concentraciones de cortisol van aumentando gradualmente durante el embarazo en humanos (7) y esto es considerado como el reflejo de la estimulación del eje hipotálamo – hipófisis – suprarrenal juntos con los cambios en la síntesis de globulina fijadora de corticosteroides (8). También se ha descrito que las concentraciones de diferentes hormonas lipídicas disminuyen después de una dosis única de corticosteroides de larga duración que atraviesan libremente la placenta y suprimen la glándula suprarrenal fetal (9). Sin embargo, los efectos de los corticosteroides exógenos sobre las concentraciones de cortisol materno para la inducción de la maduración pulmonar fetal en el tercer trimestre son desconocidos.

El objetivo de la investigación fue determinar las concentraciones plasmáticas de cortisol materno secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal.

## Materiales y métodos

La investigación con un diseño tipo cuasi-experimental y una muestra no probabilística intencional de 106 pacientes que acudieron a la consulta pre-natal de alto riesgo del Hospital Central "Dr. Urquinaona". El Comité de Ética del hospital aprobó la investigación y se obtuvo el consentimiento informado de todas las pacientes.

Se incluyeron embarazadas entre 18 y 40 años de edad, con embarazos de 24 a 34 semanas de gestación, y embarazos de alto riesgo (por ejemplo, cirugías uterinas previas, tumoraciones uterinas) que ameritaron la administración de betametasona para la inducción de la maduración pulmonar fetal.

Se excluyeron las pacientes con embarazadas con polihidramnios, hemorragia del tercer trimestre, sospecha de restricción del crecimiento intrauterino del feto (circunferencia cefálica, circunferencia abdominal y longitud del fémur menor del percentil 10 de referencia), síndrome de HELLP, alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal, gestaciones múltiples, presencia de infección intrauterina o materna activa, enfermedad hipertensiva crónica o gestacional, enfermedad cardíaca, hepática, renal o sistémica crónica, diabetes mellitus pre o gestacional y hábito tabáquico. También se excluyeron a las pacientes que se negaron a participar en la investigación.

Una vez seleccionadas las pacientes se les administraron inyecciones intramusculares de betametasona (12 mg) por dos días consecutivos. Las mediciones plasmáticas de cortisol materno se realizaron en tres ocasiones: La primera medición, antes de la administración de la primera dosis de betametasona; la segunda medición, 24 horas después de la segunda y última inyección; y la tercera medición, siete días luego de la administración de la última dosis de betametasona para la maduración pulmonar fetal.

Las muestras de sangre para la determinación de cortisol se recolectaron en todas las pacientes en posición supina en las tres ocasiones a las 8 am y luego de 10 horas de ayuno. Se tomaron las muestras (10 ml) de la vena antecubital, se centrifugaron a 3.000 rpm por 10 minutos a 4º C para ser posteriormente fueron almacenadas a - 20º C hasta el momento de la

determinación. Se utilizó una prueba de radioinmunoensayo convencional utilizando un tubo cubierto de anticuerpos para determinar las concentraciones de cortisol plasmático. El fabricante aseguró que no existe reactividad cruzada detectable entre el cortisol y la betametasona. La sensibilidad de la prueba fue de 2 picogramos/dL. Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio de las dos mediciones fue el resultado final. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo fueron de 6% y 5%, respectivamente.

Los resultados se presentan en figuras. Se utilizaron medidas absolutas y relativas. Una vez que se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar el tipo de distribución de los datos, se confirmó que la distribución de estos era igual a la normal ( $p = ns$ ). La comparación de las concentraciones plasmáticas de cortisol se realizó utilizando la prueba de ANOVA utilizando la post-prueba de Dunnett utilizando como control los valores de la primera medición (antes del uso de la betametasona). Se consideró  $p < 0,05$  como estadísticamente significativa

## Resultados

Se seleccionaron 106 pacientes que fueron sometidas a inyecciones de betametasona para inducir la maduración pulmonar fetal. La edad promedio de las pacientes fue de 22,6 +/- 5,1 años y la edad gestacional al momento del tratamiento fue de 31,8 +/- 3,0 semanas.

Se observó que las inyecciones con betametasona producían disminuciones de las concentraciones de cortisol (figura 1), ya que el valor de la primera medición fue de 30,1 +/- 9,4 picogramos/dL, las concentraciones disminuyeron a 5,6 +/- 1,9 picogramos/dL durante la segunda medición y luego aumentaron a 23,2 +/- 4,2 picogramos/dL en la tercera medición. Las variaciones de las concentraciones de cortisol de la segunda y tercera medición se consideraron estadísticamente significativas al compararlas con las concentraciones iniciales ( $p = 0,001$ ).

## Discusión

La maduración eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal fetal es un hecho confirmado al final del embarazo en varias especies animales, al igual que en los fetos humanos. El incremento en las concentraciones plasmáticas de cortisol aporta una

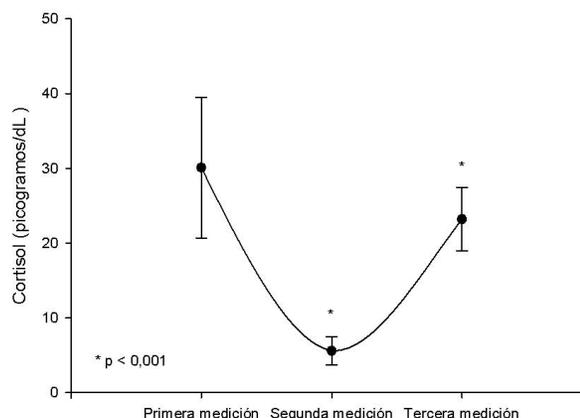


Figura 1. Valores promedio de las concentraciones plasmáticas de cortisol materno antes y después del uso de betametasona.

parte del estímulo para aquellos órganos y sistemas que son necesarios para la vida extrauterina y pueden contribuir a los estímulos que conducen al inicio del parto (10). Los resultados de esta investigación demuestran que la administración materna de betametasona produce una disminución secundaria en las concentraciones de cortisol plasmático en las embarazadas tratadas para acelerar la maduración pulmonar fetal.

Diferentes estudios demuestran que en la mitad y en la parte final del embarazo los 17-hidroxiesteroides urinarios y el índice de secreción de cortisol están disminuidos (11-13). Por tanto, la concentración plasmática aumentada de cortisol no es consecuencia de un aumento de la secreción de la hormona. Estos datos corroboran que hay un pequeño aumento del cortisol libre del plasma, puesto que su excreción está en función de la concentración global de cortisol plasmático no ligado. Aunque las mujeres embarazadas no manifiesten signos ni síntomas evidentes del hipercortisolemia, existe coincidencia en que los niveles plasmáticos de cortisol libre o no ligado aumentan durante el embarazo. Dado que el embarazo no se acompaña de modificaciones del índice de secreción de cortisol, es muy probable que exista un reajuste del punto fijo en la retroacción negativa entre el cortisol no ligado y la ACTH (14).

Se ha sugerido que la relación entre las concentraciones plasmáticas de cortisol y las de globulina fijadora de corticosteroides permanecen relativamente constantes durante el embarazo pero pueden estar elevadas en las embarazadas con riesgo de parto pretérmino (15). Después de la administración de betametasona, se suprimen las

concentraciones de cortisol pero las concentraciones de la globulina se mantienen sin alteraciones; además la relación de las concentraciones plasmáticas de cortisol y las de globulina fijadora de corticosteroides disminuyen en forma marcada. La supresión a largo plazo del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal fetal por la administración de corticosteroides maternos y la supresión del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal materno y de las hormona liberadora de corticotropina placentaria y ACTH son mecanismos potenciales para los efectos adversos en el feto y el recién nacido. Los efectos sobre el desarrollo humano a largo plazo de la administración materna de corticosteroides son contradictorios (16,17).

Dos estudios han evaluado los efectos de múltiples dosis de esteroides prenatales sobre el eje hipotálamo – hipófisis - suprarrenal a diferentes edades gestacionales. McKenna y col. (18) demostraron que las embarazadas que reciben múltiples dosis de corticosteroides prenatales tienen insuficiencia adrenal secundaria en la semana siguiente a la última dosis. Helal y col. (19) demostraron una supresión adrenal progresiva en las embarazadas que recibían varias dosis de corticosteroides antenatales. Los datos de ambos trabajos confirman los hallazgos de la presente investigación en el cual las embarazadas en el presente estudio recibieron solo dos dosis de betametasona, lo comúnmente recomendado en la práctica clínica diaria.

Otro elemento importante es que en sujetos no embarazados, cuando las concentraciones plasmáticas de cortisol entre las 8 am y las 9 am son menores de 3,0 picogramos/dL son indicadores de insuficiencia suprarrenal (20). En la presente investigación, ninguna embarazada presentó esos valores en la primera y tercera medición comparándolas con 9 embarazadas (8,5%) presentaron valores basales de cortisol menores de 3,0 picogramos/dL en la segunda medición realizadas a las 8 am. Estos datos indican que las determinaciones de cortisol basal a las 8 am durante el tercer trimestre del embarazo pueden indicar la aparición de una insuficiencia adrenal secundaria transitoria en un pequeño grupo de embarazadas que reciben dos dosis de betametasona para la inducción de la maduración pulmonar fetal.

Aunque la presente investigación se centra sobre los efectos maternos del esquema comúnmente

recomendado de betametasona durante el periodo prenatal, también existen potenciales efectos adversos fetales. El sinciotrofoblasto y el citotrofoblasto controlan el paso de cortisona materna y la disponibilidad de cortisol biológicamente activo hacia el feto (21). La modulación placentaria del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal se logra con las hormonas peptídicas placentarias que son homologas a la hormona liberadora de ACTH hipotalámico y la ACTH hipofisario (21). En la rata, el exceso de glucocorticoides durante el embarazo tiene un fuerte efecto inhibitorio sobre la estructura y función de las glándulas suprarrenales fetales (22,23). Sin embargo, un estudio que evaluó los recién nacidos de mujeres a quienes se les administró dosis habituales de dexametasona preparto para la maduración fetal pulmonar, no pudo demostrar ningún efecto de la respuesta de la hormona liberadora de ACTH a los 7 días de nacidos (24). La dexametasona administrada en el periodo post-natal como tratamiento de enfermedad pulmonar crónica ha demostrado que suprime la función suprarrenal y los efectos pueden persistir después de detener el tratamiento con los esteroides (25,26). Son escasas las evidencias de los efectos a largo plazo de la administración de corticosteroides durante el embarazo. Los únicos datos convincentes son los de una investigación que demostró diferencias psicológicas entre los controles y los niños de madres que recibieron corticosteroides durante el embarazo por presentar hiperplasia adrenal congénita (27).

Los beneficios y riesgo de dosis repetidas de corticosteroides prenatales debe ser cuidadosamente evaluada. Hasta que exista más evidencia de la eficacia y necesidad de varias dosis de corticosteroides durante el embarazo para disminuir la morbilidad y mortalidad perinatal, los corticosteroides prenatales solo deben ser utilizados en aquellos embarazos con mayor riesgo de parto pretérmino. Más aún, no existen datos suficientes que apoyen el uso de más de dos dosis de corticosteroides por indicación profiláctica.

Sobre la base de los resultados de la investigación, se puede concluir que el uso de betametasona para inducir la maduración pulmonar fetal produce disminución significativa en las concentraciones plasmáticas de cortisol materno

## Referencias

1. Liggins GC, Howie RN. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics*. 1972;50:515-25. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
2. Riley CA, Boozer K, King TL. Antenatal corticosteroids at the beginning of the 21st century. *J Midwifery Womens Health*. 2011; 56: 591-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
3. Peltoniemi OM, Kari MA, Hallman M. Repeated antenatal corticosteroid treatment: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2011; 90: 719-27. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
4. Chapman K, Holmes M, Seckl J. 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gate-keepers of tissue glucocorticoid action. *Physiol Rev*. 2013; 93: 1139-206. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
5. Ni XT, Duan T, Yang Z, Guo CM, Li JN, Sun K. Role of human chorionic gonadotropin in maintaining 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in human placental syncytiotrophoblasts. *Placenta*. 2009; 30: 1023-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
6. Klieber MA, Underhill C, Hammond GL, Muller YA. Corticosteroid-binding globulin, a structural basis for steroid transport and proteinase-triggered release. *J Biol Chem*. 2007; 282: 29594-603. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
7. Doe RP, Fernandez R, Seal US. Measurement of corticosteroid-binding globulin in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1964; 24: 1029-39. [\[PubMed\]](#)
8. Berdusco ET, Yang K, Hammond GL, Challis JR. Corticosteroid-binding globulin (CBG) production by hepatic and extra-hepatic sites in the ovine fetus; effects of CBG on glucocorticoid negative feedback on pituitary cells in vitro. *J Endocrinol*. 1995; 146: 121-30. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
9. Celik C, Acar A, Cicek N, Koc H, Ak D, Akyurek C. Corticosteroid treatment for prevention of prematurity complications. *Arch Gynecol Obstet*. 2002; 267: 90-4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
10. Mastorakos G, Ilias I. Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. *Ann N Y Acad Sci*. 2003; 997: 136-49. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
11. Schatz M, Leibman C. Inhaled corticosteroid use and outcomes in pregnancy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005; 95: 234-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
12. Sloboda DM, Moss TJ, Gurrin LC, Newnham JP, Challis JR. The effect of prenatal betamethasone administration on postnatal ovine hypothalamic-pituitary-adrenal function. *J Endocrinol*. 2002;172: 71-81. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
13. Karteris E, Vatish M, Hillhouse EW, Grammatopoulos DK. Preeclampsia is associated with impaired regulation of the placental nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway by corticotropin-releasing hormone (CRH) and CRH-related peptides. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90: 3680-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
14. Tsagarakis S, Roboti C, Kokkoris P, Vasiliou V, Alevizaki C, Thalassinos N. Elevated post-dexamethasone suppression cortisol concentrations correlate with hormonal alterations of the hypothalamo-pituitary adrenal axis in patients with adrenal incidentalomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998; 49: 165-71. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
15. Korebrits C, Yu DH, Ramirez MM, Marinoni E, Bocking AD, Challis JR. Antenatal glucocorticoid administration increases corticotrophin-releasing hormone in maternal plasma. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998; 105: 556-61. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
16. Dalziel SR, Lim VK, Lambert A, McCarthy D, Parag V, Rodgers A, Harding JE. Antenatal exposure to betamethasone: psychological functioning and health related quality of life 31 years after inclusion in randomised controlled trial. *BMJ*. 2005; 331: 665. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
17. Dalziel SR, Walker NK, Parag V, Mantell C, Rea HH, Rodgers A, Harding JE. Cardiovascular risk factors after antenatal exposure to betamethasone: 30-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2005; 365: 1856-62. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
18. McKenna DS, Fisk AD. The effect of a single course of antenatal corticosteroids on maternal adrenal function at term. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2004; 16: 33-6. [\[PubMed\]](#)
19. Helal KJ, Gordon MC, Lightner CR, Barth WH Jr. Adrenal suppression induced by betamethasone in women at risk for premature delivery. *Obstet Gynecol*. 2000; 96: 287-90. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
20. Leow MK. A hypothetical index of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function. *Horm Metab Res*. 2005; 37: 1-3. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
21. Schindler AE. Endocrinology of pregnancy: consequences for the diagnosis and treatment of pregnancy disorders. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;97: 386-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
22. Stojanoski MM, Nestorović N, Negić N, Filipović B, Sosić-Jurjević B, Milosević V, Sekulić M. The pituitary-adrenal axis of fetal rats after maternal dexamethasone treatment. *Anat Embryol (Berl)*. 2006; 211: 61-9. [\[PubMed\]](#)
23. Stojanoski MM, Nestorović N, Filipović B, Milosević V. ACTH-producing cells of 21-day-old rat fetuses after maternal dexamethasone exposure. *Acta Histochem*. 2004; 106: 199-205. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
24. Ng PC, Lam CW, Lee CH, Chan IH, Wong SP, Fok TF. Suppression and recovery of the hypothalamic function after high-dose corticosteroid treatment in preterm

- infants. *Neonatology*. 2008; 94: 170-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
25. Ford LR, Willi SM, Hollis BW, Wright NM. Suppression and recovery of the neonatal hypothalamic-pituitary-adrenal axis after prolonged dexamethasone therapy. *J Pediatr*. 1997; 131: 722-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
26. Ng PC, Wong GW, Lam CW, Lee CH, Wong MY, Fok TF, Wong W, Chan DC. Pituitary-adrenal response in preterm very low birth weight infants after treatment with antenatal corticosteroids. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82: 3548-52. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
27. Hirvikoski T, Nordenström A, Lindholm T, Lindblad F, Ritzén EM, Lajic S. Long-term follow-up of prenatally treated children at risk for congenital adrenal hyperplasia: does dexamethasone cause behavioural problems? *Eur J Endocrinol*. 2008; 159: 309-16. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

**Como citar éste artículo:** Jiménez-Castillejo K, Ruiz-Lopez Y, Reyna-Villasmil E, Torres- Cepeda D, Santos-Bolívar J, Aragón-Charris J, Mejia-Montilla J, Reyna-Villasmil N. Concentraciones plasmáticas de cortisol materno secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal. *Avan Biomed* 2014; 3: 51-6.

## Riesgo de transmisión de *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Mérida Venezuela

### (Transmission risk of *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in Mérida state Venezuela)

Elsa Nieves<sup>1</sup>✉, Luzmary Oraá<sup>1</sup>, Yorfer Rondón<sup>1</sup>, Mireya Sánchez<sup>1</sup>, Yetsenia Sánchez<sup>1</sup>, Maria Rujano<sup>1</sup>, Maritza Rondón<sup>1</sup>, Masyelly Rojas<sup>1</sup>, Nestor Gonzalez<sup>1</sup>, Dalmiro Cazorla<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> LAPEX-Laboratorio de Parasitología Experimental, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. <sup>2</sup> LEPAMET-Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Falcón – Venezuela

[TRABAJO ORIGINAL]

Recibido: 25 de Marzo de 2014. Aceptado: 4 de Junio de 2014.

#### Resumen (español)

La leishmaniasis es una enfermedad causada por la infección de un parásito protozoario del género *Leishmania*, transmitido por la picada de insectos hematófagos conocidos como flebotominos. El estudio tiene como objetivo determinar la presencia de flebotominos en los Distritos Sanitarios del estado Mérida y diseñar un mapa de riesgo de transmisión entomológico. Se utilizaron cuatro métodos de captura de flebotominos, los ejemplares se identificaron y se les determinó la infección natural por *Leishmania*. Se estimó la riqueza de especies, y se realizó un proceso analítico Jerárquico. Los resultados muestran la presencia de diversas especies de flebotominos en los Distritos Sanitarios del estado Mérida, siendo las especies de mayor frecuencia *L. youngi*, *L. gomezi*, *L. ovallesi* y *L. walkeri*. Se detectó 2,1% de infección natural con *Leishmania*, la cual se encontró en las 4 especies más frecuentes. Se presenta un mapa de riesgo de transmisión entomológico para el estado Mérida. El conocimiento de la situación actual de los vectores de *Leishmania* en el estado Mérida y el riesgo de transmisión son relevantes a la hora de considerar la prevención y posible surgimiento de nuevos brotes de leishmaniasis.

#### Palabras clave (español)

Flebotominos, leishmaniasis, transmisión, riesgo, vectores, leishmania, Mérida, Venezuela.

#### Abstract (english)

The leishmaniasis is a disease caused by infection with a protozoan parasite of the genus *Leishmania*, transmitted by the bite of blood-sucking insects known as sandflies. The study aims to determine the presence of sandflies in Merida state health districts and design a map of entomological risk of transmission. Four methods capture sandflies were used, the specimens were identified and natural *Leishmania* infection was determined. The richness species was estimated and analytic Hierarchie procesess was performed. The results show the presence of various species of sandflies in Merida state health districts, *L. youngi*, *L. gomezi*, *L. ovallesi* and *L. walkeri* were most abundant species. The 2.1% of natural infection with *Leishmania* was detected, which were found in the 4 most abundant species. A map of risk of transmission to Mérida is presented. Knowledge of the current status of *Leishmania* vectors in Mérida and the risk of transmission are relevant when considering the prevention and possible emergence of new outbreaks of leishmaniasis.

#### Keywords (english)

Sandflies, leishmaniasis, transmission, risk, vector, leishmania, Mérida, Venezuela.

#### Introducción

La leishmaniasis es una parasitosis causada por la infección de un protozoario del género

*Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), la cual afecta al humano y a mamíferos salvajes o domésticos, con distintas manifestaciones clínicas en el humano, que van desde lesiones cutáneas y mucocutáneas hasta visceral. Diferentes factores, ligados tanto a la actividad humana como a los cambios climáticos, influyen en su distribución y hacen que se considere una enfermedad re-emergente (1,2). Se conocen más de 20 especies y subespecies de *Leishmania* patógenas para el humano, las cuales se ubican dentro de dos subgéneros, *Leishmania* y *Viannia* (3,4). Los flebotominos (Diptera: Psychodidae) son los insectos transmisores de *Leishmania* pertenecientes en el Nuevo Mundo al género *Lutzomyia*. Se ha estimado que de las 400 especies de *Lutzomyia* que existen en América, aproximadamente 70 están implicadas en la transmisión de *Leishmania* (5,6). El conocimiento sobre la fauna flebotómica no sólo genera información potencialmente relevante para la entomología médica, sino también conocimientos sobre biogeografía, procesos de especiación e identificación de áreas prioritarias (7). La distribución de los flebotominos se correlaciona con la aparición de casos de leishmaniasis en las regiones endémicas, especialmente en las zonas forestales. Existen diversos patrones epidemiológicos de transmisión de la leishmaniasis, éstos dependen de las condiciones ecológicas, ambientales y climatológicas en que se desarrollan, y determinan en un área o foco la existencia de ciertas especies de vectores (8, 6, 9).

En Venezuela esta endemia es frecuente, con alta incidencia en el estado Mérida, donde la endemidad es de carácter rural, sin embargo, en los últimos años se ha detectado una tasa de infección inferior a la nacional, tal vez, producto de factores ambientales y a su impacto en la transmisión vectorial; al programa de inmunoterapia aplicado en el estado y/o a mayor conocimiento de la prevención en sus pobladores, entre otros, que requerirían de estudios más detallados para una mejor comprensión de los mismos (10-16). El estado Mérida posee la mayor variabilidad climática de los Andes venezolanos debido a la complejidad del relieve montañoso, que se extiende desde los 80 m.s.n.m en el pie de monte hasta cerca de los 5000 m.s.n.m en el pico Bolívar. Este amplio rango altitudinal ocasiona un importante gradiente de temperaturas, cuyos promedios anuales varían desde 27°C en las zonas más bajas hasta -2°C en las cumbres. A esta amplitud térmica se sobrepone una marcada variación en las precipitaciones, las cuales se manifiestan a lo largo de su extensión altitudinal. Los climas húmedos cubren cerca del 90% del territorio (15), de ahí la importancia en determinar

la presencia de los flebotominos en los distintos Distritos Sanitarios que conforman el estado Mérida y realizar un mapa de riesgo de transmisión entomológico que permita interpretar la dinámica de la transmisión de la leishmaniasis.

## Materiales y métodos

**Área de estudio:** El estudio se realizó en el estado Mérida – Venezuela, con una extensión de 11.300 Km<sup>2</sup> y una población de 828.592 habitantes (15). La Corporación de Salud del estado Mérida como órgano rector en las políticas de salud, divide al estado desde el punto de vista asistencial en seis Distritos Sanitarios, atendiendo a la relación establecida entre la red ambulatoria y su respectivo hospital; las zonas sanitarias están conformadas por municipios que comparten condiciones sociales, ecológicas y epidemiológicas similares, quedando conformados de la siguiente manera, Distrito Sanitario I Mérida: conformado por 4 Municipios; Libertador, Santos Marquina, Campo Elías y Aricagua. Distrito Sanitario II El Vigía: Conformado por 3 municipios Alberto Adriani, Andrés Bello, Obispo Ramos de Lora. Distrito Sanitario III Tovar: Constituido por 5 municipios: Tovar, Rivas Dávila; Antonio Pinto Salinas, Guaraque y Zea. Distrito Sanitario IV Mucuchies: Abarca 4 municipios Rangel, Cardenal Quintero, Miranda y Pueblo Llano. Distrito Sanitario V Lagunillas: Conformado por 3 municipios: Sucre, Arzobispo Chacón y Padre Noguera. Distrito Sanitario VI Tucaní: que corresponde a 4 municipios: Caracciolo Parra y Olmedo, Tulio Febres Cordero, Justo Briceño y Julio César Salas (15).

Se seleccionaron un total de 42 zonas de captura, cubriendo los 6 Distritos Sanitarios, con características ambientales favorables para el desarrollo de los flebotominos, tales como presencia de vegetación silvestre, cultivos de café y/o cacao, presencia de animales vertebrados, entre otros (Tabla 1).

**Captura de flebotominos:** Se realizaron capturas diurnas y nocturnas de especímenes adultos de flebotominos en refugios naturales, sobre cebo animal, domicilio humano y sus alrededores; para lo cual se emplearon cuatro métodos de captura: Trampa de Shannon, Trampa con atrayente luminoso (CDC), Trampa adhesivas y aspiración directa con capturador bucal (5).

**Disección de flebotominos:** Las hembras capturadas vivas se anestesiaron en frío, se colocaron los recipientes de captura a 4°C durante 10 a 15 minutos, se trasvasaron a cápsulas de Petri con

**Tabla 1.** Localidades de muestreo de flebotominos en el estado Mérida.

Localidad	Municipio	Altitud (m.s.n.m)
Km 9 - El Vigía	Alberto Adriani	82
Tucán	Caracciolo Parra Olmedo	146
Caño Avispero	Obispo Ramos De Lora	172
Santa Apolonia	Tulio Febres Cordero	216
El Naranjal	Zea	309
La Valvina	Zea	333
Holanda Via La Azulita	Andres Bello	340
Caño El Tigre	Zea	410
Albarical	Julio Cesar Salas	442
El Bosque	Zea	457
El Dorado	Sucre	558
Quebrada El Loro	Sucre	662
Paiva	Antonio Pinto Salinas	810
Playon- Alcaldía	Zea	938
Playon-Alcaldía	Zea	914
El Playon	Zea	915
Playon-Alcaldía	Zea	918
Mesa De Las Palmas - El Bosque	Antonio Pinto Salinas	948
Mesa De Las Palmas	Antonio Pinto Salinas	980
Finca La Soledad	Zea	1033
Pozo Hondo	Campo Elias	1039
El Playon Final	Zea	1041
El Playon Centro	Zea	1066
El Tejar	Sucre	1069
San Antonio	Libertador	1114
La Enfadosa - Ejido	Campo Elias	1123
La Enfadosa	Campo Elias	1142
Torondoy	Justo Briceño	1154
El Arenal De Ejido	Campo Elias	1190
El Arenal	Campo Elias	1206
San Vicente -La Estancia	Rivas Davila	1272
El Amparo	Tovar	1383
Los Curos - Loma De Los Angeles	Libertador	1594
Manzano Alto	Campo Elias	1648
El Limoncito- Sector El Caney	Cardenal Quintero	1678
Mucujun Alto	Santos Marquina	1849
Salado Alto - La Haciendita	Campo Elias	1871
Santa Rosa	Libertador	2037
Santa Rosa	Libertador	2082
Timotes	Miranda	2100
Cacote	Rangel	2120
Santa Rosa	Libertador	2125

solución fisiológica, luego se colocaron en una lámina porta-objetos para su disección bajo microscopio estereoscópico. Con el uso de agujas entomológicas de disección se desprendió la cabeza del tórax, y se retiraron los últimos segmentos del abdomen junto con el sistema digestivo.

Se realizó una identificación rápida en fresco de la especie mediante morfología externa e interna comparada de las hembras, bajo microscopio de contraste de fases, siguiendo los criterios de Young & Duncan (1994) (5).

**Determinación de infección natural:** Los sistemas digestivos extraídos por disección de los flebotominos se observaron bajo microscopía óptica de contraste de fase (40X), para determinar la presencia de promastigotes de *Leishmania*. Se determinó el patrón de desarrollo del parásito en el intestino del flebotomino para su identificación hasta subgénero, según el criterio de Laison & Shaw (3).

**Identificación de flebotominos:** Luego de la disección, los segmentos: cabeza, cuerpo y terminalia se almacenaron en solución Nesbitt por 24 horas para su clarificación, posteriormente se realizaron los montajes permanentes en láminas porta-objetos con solución Berlese. Los ejemplares machos capturados fueron procesados de forma similar sin la extracción del sistema digestivo. Se montaron en láminas con solución Berlese y se observaron bajo microscopio óptico para su identificación, según los criterios de Young & Duncan (5).

**Análisis:** Se determinó la riqueza de especie, y el riesgo de transmisión entomológico para los Distritos Sanitarios. El riesgo fue evaluado a través de un análisis jerárquico, el cual permite establecer la importancia relativa de una serie de variables entomológicas. Se utilizó el método jerárquico analítico (Analytic Hierarchy Process, AHP) desarrollado por Saaty (17-18), basado en una metodología que permite asignar valores numéricos a juicios subjetivos considerando la importancia relativa de las variables entomológicas: (a. Presencia de Flebotominos, b. Presencia de flebotominos zoofílicos, c. Presencia de flebotominos con hábitos antropofílicos, d. Presencia de flebotominos con infección natural y e. Presencia de flebotominos antropofílicos con infección natural), con el fin de asignar un valor de riesgo en términos cuantitativos a las variables entomológicas. Para asignar el peso relativo ponderado a cada una de las variables de acuerdo al nivel jerárquico, se realizó primero la comparación pareada entre variables, a través de una

matriz analítica jerarquizada propuesta por Saaty; que se basa en la asignación de un valor numérico a las variables (entre 0 y 1) que permite mantener la característica de ordinalidad (19). El valor de intensidad para cada variable es simplemente la sumatoria de los valores numérico que se le asignan a cada variable basados en su importancia entomológica consensuada por expertos. Posteriormente, basados en la sumatoria del total de valores de intensidad de cada variable se obtuvo el peso expresado en porcentaje, a partir del cual se distinguieron tres niveles de riesgo de transmisión entomológica para los Distritos Sanitarios del estado Mérida: color azul, riesgo Bajo (Valores entre 0-33 %), color verde, riesgo Medio (Valores entre 34-77 %) y color rojo, con riesgo Alto (Valores entre 77-99%) y se ilustra por medio de un mapa de riesgo de transmisión entomológico para los Distritos Sanitarios evaluados.

### Resultados

Para determinar la fauna de flebotominos en los Distritos Sanitarios que conforman el estado Mérida se capturaron un total de 1038 flebotominos del género *Lutzomyia*, representado por el 88,6 % (920) de hembras y 11,4 % (118) de machos. Se identificaron 21 especies de flebotominos; 13 de ellas, descritas con hábitos antropofílicos (97,9%) y 3 con hábitos zoofílicos (0,96%). Las especies más frecuentes fueron *L. youngi* (63,3%), *L. gomezi* (17,6%), *L. ovallesi* (8,7%) y *L. walkeri* (3,5%); representando estas especies el 93,1% de la flebotomofauna identificada. Se aportan nuevos registros de especies de flebotominos para el estado Mérida, *L. sordeli*, *L. amilcari*, *L. hartmanni* y *L. tihuilensis*, ésta última, identificada en localidades con altitud superior a los 2000 m.s.n.m. Se registraron veinte y dos (22/1038) flebotominos con infección natural con *Leishmania*, detectado en *L. youngi*, *L. gomezi*, *L. ovallesi* y *L.*

**Tabla 2.** Registro de infección natural por *Leishmania* en flebotominos en el estado Mérida.

Especies	N capturados	N infectados	%	Sub genero
<i>L. youngi</i>	657	9	1,37	Viannia
		3	0,46	Leishmania
<i>L. gomezi</i>	183	4	2,19	Viannia
		1	0,55	Leishmania
<i>L. ovallesi</i>	90	2	2,22	Viannia
		2	2,22	Leishmania
<i>L. walkeri</i>	24	1	4,16	Leishmania
<b>Total</b>	<b>1038</b>	<b>22</b>	<b>2,12</b>	

Tabla 3. Especies de flebotominos por Distritos Sanitarios en el estado Mérida.

Especies	Vigía		Lagunillas		Mérida		Mucuchies		Tovar		Tucaní	
	1039-2135		78-340		305-1383		1955-2200		498-1069		130-1164	
	m.s.n.m		m.s.n.m		m.s.n.m		m.s.n.m		m.s.n.m		m.s.n.m	
	17,3-23,7 °C		25,3-29,1 °C		18,9-32 °C		19-22,6 °C		22,8-27,7 °C		21-25,3 °C	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>L. youngi</i> *	1	1,3	194 +	80,8	96	84,2	-	-	260 +	54,5	106	88,3
<i>L. gomezi</i> *	70	92,1	-	-	-	-	-	-	111 +	23,3	2	1,7
<i>L. ovallesi</i> *	1	1,3	41	17,1	4	3,5	-	-	44 +	9,2	-	-
<i>L. walkeri</i> *	-	-	-	-	-	-	-	-	18 +	3,8	6	5,0
<i>L. Hernandezi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0,6	-	-
<i>L. lichyi</i> *	-	-	-	-	-	2,6	2	18,2	1	0,2	-	-
<i>L. migonei</i> *	2	2,6	4	1,7	-	-	-	-	3	0,6	-	-
<i>L. nuneztovari</i> *	-	-	-	-	6	5,2	-	-	2	0,4	-	-
<i>L. puntigeniculata</i> *	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,2	-	-
<i>L. serrana</i> *	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,2	-	-
<i>L. Sordeli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,8
<i>L. spinicrassa</i> *	-	-	-	-	-	-	-	-	23	4,8	-	-
<i>L. trinidadensi</i> **	2	2,6	1	0,4	-	-	-	-	2	0,4	1	0,8
<i>L. venezulensis</i> **	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0,6	-	-
<i>L. panamensis</i> *	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0,4	1	0,8
<i>L. tihuiensis</i> *	-	-	-	-	-	-	6	54,6	-	-	-	-
<i>L. Amilcari</i>	-	-	-	-	-	-	2	18,2	-	-	-	-
<i>L. atroclavata</i> **	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,8
<i>L. Dubitans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,2	-	-
<i>L. hartmanni</i> *	-	-	-	-	5	4,4	1	9,1	-	-	-	-
No identificada	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0,4	2	1,7
<b>Total</b>	<b>76</b>	<b>100</b>	<b>240</b>	<b>100</b>	<b>114</b>	<b>100</b>	<b>11</b>	<b>100</b>	<b>477</b>	<b>100</b>	<b>120</b>	<b>100</b>

\*: Especies con hábitos Antropofílicos, \*\*: especies con hábitos Zoofílicos\*\*, +: infección Natural.

*walkeri*, lo que representa una tasa de infección natural de 2,1% para el estado Mérida, con especies de *Leishmania* perteneciente a los sub géneros *Vianna* y *Leishmania* (Tabla 2).

Se registró la presencia de flebotominos en los seis Distritos Sanitarios que conforman al estado Mérida (Tabla 3), se identificaron varias especies en cada Distrito Sanitario.

El análisis jerárquico de las variables entomológicas permitió atribuir valores ponderados a cada una de éstas. La evaluación de riesgo de transmisión entomológico para cada Distrito Sanitario reveló 3 niveles de riesgo de transmisión de *Leishmania*: Bajo (Valores entre 0-34 %) en los Distritos Sanitarios Mérida y Mucuchies; seguido por Tucaní y El Vigía con riesgo Medio (Valores entre 34-77%), y con riesgo Alto (Valores entre 77-100%), en los Distritos Sanitarios Tovar y Lagunillas, (Figura 1).

## Discusión

Hasta el presente no se cuenta con una medida profiláctica efectiva contra la leishmaniasis,

como una vacuna, por lo que el control de las poblaciones de flebotominos aparece como una alternativa para evitar la transmisión al humano (4, 9, 20, 21).

Los estudios sobre la composición de la fauna de flebotominos en el estado Mérida se han realizado intensamente solo en las áreas de mayor casuística de leishmaniasis en humanos (22-26), siendo este el primer trabajo amplio que abarca casi todos los municipios del estado Mérida.

En el presente estudio se identificaron 21 especies del género *Lutzomyia*; de las cuales, el 97,9% correspondió a especies con hábitos antropofílicos y se determinó 2,1% con infección natural por *Leishmania*. Estos resultados corroboran que existe transmisión activa de leishmaniasis en el estado Mérida, por lo que se sugiere mantener la vigilancia y control de parte de los organismos competentes. También, evidencian la presencia de cuatro nuevos registros de especies: *L. sordeli*, *L. amilcari*, *L. hartmanni* y *L. tihuiensis*, ésta última identificada en localidades con altitudes superiores a los 2000 m.s.n.m. Este hallazgo incrementa el conocimiento de la biodiversidad de los

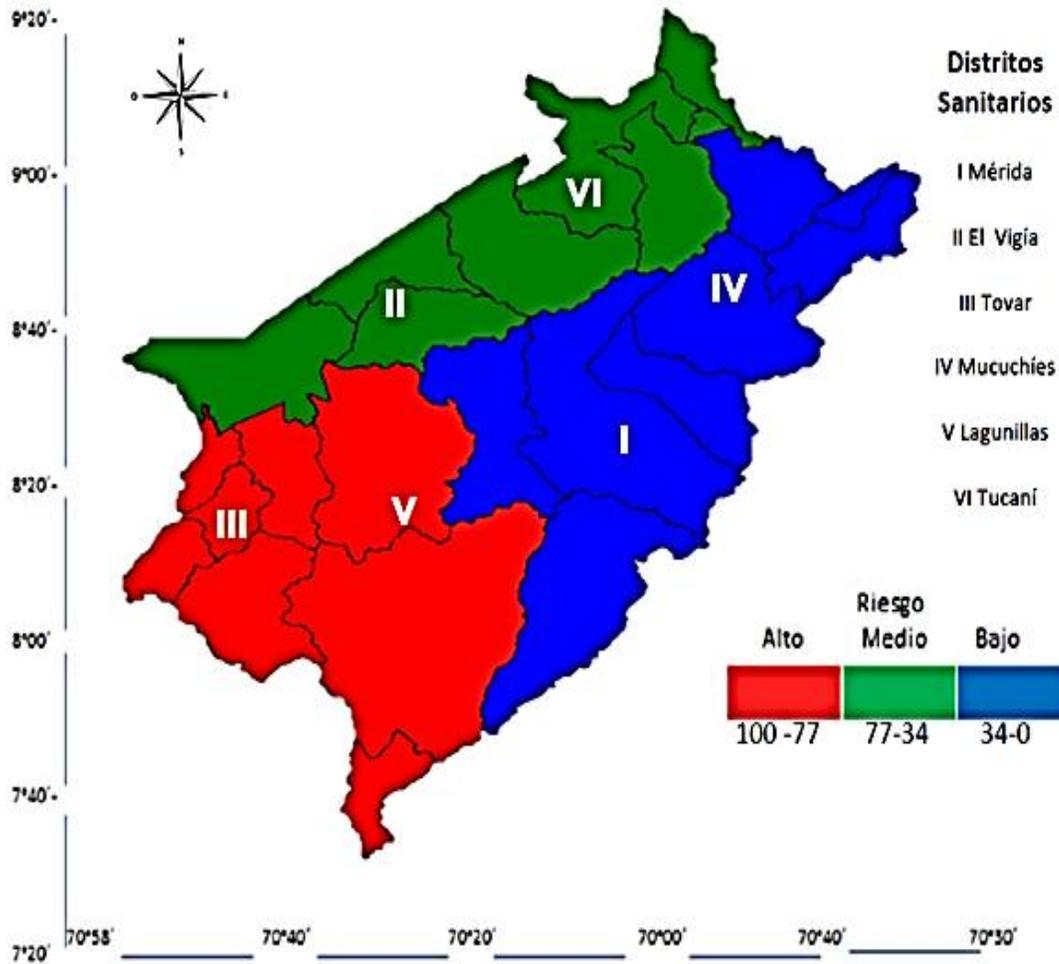


Figura 1. Mapa de riesgo de transmisión de *Leishmania* para el estado Mérida.

vectores de *Leishmania* en el estado, dato importante para una mayor comprensión de los aspectos epidemiológicos de la transmisión vectorial.

Otro aporte importante, que se ha evidenciado al transcurrir el tiempo, en relación con las especies registradas hace 25 años según Añez et al., (23), es la disminución de la riqueza de especies y cambio en las especies predominante. Las especies más frecuentes eran: *L. youngi* (58.7%), *L. trinidadensis* (14.3%), *L. ovallesi* (5.9%) y *L. shannoni* (5.7%). Mientras que en la actualidad fueron *L. youngi* (63.3%), *L. gomezi* (17.6%), *L. ovallesi* (8.7%) y *L. walkeri* (3.5%); representando estas especies el 93,1% de la flebotomofauna identificada. Tal vez, este resultado pudiera deberse a cambios climáticos ocurrido en el estado, producto del efecto directo de prolongados periodos de lluvia ocurridos en los últimos años, principalmente en las zonas del valle del Mocoties, que pudieron haber originado cambios en

los micro hábitats, afectando así el ciclo biológico de las diferentes especies de flebotominos; es posible que excesivas lluvias hayan alterado la disponibilidad de la materia orgánica utilizada para la deposición de los huevos y como alimento de las larvas (13, 27-28). Además, el continuo crecimiento de las actividades humanas a lo largo del tiempo ha conducido a una drástica reducción de las áreas silvestres como resultado de la transformación continua del hábitat en espacios fragmentados, tal crecimiento constituye la principal causa de disminución de la biodiversidad en el mundo (13, 29) y cambios en la estructura de la flebotomofauna (30).

Los resultados muestran la presencia de flebotominos en todos los Distritos Sanitarios que conforman el estado Mérida. Las diferencias observadas en cuanto a las especies entre los Distintos Sanitarios probablemente se deben a distintos micro hábitat en las diferentes zonas muestreadas del estado

Mérida, relacionados directamente a variables ecológicas. *L. youngi* fue la especie de mayor frecuencia registrada en cinco de los seis Distritos Sanitarios que conforman el estado, cuatro de ellos, con registros altitudinales superiores a los 1000 m.s.n.m. A juzgar por la abundancia y distribución, *L. youngi*, continua siendo la especie más importante en la transmisión de *Leishmania* en las zonas altas del estado. Si a esto le agregamos que le corresponde el 45% de la tasa de infección natural registrada para el estado, determinada en localidades ubicadas en el Distrito Sanitario Tovar y Lagunillas, se reafirman las observaciones de quienes la señalan, como la principal especie de flebotominos transmisora de *Leishmania* con hábitos antropofílicos encontrada en localidades con altitudes superiores a los 1000 m.s.n.m en los Andes venezolanos (6, 23), logrando mantenerse en el tiempo a pesar de los cambios ecológicos.

Es importante resaltar el papel de *L. gomezi* identificada en tres Distritos Sanitarios; de *L. ovallesi* encontrada en cuatro y de *L. walkeri* en dos; todas estas especies fueron registradas en localidades con altitudes inferiores a los 600 m.s.n.m y las tres fueron encontradas con infección natural con *Leishmania*, perteneciente a los sub-géneros *Leishmania* y *Viannia*, indicando ser las principales especies actualmente en la transmisión de *Leishmania* en las zonas bajas del estado, aseveración que encuentra apoyo en los registros de Feliciangeli & Rabinovich (31) y Feliciangeli (6), quienes reportan a *L. ovallesi* y *L. gomezi* como las especies vectores más importantes de leishmaniasis tegumentaria en diferentes focos del piedemonte andino, ubicados a altitudes inferiores a los 800 m.s.n.m. Es lógico esperar que si existe una gran biodiversidad de *Lutzomyia*, también exista una diversidad de especies de *Leishmania* circulando, esto tal vez debido a la especificidad entre especies de flebotominos y especies de *Leishmania* (32). Esto se ve

apoyado por las evidencias de que la leishmaniasis se consideran entidades nosológicas endémicas y focales en prácticamente en la totalidad de las entidades federales de Venezuela (16, 33).

En base a los caracteres entomológicos registrados en el presente trabajo, se consideran como localidades con alto riesgo de transmisión de *Leishmania*, aquellas ubicadas en los Distritos Sanitarios III Tovar y V Lagunillas; afirmación que se corrobora por el solapamiento del registro de los principales focos endémicos del estado, correspondiendo el mayor número de casos de leishmaniasis a las zonas perteneciente a los municipios Tovar, Pinto Salinas y Sucre (13-14, 16). Es importante resaltar la presencia de flebotominos en todos los Distritos Sanitarios, por lo que sugerimos profundizar los estudios de la flebotomofauna en los otros Distritos Sanitarios I, II, IV y VI para determinar posible infección natural y transmisión activa. Este trabajo aporta evidencia de la presencia de flebotominos en todos los Distritos Sanitarios del estado Mérida y presenta nuevos aportes importantes de considerar en el riesgo de transmisión de *Leishmania*, en la prevención y entendimiento de la epidemiología de la leishmaniasis

### Agradecimientos

A todas aquellas familias que amablemente apoyaron la realización de las capturas en el peri domicilio en las diferentes zonas del estado Mérida, y al FONACIT (Fondo Nacional de Ciencias, Tecnología e Innovación) por el apoyo financiero a través del Proyecto Estratégico N° 2011000371 bajo la Coordinación de la Dra. Elsa Nieves.

### Referencias

1. Gallego M. Zoonosis emergentes por patógenos parásitos: las leishmaniasis. Rev Sci Tech. 2004; 23: 661-76. [PubMed] [Google Scholar]
2. García-Almagro D. Leishmaniasis cutánea. Actas Dermosifiliogr. 2005; 96: 1-24. [PubMed] [Google Scholar]
3. Lainson R, Shaw J. The Role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. Biology of the Kinetoplastida. London. Academic Press. 1979; 1-116.
4. World Health Organ. Control of the leishmaniasis. Report of a WHO Expert Committee. Tech Rep Ser. 1990; 793:1-158. [PubMed] [Google Scholar]
5. Young DG, Duran MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyiasandflies* in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memoirs of the American Entomological Institute. 1994; 54: 779-881. [Google Scholar]
6. Feliciangeli D. Sobre los flebotomos (Diptera: Psychodidae), con especial referencia a las especies conocidas en Venezuela. Acta Biologica Venezuelica. 2006; 26, 61-80. [Google Scholar]
7. Valderrama A, Tavares MG, Andrade Filho JD. Anthropogenic influence on the distribution, abundance and diversity of sandfly species (Diptera: Phlebotominae: Psychodidae), vectors of cutaneous leishmaniasis in Panama. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2011; 106: 1024-31. [PubMed] [Google Scholar]
8. Ortega Díaz JE, Zerpa O, Sosa A, Rodríguez N, Aranzazu N. Estudio Clínico, Epidemiológico y Caracterización Taxonómica de Leishmaniasis Cutánea

- en el Estado Vargas, Venezuela. Rev Dermatol Venezol. 2004; 42: 10-6. [\[Google Scholar\]](#)
9. De Lima H, Rodríguez N, Feliciangeli MD, Barrios MA, Sosa A, Agrela I, Sánchez E, Lopez O. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*/Le. infantum in an endemic area of Guarico State, Venezuela. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009; 103: 721-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  10. Bonfante-Garrido R, Barreto T. Leishmaniasis tegumentaria americana en el distrito Urdaneta, Venezuela. Bol Ofic Sanit Panam. 1981; 91: 30-8. [\[Google Scholar\]](#)
  11. Rojas E. Leishmaniasis Tegumentaria Americana (L.T.A.) En Venezuela: Experiencia en su Tratamiento. Rev Talleres. 1999; 6: 11-5.
  12. Rojas E, Morales C. Domiciliación de la leishmaniasis cutánea localizada y su transmisión intradomiciliar en la ciudad de trujillo, Venezuela. Rev Talleres. 1999; 6: 9-10.
  13. Rodríguez N, Carrero J, De Lima H, Sandoval I, Fernandez A, Barrios M. Impacto de Fenomenos Naturales (Deslaves y vaguadas) sobre la epidemiología de la leishmaniasis cutánea en zonas del estado Merida. Salus. 2007; 11:43-7. [\[Google Scholar\]](#)
  14. Yarbuh U. Aspectos socio-ambientales de la leishmaniasis cutanea en el estado Mérida. [Tesis Doctoral] Merida-Venezuela: Centro interamericano de Desarrollo e investigación ambiental y territorial. 2011; 14-9.
  15. Corporación de los Andes (CORPOANDES) [internet]. [Consulta on-line: 20 de Septiembre 2013] enlace web: <http://www.corpoandes.gov.ve/?q=nod/e/105>
  16. De Lima H, Borges RH, Escobar J, Convit García J. Leishmaniasis cutánea americana en Venezuela, bienio 2008-2009. Bol Malaria Salud Ambient. 2011; 51: 215-24. [\[Google Scholar\]](#)
  17. Saaty TL. The analytic hierarchy process: planning, priority setting, resource allocation. McGraw-Hill, USA.1980.
  18. Saaty TL. Fundamental of decision and priority theory with the analytic hierarchy process. University of Pittsburgh, PA, USA. 2013.
  19. Saaty TL. Decision making for leaders. The analytic hierarchy process for decisions in a complex world. University of Pittsburgh, PA, USA. 2012.
  20. Nieves E, Sánchez Y, Sánchez H, Rondón M, González N., Carrero J. Sandfly saliva of *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) as a posible marker for the transmission of Leishmania in Venezuela Andes región. J Vector Borne Dis. 2012; 49: 8-14. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  21. Cárdenas J, Rojas J, Rondón M, Nieves E. *Adulticide* effect of *Monticalia greenmaniana* (Asteraceae) against *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). Parasitol Res. 2012; 111: 787-94. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  22. Scorza JV. La Epidemiología de La Leishmaniasis Tegumentaria En Venezuela: Situación Actual. Bol Dir Malaria Sanam Ambient. 1988; 28: 69-74. [\[Google Scholar\]](#)
  23. Añez N, Nieves E, Cazorla D, Chateing B, Castro M, de Yarbuh AL. Epidemiología de la leishmaniasis tegumentaria en Mérida, Venezuela I. Diversidad y dispersión de especies flebotominas en tres pisos altitudinales y su posible role en la transmisión de la enfermedad. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988; 83: 455-63. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  24. Añez N, Cazorla D, Nieves E. Registro de especies flebotominas en focos endémicos para leishmaniasis en el estado Mérida, Venezuela. Bol. Dir. Malaria. Sanam. Ambient. 1989; 29: 12-34. [\[Google Scholar\]](#)
  25. Añez N, Nieves E, Cazorla D, Oviedo M, de Yarbuh AL, Valera M. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Merida, Venezuela. III. Altitudinal distribution, age structure, natural infection and feeding behaviour of sandflies and their relation of the risk of transmission. Ann Trop Med Parasitol. 1994; 88: 279-87. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  26. Nieves E, Villarreal N, Rondón M, Sánchez M, Carrero J. Evaluación de conocimientos y prácticas sobre la leishmaniasis tegumentaria en un área endémica de Venezuela. Biomedica. 2008; 28: 347-56. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  27. Cabaniel G, Rada L, Blanco, Rodríguez A, Escalera A. Impacto de los eventos del Niño Southern Oscillation (ENSO) sobre la leishmaniosis cutánea en Sucre, Venezuela, a través del uso de información satelital, 1994–2003. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2005; 22:32-8. [\[Google Scholar\]](#)
  28. Queiroz M, Varjão JR, Moraes SC, Salcedo GE. Analysis of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of MatoGrosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). Rev Soc Bras Med Trop. 2012; 45: 313-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  29. Begon M, Harper J, Towsend C. Ecology. Individuals, populations and communities. Massachusetts: Sinauer. 1990; 164.
  30. Nieves E, Oraá L, Rondón Y, Sánchez M, Sánchez Y, Rojas M, Rondón M, Rujano M, Gonzalez N, Cazorla D. Effect of environmental disturbance on the population of sandflies and *Leishmania* transmission in an endemic area of Venezuela. J Trop Med. 2014; 1-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  31. Feliciangeli MD, Rabinovich J. Abundance of *Lutzomyia ovallesi* but not *Lu. gomezi* (Diptera: Psychodidae) correlated with cutaneous leishmaniasis incidence in north-central Venezuela. Med Vet Entomol. 1998; 12: 121-31. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  32. Niederwieser I. *Leishmania infantum*: molecular analysis for identification of potential virulence factors and genes of diagnostic use. Philosophisch Natur wiss in schaftlichen Fakultät der Universität Basel. 2004; 73. [\[Google Scholar\]](#)
  33. Cazorla D. Estudio taxonómico y bioecológico de los vectores de leishmaniosis tegumentaria y visceral en focos endémicos del estado Falcón-Venezuela. [Tesis Doctoral] Tecana American University. 2008; 6-14. [\[Google Scholar\]](#)

**Como citar este artículo:** Nieves E, Oraá L, Rondón Y, Sánchez M, Sánchez Y, Rujano M, Rondón M, Rojas M, Gonzalez N, Cazorla D. Riesgo de transmisión de *Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae)* en Mérida Venezuela. *Avan Biomed* 2014; 3: 57-64.

## Dinamic changes of pro-inflammatory cytokines, adhesion molecules and lymphocytes activation markers as early indicators of diseases severity in patients with Dengue (Cambios dinámicos de citoquinas proinflamatorias, moléculas de adhesión y marcadores de activación linfocítica como indicadores tempranos de severidad en pacientes con Dengue)

Silvana Vielma<sup>1✉</sup>, María Odreman-Macchioli<sup>1</sup>, Saberio Pérez<sup>1</sup>, Noraida Mosqueda<sup>1</sup>, Guillermo Comach<sup>2</sup>, Luis Téllez<sup>1</sup>, José Mendoza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Microbiología y Parasitología Clínicas, Escuela de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. <sup>2</sup> Laboratorio Regional de Diagnóstico e Investigación del Dengue y Otras Enfermedades Virales, Aragua, Venezuela

[TRABAJO ORIGINAL]

Recibido: 5 de Marzo de 2014. Aceptado: 22 de Agosto de 2014.

### Abstract (english)

Several immunopathogenic mechanisms have been proposed to explain the massive increase of vascular permeability observed in the severe forms of infection by Dengue Virus (DENV). Our aim was to determine the kinetic changes of inflammatory mediators (IL-8, TNF- $\alpha$ ), soluble early lymphocyte activation markers (sIL-2R, sTNF-Rp75) and soluble fractions of cell adhesion molecules (sICAM-1 and sVCAM-1) as indicators for early recognition of disease severity in patients with laboratory-confirmed dengue. Twenty patients classified as Dengue $\pm$ Warning Signs (D $\pm$ WS) and thirty patients with Severe Dengue (SD) were included in the study. Serums of apparently healthy individuals were included as controls. Compared with normal subjects, D $\pm$ WS cases did not show significant differences in the levels of IL-8 or TNF- $\alpha$  during the acute nor in the critical stages of the disease; however, in D $\pm$ WS cases levels of sICAM-1 and sVCAM-1 were higher than controls during both phases; in contrast, significant increase of sTNF-p75 and sIL2R levels were observed during the critical phase of the disease. Compared with both dengue patients and controls, patients with SD showed significant rise in the levels of IL-8 and TNF- $\alpha$  during the critical phase of the disease and a significant increase in adhesion molecules were detected in both phases, but the highest levels of sVCAM-1 and sIL-2R were observed only during the acute stage of the disease. In conclusion, sIL-2R and sVCAM-1, as early markers of lymphocyte and endothelial activation, would serves as indicators of severity during the acute phase of dengue infection.

### Keywords (english)

Dengue, cytokines, endothelial damage, soluble cell adhesion molecules, soluble lymphocyte markers

### Resumen (español)

Varios mecanismos inmuno-patogénicos se han propuesto para explicar el incremento masivo de la permeabilidad vascular observada en las formas severas de la infección por el Virus del Dengue (DENV). El objetivo del estudio fue determinar los cambios cinéticos de mediadores inflamatorios (IL-8, TNF- $\alpha$ ), marcadores soluble de activación linfocítica temprana (sIL-2R, sTNF-Rp75) y fracciones solubles de moléculas de adhesión celular (sICAM-1, sVCAM-1) como marcadores tempranos de severidad en pacientes con dengue. Veinte pacientes clasificados como Dengue (Dengue $\pm$ Signos de Alarma, D $\pm$ WS) y treinta pacientes con Dengue Severo (DS) fueron incluidos en el estudio. Suero de individuos aparentemente saludables fueron incluidos como controles. En comparación con los individuos controles, los casos con Dengue mostraron niveles de IL-8 y TNF con diferencias no significativas en la fase febril o crítica de la enfermedad; sin embargo, un incremento significativo de sICAM-1 y sVCAM-1 ocurrió en ambas fases, mientras que los niveles de sIL2R y sTNF-p75 se elevaron significativamente solo en la fase crítica de la enfermedad. En comparación con los casos con dengue y controles, los pacientes con DS

mostraron diferencias significativas en los niveles de IL-8 y TNF- $\alpha$  durante la fase crítica y un incremento significativo de moléculas de adhesión en ambas fases, pero los niveles más elevados de sVCAM-1 y sIL-2R fueron observados en la fase febril. En conclusión, sIL-2R y sVCAM-1, como marcadores tempranos de activación linfocítica y endotelial, servirían como indicadores de severidad en la fase aguda de la infección por el virus del dengue.

## Palabras clave (español)

*Dengue, citoquinas, disfunción endotelial, moléculas de adhesión células solubles, marcadores solubles linfocíticos.*

### Introduction

Dengue virus (DENV) infection is currently the most important arthropod-borne viral disease with more than a half of the world's population living in disease risk's areas, with an estimated of more than 50 million cases each year(1-5). Infection caused by any of the four Dengue flaviviruses (DENV1-DENV4) (6). Dengue is a complex disease with a wide spectrum of clinical presentations, however, the majority of the cases develop mild self-limited disease defined as Dengue, without or with warning signs (D $\pm$ WS, Groups A and B), whereas only a small proportion develop a serious clinical manifestations with unpredictable clinical evolution known as Severe Dengue (SD, Group C), including Shock for Dengue (7, 8). The severity of Dengue varies dependent upon host factors (age, genetic makeup of the population, ethnicity, immune status) (9-12), circulating DENV (genotype, viral load, intrinsic pathogenicity, sequence of infection, along with heterotypic cross-protection following infection) (13-16) and environment factors (hyperendemicity) (5, 17, 18).

Various hypotheses have been proposed to explain the immune pathogenesis of Severe Dengue (19-22). Among them, antibody-dependent enhancement (ADE) of infection (23) and presence of antibodies against NS1 (24), a viral protein that cross-reacting with platelets and vascular endothelium (25, 26), have an essential role. The humoral response is responsible for controlling the infection and dissemination of the dengue virus in the body. The cross-reactive nature of the antibodies leads to temporary heterotypic immunity mediated by viral E protein specific neutralizing antibodies which inhibits viral attachment and entry into host cells. Antibodies may also bind to complement proteins and promote activation of the complement cascade (27).

Massive immune activation of infected cells, leads to shift from Th1-type cytokine response in Dengue to a Th2-cytokines response in SD (28-30), that cause endothelial dysfunction, increasing vascular permeability and finally adverse effects on vascular endothelium cells (24, 31-33).

Among cytokines, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL6), IL-8, IL-10 and transforming growth factor- $\beta$ 1 and macrophage migration inhibitory factor (MIF) are associated with disease severity, and autoimmunity (29, 34-36). Some of these cytokines leads to the cellular expression and release of receptors associated with vascular activation and damage including soluble TNF- $\alpha$  and IL2 receptors (37-39), soluble CD8 (20,40), and up-regulation of intercellular and vascular cell adhesion molecules (ICAM-1 and VCAM-1 respectively) (41-44). This effects are more important in patients with severe dengue, although it can be found at lower degrees in patients with mild disease. It has been proposed that, secondary Dengue infection induced abnormal and/or accelerated T cell responses that attack infected macrophages leading to a subsequent increased cytokine production (19, 45, 46). However, a rise of cytokines, chemokines or soluble receptors depends of which immune cells are activated, viral load, disease stage, and severity (35, 41, 47). Only few studies have correlated cytokine levels with the stage of the disease(48-50), and since severe manifestations of Dengue disease mostly develop around the time of critical stage, changes in biological markers should be analyzed in the context of the stages of the disease (51, 52). We hypothesized that dynamic changes of proinflammatory mediators (IL-8, TNF- $\alpha$ ), soluble lymphocyte activation markers (sIL-2R, sTNF-Rp75) and soluble cell adhesion molecules (sICAM-1 and sVCAM-1) occurred during the stages and severity of the diseases. Because clinical evidence suggests that vascular activation and T cell activation may be involved in the early stage of SD, our goal was to determine the in vivo levels of pro-inflammatory cytokines, soluble adhesion molecules and lymphocyte activation markers during the acute and critical stages of DENV infection and its association with severe course of the disease.

### Materials and methods

**Clinical samples.** Paired blood samples were collected from peripheral veins of fifty (n = 50) febrile

patients during the acute (1-3 days after onset of fever, DOF, during viraemia) and critical stage (4-7 days after onset of fever, DOF) of the disease. Critical phase of the disease is defined by WHO as the phase that starts around the time of defervescence, when the temperature drops to 37.5–38°C or less (remaining below this level), usually on days 3–7 of illness. An increase of haematocrit levels can occur due to changes in endothelial permeability (7). This phase is marked by a clinically significant plasma leakage usually lasts 24–48 hours (7). Progressive leukopenia followed by a rapid decrease in platelet count usually precedes plasma leakage. At this point patients without an increase in capillary permeability will improve, while those with increased capillary permeability may become worse as a result of lost plasma volume (7). Therefore, WHO criteria of critical phase were used to select the time course division during the immune markers analysis.

DENV infection was confirmed by either in-house real time RT-PCR (53) during the acute stage and by serological tests (anti-Dengue IgM antibody by ELISA-based test) during the critical stage (54, 55) in every sample of each patient included in the study. Seven (n = 7) apparently healthy individuals, without febrile or other illnesses were included as internal controls. Sera were obtained by centrifugation at 4°C and stored at -20°C until the day of assay. A detailed history and physical examination was performed along with laboratory determination every 24 hours until complete recovery of patients. The study protocol was approved by ethics committee of Universidad de Los Andes and written informed consent was obtained from all patients or their guardian's prior inclusion to the study following the basic principles of the Declaration of Helsinki (56, 57).

**Determination of IL-8, TNF- $\alpha$ , sICAM-1, sVCAM-1, sIL-2R and sTNF-Rp75.** Levels of IL-8 (ng/mL, Chemicon International Inc., CA, USA), TNF- $\alpha$  (pg./mL, Biosource International Inc., CA, USA), sICAM-1, sVCAM-1 (ng/mL, Chemicon International Inc., CA, USA), sIL-2R and sTNF-Rp75 (ng/mL, Biosource International Inc., CA, USA) were determined using commercial ELISA kits in compliance with manufacturer's directions. For each assay, samples were tested by triplicates.

**Statistical analysis.** Data base and all statistical analyses were performed using EPI Info software (version 3.5; Center for Disease Control and Prevention, GA, USA). Results are reported as frequency of distribution, mean or standard error of the mean ( $\pm$  SEM). The comparison between groups was done using Student's t-test and one-way analysis

of variance (ANOVA) with Bonferroni adjustment for multiple comparisons. Values were considered statistically significant at a p value less than 0.05.

## Results

**Clinical and laboratory findings in patients with Dengue.** Fifty patients with confirmed DENV infection were included in this study. Among them 54% (27/50) were female and 46% (23/50) male with a median age of 26 years old (SEM  $\pm$  18.20) (table 1). From the clinical standpoint, 40% (20/50) of the cases were classified as Dengue $\pm$ Warning Signs (D $\pm$ WS) and 60% (30/50) were recognized as SD (Table 1). Within D $\pm$ WS cases (n=20), patients age range from 3–52 years-old (Mean value of 26,4 years); eight (8/20) were pediatric patients with age range from 3-11 years-old (mean value 7,1 years, SD:3,6); and twelve (12/20) adults with age range from 18-53 years-old (mean value 39,2 years, SD: 12,3). Within DS patients (n=30), age range varied from 5 months-old to 68 years-old (Mean value of 23,2 years); fifteen (15/30) were pediatric patients with age range from 0.5-16 years-old (mean value 7 years, SD:4,7); and fifteen (15/30) range from 19-68 years-old (mean value 33,5 years, SD: 15,3) (Table 1).

Clinical and laboratory characteristics of the 50 patients are shown in Table 1. At the moment of the physical examination, 85% (17/20) of patients with D $\pm$ WS and 90% (27/30) of cases with SD had fever at the moment of recruitment. Rash and bleeding were a significantly finding in patients with SD (66%, 83% respectively). Rise of hematocrit (>20% from base level) were present in 96% (29/30) of patients suffering SD ( $p < 0.001$ ). Platelets count were lower than 150.000 platelets/mm<sup>3</sup> in all patients included in the study, the lower counts were observed in SD patients with a mean value of 66.000/mm<sup>3</sup> (Table 1).

During the acute phase of the disease, viraemia was detected in 45% (9/20) of patients with D $\pm$ WS and 36% (11/30) of patients with SD. During the critical stage, IgM anti-Dengue was detected in 65% (13/20) patients with D $\pm$ WS and 100% (30/30) in SD cases. DENV2 was predominant in both group of patients, D $\pm$ WS and SD (66.6% and 45.5% respectively). All four serotypes of DV were amplified in patients with SD, while DENV-1 was not amplified patients with D $\pm$ WS (Table 1).

**Elevated serum levels of IL-8, TNF- $\alpha$  in the critical stages of Severe Dengue cases** Pro-inflammatory cytokines were determined in seventeen

**Table 1. Clinical and laboratory findings in patients with dengue at the time of admission to the study**

Clinical features	D±WS n = 20 (%)	SD n = 30 (%)	p - value
Age (years)	26,4 (3y-52y)	23,2 (5m-68y)	
Pediatrics (months-17 years-old)	n=8 (x=7,1, sd=3,6)	n=15 (x=7,0, SD=4,7)	0.68
Adults (18 years-old and more)	n=12 (x=39,2, sd=12,3)	n=15 (x=33,5, sd= 15,3)	
Fever	17 (85)	27 (90)	0.83
Rash	7 (35)	20 (66)	<b>0.04*</b>
Bleeding	3 (15)	25 (83)	<b>&lt;0.001*</b>
Clinical Laboratory			
Determinations	D±WS n = 20 (%)	SD n = 30 (%)	p - value
Hemoglobin (>11g/dL)	4(20)	13(43)	0.12
Increased Hematocrit Level <sup>¥</sup>	3(15)	29(96)	<b>&lt;0.001*</b>
White Blood Count(>4000xmm <sup>3</sup> )	12(60)	17(56)	0.78
Neutrophils (>40%)	8(40)	15(50)	0.43
Lymphocytes (>20%)	5(25)	7(23)	0.83
Platelets (Mean)	149.000/mm <sup>3</sup>	66.000/mm <sup>3</sup>	<b>&lt;0.001*</b>
Confirmation Tests (*)			
<b>qPCR-Universal</b>	9(45.0)	11 (36.6)	
DENV1	0 (0.0)	2(18.1)	NA
DENV2	6 (66.6)	5 (45.4)	NA
DENV3	3 (33.3)	3 (27.2)	NA
DENV4	0 (0.0)	1 (9)	NA
<b>IgM anti-dengue</b>	13 (65)	30 (100)	NA

D±WS: dengue ± warning signs; SD: severe dengue; NA: non-applicable. m=month; y=years-old. ¥A rise of Hematocrit by more than 20% from the base level was considered as hemoconcentration. \*p<0.05. Two-patients were positive for both qPCR and IgM-anti-dengue simultaneously. Confirmation test were performed to all patients as described in methods section. Confirmation test were performed to all patients as described in methods section.

(N = 17) patients, 41.2% (7/17) with D±WS and 58.8% (10/17) with SD. Levels were analyzed and distributed according course and severity of the disease.

Levels of IL-8 were similar in patients with D±WS during both acute and critical phases of the disease (Mean value 0.19 and 0.30 ng/mL, respectively). In patients with SD, a significant increase of IL-8 was observed in the critical phase (Mean value 0.53 ng/mL) of the disease compared with acute phase (0.25ng/mL, *p* = 0.013) (figure 1a).

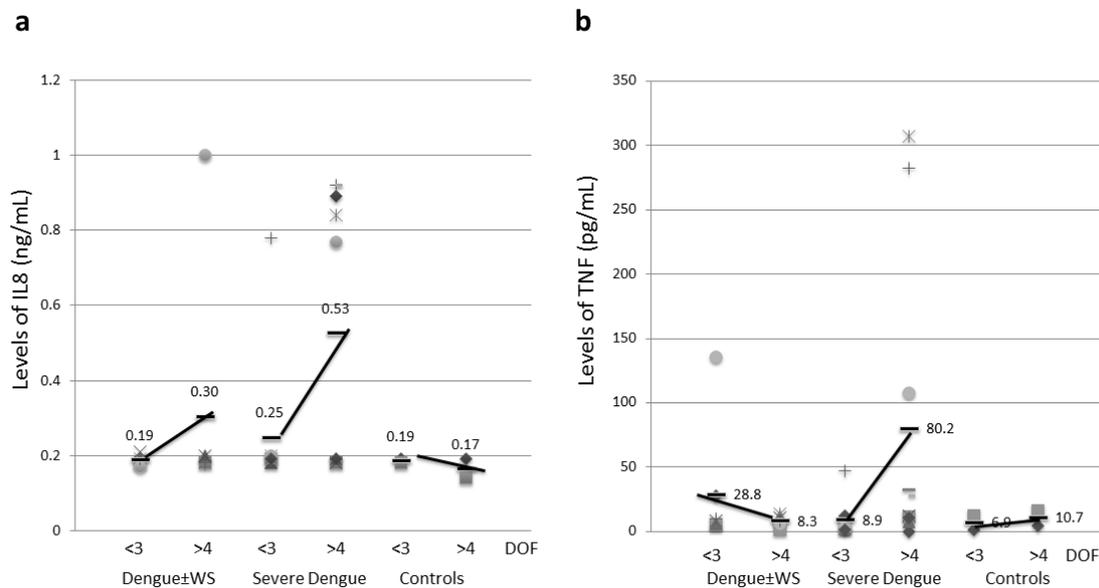
Regarding TNF-α determination, during the acute phase of the disease patients with SD showed lower levels of this cytokine compared with patients with D±WS and control group (Mean values 8.9 and 28.8 pg./mL respectively, *p* = 0.159). During the critical phase of the disease, levels of TNF-α were higher in patients with SD than in patients with D±WS (Mean values 80.2 and 8.9 pg/mL respectively *p* = 0.042). There were no differences in TNF-α level between patients with D±WS and control group during critical stage (figure 1b).

**Differential release of endothelial cells adhesion molecules, ICAM-1 and VCAM-1, in patients with Dengue during the acute and critical stages of**

**the disease.** Soluble adhesion molecules were determined in seventeen (N = 17) patients, 41.2% (7/17) with D±WS and 58.8% (10/17) with SD. Levels were analyzed and distributed according course and severity of the disease.

Similarly, the degree of endothelial cell (EC) activation was analyzed according to the stages of the disease. Levels of sICAM-1 were significantly higher in patients with D±WS and SD compared with control group during the acute (Mean values of 48.1, 46.5, 17.1 ng/mL respectively, *p* = 0.001) and critical (Mean values of 50.1, 92.0, 12.4 ng/mL respectively, *p* <0.001) phases of the disease. However, during the critical phase of the disease, patients with SD shown higher levels of sICAM-1 compared with D±WS patients (Mean values of 50.1, 92.0ng/mL respectively, *p* = 0.002) (Figure 2a).

Levels of sVCAM-1 were significantly higher (*p* = 0.012) in patients with SD during the acute phase of the disease (Mean values of 96.5ng/mL) compared with patients classified as D±WS (Mean values of 43.4ng/mL); while levels during the critical phase of the disease were similar between both groups of patients (*p* = 0.268) (Figure 2b).



**Figure 1.** Levels of IL-8 (a) and TNF-α (b) in serum samples of patients with Dengue without or with warning signs (DENGUE), severe Dengue (SD) and individual controls collected during the course of the disease adjusted by the days after the onset of fever (DOF). Levels were measured in ng/ml for IL-8 and in pg./mL for TNF. Samples were performed by triplicates and black squares indicate mean value for each group

**Differential increased of serum levels of sIL-2R and sTNF-Rp75 during acute and critical stages of Dengue infection.** Serum samples of thirty-three (N = 33) infected patients in acute and critical phases of the disease, were used to determined levels of sIL-2R and sTNF-Rp75. From those patients, 39.4% (13/33) were clinically classified as D±WS and 60.6% (20/33) with SD.

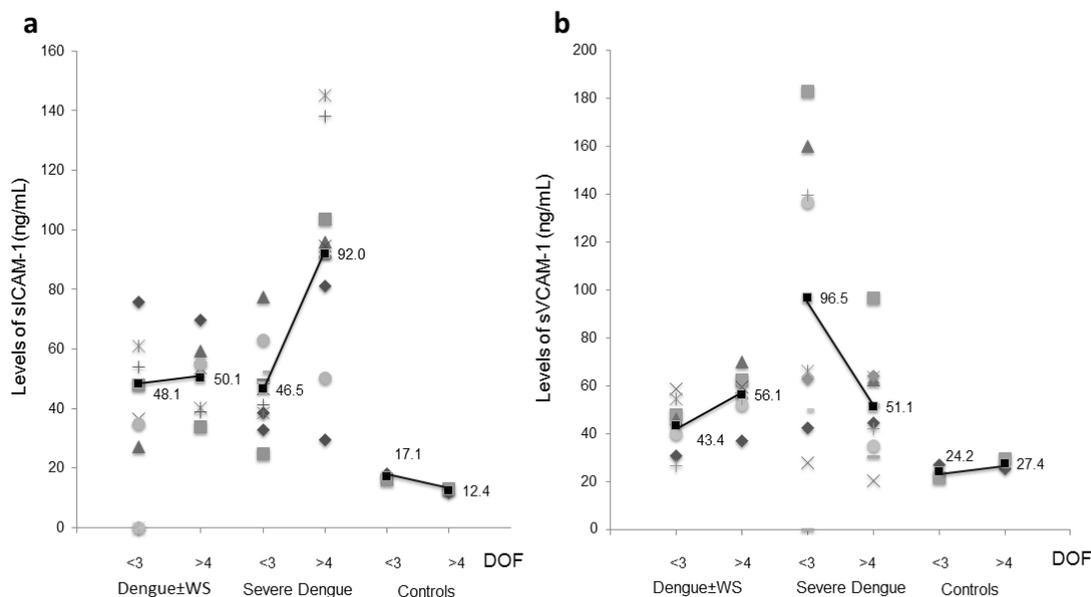
In the acute phase of the disease, levels of sIL-2R were significantly higher in serum samples of patients with SD compared with D±WS (Mean values of 501.0 versus 298.7 ng/mL respectively,  $p = 0.016$ ). Nevertheless, at the critical phase, levels of sIL-2R were higher in patients with D±WS compare with patients clinically recognized as SD (Mean values of 483,0 versus 312,4 ng/mL respectively,  $p = 0.022$ ) in whom levels of this activation marker showed a significant decreased (Figure 3a).

For the soluble form of TNF receptor (sTNF-Rp75), levels were higher during the critical phase of the disease in patients with D±WS and SD compared with the acute phase. Levels of sTNF-Rp75 during the acute phase of illness were similar between patients with D±WS and SD (Mean values of 25.4 and 29.4

ng/mL respectively); while during the critical phase patients with D±WS had a significant increase compared with SD group (Mean values of 91.4 versus 48.4 ng/mL respectively,  $p < 0.001$ ) (Figure 3b).

### Discussion

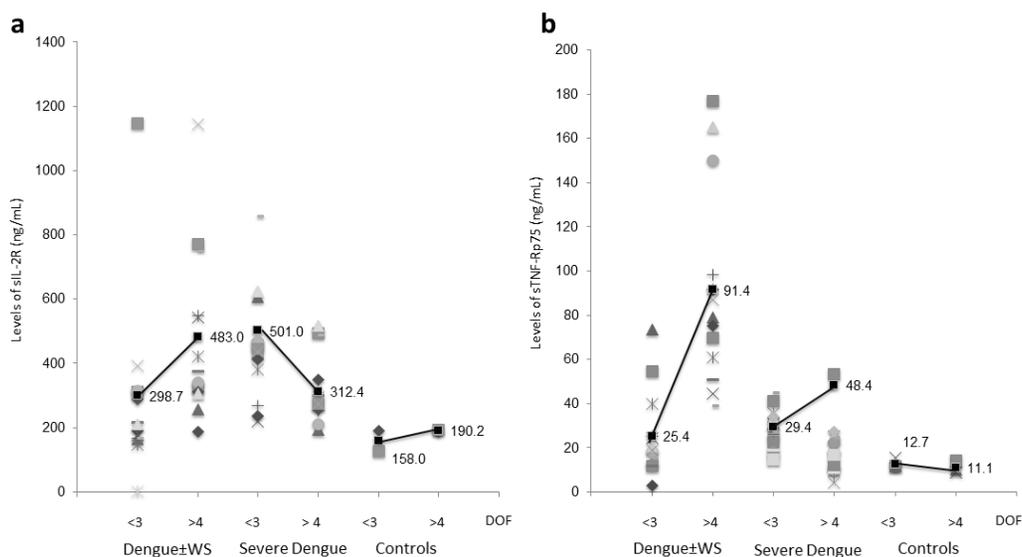
We attempted to determine the dynamic changes of proinflammatory cytokines (TNF-α, IL-8), soluble endothelial cell surface proteins (ICAM-1, VCAM-1) and early activation proteins released during lymphocyte activation (sTNFR and sIL-2Rα) in serum samples from Venezuelan patients infected with Dengue Virus (DV), during the different stages of the disease, in order to correlate whether those proteins serves as early markers, predictive of severe form of the disease (SD), compared with patients with non-severe forms of Dengue. Bleeding, skin rash, hemoconcentration and thrombocytopenia were the most significant signs found in cases with severe Dengue; and all DENV serotype were circulating at the time of the study, been DENV-2 the most prevalent serotype.



**Figure 2.** Levels of sICAM-1 (a) and sVCAM-1 (b) in serum samples of patients with Dengue without or with warning signs (DENGUE), severe Dengue (SD) and individual controls collected during the course of the disease adjusted by the days after the onset of fever (DOF). Levels were measured in ng/ml for both adhesion molecules. Samples were performed by triplicates and black squares indicate mean value for each group

Several mechanisms are involved in the pathogenesis of DENV research and one of the most challenger had been the identification of soluble factors that can mediate the functional changes induced in endothelial cells that are associated with the increased plasma leakage and severe forms of the

disease (58). Conflicting results had been observed from the analyses of several immune markers studies in dengue infection, mainly due to differences in study design, experimental procedures, and the time of sampling during infection, which together leads to discrepant results (59).



**Figure 3.** Levels of soluble forms of sIL-2R (a) and sTNF-Rp75 (b) in serum samples of patients with Dengue without or with warning signs (DENGUE), severe Dengue (SD) and individual controls collected during the course of the disease adjusted by the days after the onset of fever (DOF). Levels were measured in ng/ml for both soluble forms of the receptors. Samples were performed by triplicates and black squares indicate mean value for each group.

TNF- $\alpha$  is a potent proinflammatory cytokine with pleiotropic properties, such as antiviral effects on several viruses(60). Increased levels of TNF- $\alpha$  had been determined in patients with SD compared with Dengue±Warning Signs, associated with thrombocytopenia, endothelial cells activation and hemorrhagic symptoms (61, 62); along with the fact that high levels of TNF- $\alpha$  do not affect DENV replication(60) and inhibit intracellular mechanisms of cell survival inducing apoptosis (63). Because TNF- $\alpha$  has a short half-life in circulation, its levels in particular time of DENV infection do not reflect its effects during the course of infection, therefore, we analyzed its levels according to the stage of the disease. Levels of TNF- $\alpha$  rise in non-severe forms of Dengue during the acute stage (viraemia), and decreased during critical stage. However, a significant rise was observed at the critical stages in patients with severe forms of the disease (SD). Most cellular and animals models of immunopathology has shown that TNF- $\alpha$  is released from several cells from immune system (monocytes/macrophages, B and T Lymphocytes), and those cells are responsible of high circulating (endocrine) levels that may in turn, induce viral pathogenesis and, in addition, act in an autocrine or paracrine manner to modulate viral replication in DV-infected cells(64). In turn, tissue and cell damage are mediated via direct lyses of infected cells by TNF- $\alpha$  (63); and can be blocked by the addition of anti-TNF- $\alpha$  antibodies (60). Therefore, in patients with Severe Dengue accumulation of TNF, during the critical stage of DENV infection, is responsible for the induction of EC activation, capillary permeability, vascular leakage, activation of fibrinolysis system and cell apoptosis, including endothelial and T cells (59).

Despite of elevated plasma levels of TNF- $\alpha$  and soluble TNF receptor (sTNFR) have been reported in patients with DENV infections, the dynamics over the stages of the disease still not clear(48, 65). Considering the pathophysiological importance of sTNFR p75 for the regulation of the bioavailability of TNF- $\alpha$  in the body, we determined the serum levels of sTNFR p75 and TNF- $\alpha$  in patient with laboratory-confirmed Dengue infection by using immunoassays. We found a significant elevation of the levels of sTNFR p75 during the critical stage of patients with DENGUE compared with patients with SD at the same stage of the disease. Although elevated levels were observed in SD, there were not enough to mediate the biological functions of TNF- $\alpha$  during critical stage. Soluble forms of the two molecular species of the cell surface TNF receptors (sTNFR p55 and sTNFR p75) can reduce the activity of TNF- $\alpha$  but they may also enhance its

function by stabilizing the active TNF- $\alpha$  oligomer (37). Wang L. et. al. in 2007, found that lower levels of membrane-associated receptor form (mTNFR1) expression, but not levels of TNF- $\alpha$ , sTNFR, or mTNFR2, correlated significantly with patients with severe forms of the disease(38). Therefore, a rapid decrease in mTNFR on the cell surface and shedding of such receptors from the cell surface may serve to transiently desensitize cells, thereby providing a mechanism for inhibition of TNF- $\alpha$  activity (38). Fernandez-Mestre, MT. et. al., 2004 found a significant increase of the TNF-308A allele among patients with SD compared to patients with Dengue±Warning Signs, hence patients with this allele are genetically predisposed to express higher levels of TNF-alpha(66). Shedding of this receptor would point its contribution to block the elevated levels of TNF- $\alpha$  secreted upon activation of monocyte/macrophage system during the early stage of the disease(37); and therefore, protect endothelial cells from damage during critical stages of the disease and may be altered in SD cases. Further studies of polymorphism of TNF- $\alpha$  and other proinflammatory cytokines, in Venezuelan population might elucidate the role of polymorphism in TNF levels and activities.

IL-8 is a chemokine that is abundantly produced by monocytes, EC, and hepatocytes. Liver inflammation and damage cause by Dengue in endothelial cells may lead to an increase of systemic levels, which in turn activate the coagulation system resulting in a release of IL-6 and IL-8 by monocytes. In contrast, APC-PS anticoagulation pathway downregulates production of IL-8 by endothelium cells (reviewed by (59). IL-8 has an effect on the expression of adhesion molecules and tight junction proteins (67), and may contribute to a procoagulant state during DENV infection (68). Here, we also observed increased levels of IL-8 only during the critical stage of the disease, correlated with disease severity. Upregulation of IL-8 in EC, along with other pro-inflammatory cytokines, are correlated with several phenomenon during DENV infection, including DENV replication of NS4b and NS5 genome fragments (69, 70), and stimulation by antibodies anti-NS1 (43). In contrast, Priyadarshini et.al, 2010, found an early to late post-onset day (2–5 days) of illness time trend for IL-8 levels predominantly in DHF compared with DF cases (49). Therefore, variation in the time of collection of samples by stages (acute versus critical stage) and the genetic population (Western India) may explain the early release of IL-8 during the clinical course. Further studies are needed to elucidate genetic makeup related to cytokine profile and populations.

Furthermore, serum levels of IL-8 are associated to disease severity and have the major impact during the critical stage of the disease where damage to endothelial vascular cells occurs.

Cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-8 has an effect on the expression of adhesion molecules such as ICAM-1 and VCAM-1 on endothelial cells. In this study, serum circulation of sICAM-1 were appreciably higher in patients with SD, while in Dengue $\pm$ Warning Signs cases levels rise during the critical stage of the disease. Interestingly, high mean levels of sVCAM-1 were observed in the first 3 days of illness (acute stage) in SD patients. Cardier et al., 2005 found that sera from patients with acute Dengue induced an increase in ICAM-1 expression on HMEC-1. This effect was greater with samples from the acute febrile phase than with samples from the convalescent phase of the disease (61); and also found a significant increase in plasma levels of sICAM-1 and sVCAM-1 in patients with severe Dengue (33). Koraka et al., 2004 found elevated levels of VCAM-1 in children with acute DENV infection associated with disease severity, and the time post infection (acute vs. convalescent phase) and not with age, sex, or previous exposure of the patients to Dengue infection (47). Therefore, sVCAM-1 would be an important early marker to predict the occurrence of severe cases of Dengue.

IL-2 is considered a marker of immune system activation and proliferation, since appear before other cell surface determinants and induce a predominant T cells proliferation, B cell activation and synthesis of proinflammatory cytokines such as IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ , which in turn can induce EC activation and damage (39). Following mononuclear cell activation a soluble form of the alpha-chain of IL-2R (sIL-2R $\alpha$  or CD25) may be released by proteolytic cleavage at the cell surface (39). The sIL-2R has been shown to be present in higher amounts, in sera from subjects affected by several pathological condition such as neoplasia disease, autoimmunity and several infection including virus (HIV, measles and hepatitis) and parasites (39). Valero N, et. al., 2008 found an increased levels of sIL-2R and sICAM-1 in patients with DF and DHF, particularly, sIL-2R were related to the different grades of Dengue severity(44). In contrast, we observed increases levels of sIL-2R in patients with Dengue compared to control; however, it was a significant release of sIL-2R in the early stages of the disease in patients with Severe Dengue compare with patients with Dengue $\pm$ Warning Signs, in which higher levels were observed only during the critical stage of the disease. Kurane I, et.al., in 1991 found in Thailand children (4-14 years-old) that levels of sIL-2R, sCD4,

and sCD8 were higher in severe forms of Dengue (DHF) than in DF on days 3-4 after the onset of fever, initiating critical stage of the disease (40). These authors did not find differences between the levels of lymphokines between patients with dengue fever and dengue hemorrhagic fever, however, most of the patients admitted in the study were enrolled when symptoms were already severe or rapidly worsening and some of the immune response were decreased at the moment of enrollment (40). In our cohort increasing levels of IL2R $\alpha$  were significant higher during days 1-3 after de onset of fever, previous to the critical stage and to the development of plasma leakage and severe dengue. Other viruses' infection such as HIV, Hepatitis B, infectious mononucleosis and measles have been shown an increased levels of sIL2R in the early stages of the infection, even before the onset of symptoms, however, only in HIV infection a correlation between infection and severity have been shown, since levels of sIL2R in seropositive subject are predictive for development of AIDS (39). Therefore, high levels of soluble receptor for IL-2 $\alpha$  (CD25) reflect early immune system activation through lymphocytes cells that leads to synthesis of proinflammatory cytokines and EC activation, and could be consider an early predictive marker and an indicator of onset of severe forms of the disease.

Further evaluation in a larger population may be required, since in our study it was a limited sampling size capability for the multiple analyses that were performed to each patient (qPCR, serology, cytokine determination, hemograms and others).

In conclusion, here we highlight insights concerning to soluble factors (cytokines and receptors) associated to endothelial cell dysfunction, hallmarks of plasma leakage associated to severe forms of Dengue. We found an early increased of sIL2-R and sVCAM-1 expression in serum samples significantly associated to severe forms of Dengue during the early stages of the disease, which could operate as markers of severity in patients progressing to complicated forms of Dengue. Cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-8 has an important effect on the expression of adhesion molecules such as ICAM-1 and VCAM-1 on endothelial cells. A significant elevation of the levels of sTNF-Rp75 during the critical stage of patients with non-complicated forms of Dengue infection but no in severe forms rise its contribution to block the elevated levels of TNF- $\alpha$  secreted upon activation of monocyte/macrophage system during the early stage of the disease, protecting endothelial cells from damage during critical stages of the disease. Finally, cytokine profile identified in patients with Dengue may represent a

valuable tool for the characterization of patient groups at risk for developing severe disease.

### Acknowledgements

This study was supported by Group-Grant from FONACIT No. G-2005000821 and CDC/HT-ULA M-841-05-07-A/M-842-05-07-C (Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela). The authors would like to

express their gratitude to Lic. Carlos Torres, Lic. Zaida Pinto, Lic Morelba Briceño for their technical assistance.

### Conflict of interest statement

The authors declare that no conflicts of interest exist.

### References

- Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, Hunsperger E, Kroeger A, Margolis HS, Martínez E, Nathan MB, Pelegrino JL, Simmons C, Yoksan S, Peeling RW. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8 (Suppl 12): S7-16. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Costa RL, Voloch CM, Schrago CG. Comparative evolutionary epidemiology of dengue virus serotypes. *Infect Genet Evol.* 2012; 12: 309-14. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Ferreira GL. Global dengue epidemiology trends. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2012; 54 (Suppl 18): S5-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Guzman A, Isturiz RE. Update on the global spread of dengue. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 36 (Suppl 1):S40-2. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Murray NE, Quam MB, Wilder-Smith A. Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. *Clin Epidemiol.* 2013; 5: 299-309. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Halstead SB. Dengue and hemorrhagic fevers of Southeast Asia. *Yale J Biol Med.* 1965; 37: 434-54. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- World Health Organization, (TDR) SPfRaTITD. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control: New Edition. 2013/06/14 ed2009. 3-144 p. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Smart K, Safitri I. Evidence behind the WHO guidelines: hospital care for children: what treatments are effective for the management of shock in severe dengue? *J Trop Pediatr.* 2009; 55: 145-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Halstead SB. Controversies in dengue pathogenesis. *Paediatr Int Child Health.* 2012; 32 (Suppl 1): 5-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Fang X, Hu Z, Shang W, Zhu J, Xu C, Rao X. Genetic polymorphisms of molecules involved in host immune response to dengue virus infection. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012; 66: 134-46. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Sierra B1, Alegre R, Pérez AB, García G, Sturn-Ramirez K, Obasanjo O, Aguirre E, Alvarez M, Rodriguez-Roche R, Valdés L, Kanki P, Guzmán MG. HLA-A, -B, -C, and -DRB1 allele frequencies in Cuban individuals with antecedents of dengue 2 disease: advantages of the Cuban population for HLA studies of dengue virus infection. *Hum Immunol.* 2007; 68: 531-40. [[PubMed](#)]
- Beaumier CM, Jaiswal S, West KY, Friberg H, Mathew A, Rothman AL. Differential in vivo clearance and response to secondary heterologous infections by H2(b)-restricted dengue virus-specific CD8+ T cells. *Viral Immunol.* 2010; 23: 477-85. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Chungue E, Deubel V, Cassar O, Laille M, Martin PM. Molecular epidemiology of dengue 3 viruses and genetic relatedness among dengue 3 strains isolated from patients with mild or severe form of dengue fever in French Polynesia. *J Gen Virol.* 1993; 74: 2765-70. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Halstead SB. Dengue virus-mosquito interactions. *Annu Rev Entomol.* 2008; 53: 273-91. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Halstead SB, Marchette NJ. Biologic properties of dengue viruses following serial passage in primary dog kidney cells: studies at the University of Hawaii. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69 (Suppl 6): 5-11. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Holmes EC. Molecular epidemiology of dengue virus--the time for big science. *Trop Med Int Health.* 1998; 3: 855-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Halstead SB, Streit TG, Lafontant JG, Putvatana R, Russell K, Sun W, Kanesa-Thanan N, Hayes CG, Watts DM. Haiti: absence of dengue hemorrhagic fever despite hyperendemic dengue virus transmission. *Am J Trop Med Hyg.* 2001; 65: 180-3. [[PubMed](#)] [[Google scholar](#)]
- Rodriguez-Roche R, Villegas E, Cook S, Poh Kim PA, Hinojosa Y, Rosario D, Villalobos I, Bendezu H, Hibberd ML, Guzman MG. Population structure of the dengue viruses, Aragua, Venezuela, 2006-2007. Insights into dengue evolution under hyperendemic transmission. *Infect Genet Evol.* 2012; 12: 332-44. [[PubMed](#)] [[Google scholar](#)]
- Green S, Rothman A. Immunopathological mechanisms in dengue and dengue hemorrhagic fever. *Curr Opin Infect Dis.* 2006; 19: 429-36. [[PubMed](#)] [[Google scholar](#)]
- Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Nisalak A, Lew R, Innis BL, Kurane I, Rothman AL, Ennis FA. Early immune activation in acute dengue illness is related to development of plasma leakage and disease severity. *J Infect Dis.* 1999; 179: 755-62. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Rothman AL. Immunology and immunopathogenesis of dengue disease. *Adv Virus Res.* 2003; 60: 397-419. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Rothman AL. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11: 532-43. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Halstead SB, Chow JS, Marchette NJ. Immunological enhancement of dengue virus replication. *Nat New Biol.* 1973; 243: 24-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Avirutnan P, Punyadee N, Noisakran S, Komoltri C, Thiemmecca S, Auethavornanan K, Jairungsri A, Kanlaya R, Tangthawornchaikul N, Puttikhunt C, Pattanakitsakul SN, Yenichitsomanus PT, Mongkolsapaya J, Kasinrerker W, Sittisombut N, Husmann M, Blettner M, Vasanaawathana S, Bhakdi S, Malasit P. Vascular leakage in severe dengue virus infections: a potential role for the nonstructural viral protein NS1 and complement. *J Infect Dis.* 2006; 193: 1078-88. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Cheng HJ, Lei HY, Lin CF, Luo YH, Wan SW, Liu HS, Yeh TM, Lin YS. Anti-dengue virus nonstructural protein 1 antibodies recognize protein disulfide isomerase on platelets and inhibit platelet aggregation.

- Mol Immunol. 2009; 47: 398-406. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
26. Chuang YC, Lei HY, Lin YS, Liu HS, Wu HL, Yeh TM. Dengue virus-induced autoantibodies bind to plasminogen and enhance its activation. *J Immunol.* 2011; 187: 6483-90. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  27. Avirutnan P, Malasit P, Seliger B, Bhakdi S, Husmann M. Dengue virus infection of human endothelial cells leads to chemokine production, complement activation, and apoptosis. *J Immunol.* 1998; 161: 6338-46. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  28. Chaturvedi UC. Shift to Th2 cytokine response in dengue haemorrhagic fever. *Indian J Med Res.* 2009; 129: 1-3. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  29. Chaturvedi UC, Agarwal R, Elbishbishi EA, Mustafa AS. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000; 28: 183-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  30. Maneekan P, Leaugwutiwong P, Misse D, Luplertlop N. T helper (Th) 1 and Th2 cytokine expression profile in dengue and malaria infection using magnetic bead-based bio-plex assay. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2013; 44: 31-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  31. Anderson R, Wang S, Osioy C, Issekutz AC. Activation of endothelial cells via antibody-enhanced dengue virus infection of peripheral blood monocytes. *J Virol.* 1997; 71: 4226-32. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  32. Appanna R, Wang SM, Ponnampalavanar SA, Lum LC, Sekaran SD. Cytokine factors present in dengue patient sera induces alterations of junctional proteins in human endothelial cells. *Am J Trop Med Hyg.* 2012; 87: 936-42. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  33. Cardier JE, Rivas B, Romano E, Rothman AL, Perez-Perez C, Ochoa M, Caceres AM, Cardier M, Guevara N, Giovannetti R. Evidence of vascular damage in dengue disease: demonstration of high levels of soluble cell adhesion molecules and circulating endothelial cells. *Endothelium.* 2006; 13: 335-40. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  34. Azeredo EL, Zagne SM, Santiago MA, Gouvea AS, Santana AA, Neves-Souza PC, Nogueira RM, Miagostovich MP, Kubelka CF. Characterisation of lymphocyte response and cytokine patterns in patients with dengue fever. *Immunobiology.* 2001; 204: 494-507. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  35. Butthep P, Chunhakan S, Yoksan S, Tangnaratchakit K, Chuansumrit A. Alteration of cytokines and chemokines during febrile episodes associated with endothelial cell damage and plasma leakage in dengue hemorrhagic fever. *Pediatr Infect Dis J.* 2012; 31: e232-8 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  36. Gagnon SJ, Mori M, Kurane I, Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Suntayakorn S, Ennis FA, Rothman AL. Cytokine gene expression and protein production in peripheral blood mononuclear cells of children with acute dengue virus infections. *J Med Virol.* 2002; 67: 41-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  37. Hober D, Delannoy AS, Benyoucef S, De Groot D, Wattré P. High levels of sTNFR p75 and TNF alpha in dengue-infected patients. *Microbiol Immunol.* 1996; 40: 569-73. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  38. Wang L, Chen RF, Liu JW, Yu HR, Kuo HC, Yang KD. Implications of dynamic changes among tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), membrane TNF receptor, and soluble TNF receptor levels in regard to the severity of dengue infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 77: 297-302. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  39. Caruso C, Candore G, Cigna D, Colucci AT, Modica MA. Biological significance of soluble IL-2 receptor. *Mediators Inflamm.* 1993; 2: 3-21. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  40. Kurane I, Innis BL, Nimmanitya S, Nisalak A, Meager A, Janus J, Ennis FA. Activation of T lymphocytes in dengue virus infections. High levels of soluble interleukin 2 receptor, soluble CD4, soluble CD8, interleukin 2, and interferon-gamma in sera of children with dengue. *J Clin Invest.* 1991; 88: 1473-80. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  41. Azeredo EL, Zagne SM, Alvarenga AR, Nogueira RM, Kubelka CF, de Oliveira-Pinto LM. Activated peripheral lymphocytes with increased expression of cell adhesion molecules and cytotoxic markers are associated with dengue fever disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006; 101: 437-49. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  42. Khongphatthanayothin A, Phumaphuti P, Thongchaiprasit K, Poovorawan Y. Serum levels of sICAM-1 and sE-selectin in patients with dengue virus infection. *Jpn J Infect Dis.* 2006; 59: 186-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  43. Lin CF, Chiu SC, Hsiao YL, Wan SW, Lei HY, Shiao AL, Liu HS, Yeh TM, Chen SH, Liu CC, Lin YS. Expression of cytokine, chemokine, and adhesion molecules during endothelial cell activation induced by antibodies against dengue virus nonstructural protein 1. *J Immunol.* 2005; 174: 395-403. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  44. Valero N, Larreal Y, Espina LM, Reyes I, Maldonado M, Mosquera J. Elevated levels of interleukin-2 receptor and intercellular adhesion molecule 1 in sera from a venezuelan cohort of patients with dengue. *Arch Virol.* 2008; 153: 199-203. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  45. Beaumier CM, Mathew A, Bashyam HS, Rothman AL. Cross-reactive memory CD8(+) T cells alter the immune response to heterologous secondary dengue virus infections in mice in a sequence-specific manner. *J Infect Dis.* 2008; 197: 608-17. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  46. Beaumier CM, Rothman AL. Cross-reactive memory CD4+ T cells alter the CD8+ T-cell response to heterologous secondary dengue virus infections in mice in a sequence-specific manner. *Viral Immunol.* 2009; 22: 215-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  47. Koraka P, Murgue B, Deparis X, Van Gorp EC, Setiati TE, Osterhaus AD, Groen J. Elevation of soluble VCAM-1 plasma levels in children with acute dengue virus infection of varying severity. *J Med Virol.* 2004; 72: 445-50. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  48. Hober D, Poli L, Roblin B, Gestas P, Chungue E, Granic G, Imbert P, Pecarere JL, Vergez-Pascal R, Wattré P, et al. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 beta (IL-1 beta) in dengue-infected patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1993; 48: 324-31. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  49. Priyadarshini D, Gadia RR, Tripathy A, Gurukumar KR, Bhagat A, Patwardhan S, Mokashi N, Vaidya D, Shah PS, Cecilia D. Clinical findings and pro-inflammatory cytokines in dengue patients in Western India: a facility-based study. *PLoS One.* 2010; 5: e8709. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  50. Raghupathy R, Chaturvedi UC, Al-Sayer H, Elbishbishi EA, Agarwal R, Nagar R, Kapoor S, Misra A, Mathur A, Nusrat H, Azizieh F, Khan MA, Mustafa AS. Elevated levels of IL-8 in dengue hemorrhagic fever. *J Med Virol.* 1998; 56: 280-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  51. Butthep P, Chunhakan S, Tangnaratchakit K, Yoksan S, Pattanapanyasat K, Chuansumrit A. Elevated soluble thrombomodulin in the febrile stage related to patients at risk for dengue shock syndrome. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25: 894-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  52. Kumar Y, Liang C, Bo Z, Rajapakse JC, Ooi EE, Tannenbaum SR. Serum proteome and cytokine analysis in a longitudinal cohort of adults with primary dengue infection reveals predictive markers of DHF. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012; 6: e1887. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  53. Odreman-Macchioli M, Vielma S, Atchley D, Comach G, Ramirez A, Pérez S, Téllez L, Quintero B, Hernández E, Muñoz M, Mendoza J. Analysis of real time PCR amplification efficiencies from three

- genomic region of dengue virus. *Invest Clin.* 2013; 54: 5-19. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Peláez O, Sánchez L, Más P, Pérez S, Kourí G, Guzmán MG. Prevalence of febrile syndromes in dengue surveillance, Havana city, 2007. *MEDICC Rev.* 2011; 13: 1bv 47-51. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
55. Valdivia I, Palenzuela A, Herrera R, Zulueta O, Feal S, Ventura J, et al. UMELESA DENGUE IgM Pus: una nueva herramienta para el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica. 2006: [1-30 pp.].
56. Noble JH, Jr. Declaration of Helsinki. *Dead. BMJ.* 2007 Oct 13;335(7623):736. [PubMed](#) PMID: 17932170. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
57. Williams JR. The Declaration of Helsinki and public health. *Bull World Health Organ.* 2008; 86: 650-2. [[PubMed](#)]
58. Basuki PS, Budiyo, Puspitasari D, Husada D, Darmowandowo W, Ismoedijanto, Soegijanto S, Yamanaka A. Application of revised dengue classification criteria as a severity marker of dengue viral infection in Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2010; 41: 1088-94. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Martina BE, Koraka P, Osterhaus AD. Dengue virus pathogenesis: an integrated view. *Clin Microbiol Rev.* 2009; 22: 564-81. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Atrasheuskaya A, Petzelbauer P, Fredeking TM, Ignatyev G. Anti-TNF antibody treatment reduces mortality in experimental dengue virus infection. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003; 35: 33-42. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
61. Cardier JE, Mariño E, Romano E, Taylor P, Liprandi F, Bosch N, Rothman AL. Proinflammatory factors present in sera from patients with acute dengue infection induce activation and apoptosis of human microvascular endothelial cells: possible role of TNF-alpha in endothelial cell damage in dengue. *Cytokine.* 2005; 30: 359-65. [[PubMed](#)]
62. Chaturvedi UC, Elbishi EA, Agarwal R, Raghupathy R, Nagar R, Tandon R, Pacha AS, Younis OI, Azizieh F. Sequential production of cytokines by dengue virus-infected human peripheral blood leukocyte cultures. *J Med Virol.* 1999; 59: 335-40. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
63. Wati S, Rawlinson SM, Ivanov RA, Dorstyn L, Beard MR, Jans DA, Pitson SM, Burrell CJ, Li P, Carr JM. Tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) stimulation of cells with established dengue virus type 2 infection induces cell death that is accompanied by a reduced ability of TNF-alpha to activate nuclear factor kappaB and reduced sphingosine kinase-1 activity. *J Gen Virol.* 2010; 92: 807-18. [[Google Scholar](#)]
64. Wati S, Li P, Burrell CJ, Carr JM. Dengue virus (DV) replication in monocyte-derived macrophages is not affected by tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), and DV infection induces altered responsiveness to TNF-alpha stimulation. *J Virol.* 2007; 81: 10161-71. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
65. Hober D, Shen L, Benyoucef S, De Groot D, Deubel V, Wattré P. Enhanced TNF alpha production by monocytic-like cells exposed to dengue virus antigens. *Immunol Lett.* 1996; 53: 115-20. [[PubMed](#)]
66. Fernandez-Mestre MT, Gendzekhadze K, Rivas-Vetencourt P, Layrisse Z. TNF-alpha-308A allele, a possible severity risk factor of hemorrhagic manifestation in dengue fever patients. *Tissue Antigens.* 2004; 64:469-72. [[PubMed](#)]
67. Talavera D, Castillo AM, Dominguez MC, Gutierrez AE, Meza I. IL8 release, tight junction and cytoskeleton dynamic reorganization conducive to permeability increase are induced by dengue virus infection of microvascular endothelial monolayers. *J Gen Virol.* 2004; 85: 1801-13. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
68. Huerta-Zepeda A, Cabello-Gutiérrez C, Cime-Castillo J, Monroy-Martínez V, Manjarrez-Zavala ME, Gutiérrez-Rodríguez M, Izaguirre R, Ruiz-Ordaz BH. Crosstalk between coagulation and inflammation during Dengue virus infection. *Thromb Haemost.* 2008; 99: 936-43. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
69. Kelley JF, Kaufusi PH, Volper EM, Nerurkar VR. Maturation of dengue virus nonstructural protein 4B in monocytes enhances production of dengue hemorrhagic fever-associated chemokines and cytokines. *Virology.* 2011; 418: 27-39. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
70. Medin CL, Fitzgerald KA, Rothman AL. Dengue virus nonstructural protein NS5 induces interleukin-8 transcription and secretion. *J Virol.* 2005; 79: 11053-61. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

**How cite this article:** Vielma S, Odreman-Macchioli M, Pérez S, Mosqueda N, Comach G, Téllez L, Mendoza J. Dinamic changes of pro-inflammatory cytokines, adhesion molecules and lymphocytes activation markers as early indicators of diseases severity in patients with Dengue *Avan Biomed* 2014; 3: 65-75.



## Factor de crecimiento vascular endotelial total y Doppler de las arterias uterinas en preeclámpticas y embarazadas normotensas sanas (Total vascular endothelial growth factor and Doppler of uterine arteries in preeclamptic patients and healthy normotensive pregnant women)

Eduardo Reyna-Villasmil<sup>1</sup>✉, Jorly Mejia-Montilla<sup>1</sup>, Joel Santos-Bolívar<sup>1</sup>, Duly Torres-Cepeda<sup>1</sup>, Yolimar Navarro-Briceño<sup>1</sup>, Nadia Reyna-Villasmil<sup>1</sup>, Ismael Suarez-Torres<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Servicio de Obstetricia y Ginecología, Maternidad "Dr. Nerio Belloso", Hospital "Dr. Urquinaona", Maracaibo - Venezuela.

[ARTÍCULO ORIGINAL]

Recibido: 13 de Febrero de 2014. Aceptado: 28 de Mayo de 2014.

### Resumen (español)

El objetivo de la investigación fue establecer las concentraciones de factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) total en preeclámpticas y embarazadas normotensas, y relacionar los valores de los hallazgos Doppler de las arterias uterinas con las concentraciones plasmáticas. Se seleccionaron 160 sujetos. Se incluyeron 47 preeclámpticas severas (grupo A), 33 preeclámpticas leves (grupo B) y un grupo control con edades similares a los grupos de estudio de 80 embarazadas sanas (grupo C). Las muestras de sangre para la determinación de VEGF total y las mediciones de los índices de pulsatilidad, índice de resistencia y relación de flujo sistólico / diastólica de las arterias uterinas se realizaron en todas las pacientes antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico en las preeclámpticas. Las pacientes del grupo A y B presentaron concentraciones significativamente más elevadas de VEGF total que las embarazadas del grupo C ( $p < 0,05$ ). Las mediciones del índice de pulsatilidad, índice de resistencia y relación de flujo sistole / diástole de las arterias uterinas mostraron valores significativamente más altos en ambos grupo de las preeclámpticas ( $p < 0,05$ ). Al correlacionar las concentraciones de VEGF total plasmáticas con los valores de velocimetría Doppler de las arterias uterinas se observó que esta era significativa con los tres parámetros evaluados ( $p < 0,05$ ). Se concluye que las preeclámpticas presentan concentraciones plasmáticas de VEGF total más altas que las embarazadas normotensas y existe correlación significativa entre las concentraciones plasmáticas y los parámetros de velocimetría Doppler de las arterias uterinas.

### Palabras clave (español)

Factor de crecimiento vascular endotelial; ultrasonido doppler; flujo sanguíneo; preeclampsia.

### Abstract (english)

The objective of research was to establish total vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations in patients with preeclampsia and healthy normotensive pregnant women and to relate Doppler findings to serum concentrations. One hundred sixty patients were selected. Forty-seven severe preeclamptic patients (group A), 33 mild preeclamptic patients (group B) and 80 healthy pregnant women with a similar age to patients in study groups were selected as controls (group C). Blood samples for total VEGF and measurements of pulsatility index, resistance index and systolic/ diastolic blood flow ratio of uterine arteries were done in all patients before labor and immediately after diagnosis in the study group. Patients in group A and B showed higher total VEGF concentrations than group C ( $p < 0.05$ ). Measurements of pulsatility index, resistance index and systolic/ diastolic blood flow ratio of uterine arteries were higher in both groups of preeclamptic patients ( $p < 0.05$ ). When correlation of plasma total VEGF concentrations with Doppler velocimetry values, there were observed that it was significant with all three evaluated parameters ( $p < 0.05$ ). It is concluded that preeclamptic patients showed higher plasma total VEGF concentrations than normotensive pregnant women and there is a significant correlation between plasma concentrations and parameters of Doppler velocimetry of uterine arteries.

**Keywords (english)**

*Vascular endothelial growth factor, doppler ultrasound, blood flow, preeclampsia.*

**Introducción**

La vascularización placentaria incluye vasculogénesis, angiogénesis, pseudo-vasculogénesis con remodelación de las arterias espirales maternas (1). Estos cambios vasculares durante la implantación y la placentación son críticos para el éxito del embarazo, por lo que se considera que la insuficiencia vascular durante la placentación contribuye a diferentes patologías del embarazo (2).

La preeclampsia es un desorden multisistémico exclusivo del embarazo en humanos y que está caracterizado por hipertensión y proteinuria después de las 20 semanas de embarazo. Es la principal causa de morbilidad y mortalidad materna y neonatal. La preeclampsia ocurre en dos etapas; la alteración de la segunda etapa conlleva a la implantación anormal de la placenta y alteración del flujo sanguíneo placentario, el cual induce la liberación de sustancias por la placenta hacia la circulación materna. A pesar de la investigación, la causa o causas de la preeclampsia son desconocidas (1).

El proceso de placentación necesita un delicado balance de factores angiogénicos y anti-angiogénicos. Se considera que esta alteración entre los factores pro- y anti-angiogénicos en la preeclampsia contribuye a la vascularización placentaria anormal. Se ha demostrado que la hipoxia y las citoquinas también afectan la expresión de las proteínas angiogénicas. El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) juega un papel crucial en la vasculogénesis fisiológica y en la permeabilidad vascular y ha sido implicado en la patogénesis de la preeclampsia (1,2).

Varios estudios han demostrado que las concentraciones de VEGF total circulantes están aumentadas en forma significativa en la preeclampsia (3,4). Sin embargo, otras investigaciones han demostrado que las concentraciones biológicamente activa están disminuidas y las concentraciones de la kinasa de tirosina soluble similar al FMS (también conocida como receptor 1 de VEGF o sFLT-1) están elevadas en las preeclámpticas (5). Sin embargo, el VEGF tiene muchas de las características importantes para el desarrollo de la preeclampsia, como la inducción de la permeabilidad vascular y promoción de la coagulación, dos hallazgos característicos de la preeclampsia (5,6). Más aún, en estudios de miografía, la incubación de arterias miometriales con VEGF

produce una disminución de la relajación dependiente del endotelio que es similar a la reducción inducida por el plasma de las preeclámpticas (7).

En la preeclampsia, la pseudo-vasculogénesis es defectuosa y se ha propuesto que la isquemia placentaria resultante activa la liberación de factores desconocidos derivados de la placenta. Se considera que esto produce la disfunción endotelial sistémica y por lo tanto contribuye a las alteraciones renales, cardiovasculares y neurológicas asociadas a la preeclampsia. Los altos valores de la velocimetría Doppler se correlacionan con la invasión trofoblástica anormal evaluada por las biopsias del lecho placentario (8) y la producción de elementos intradeciduales (9). Sin embargo, la velocimetría de las arterias uterinas, como prueba única, ha demostrado amplias variaciones en la capacidad de predicción de las complicaciones del embarazo, especialmente en las pacientes de bajo riesgo (10).

Los estudios sobre los cambios en las concentraciones plasmáticas de VEGF total y la posible relación con la velocimetría Doppler son escasos y las posibles asociaciones no han sido confirmadas en forma consistente por lo que el objetivo de la investigación fue establecer las concentraciones de factor de crecimiento vascular endotelial en preeclámpticas y embarazadas normotensas, y comparar los valores de los parámetros de velocimetría Doppler de las arterias uterinas de acuerdo con las concentraciones plasmáticas del marcador.

**Materiales y métodos**

Este estudio de casos y controles se realizó con embarazos de más de 32 semanas que acudieron a la emergencia obstétrica del Servicio de Obstetricia del Hospital Central "Dr. Urquinaona" de Maracaibo, Venezuela, de enero del 2006 a febrero del 2013, en aquellas pacientes que se obtuvieron las concentraciones plasmáticas de VEGF total y la velocimetría Doppler del flujo sanguíneo de las arterias uterinas. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética e Investigación del hospital y se obtuvo consentimiento por escrito de todas las pacientes.

**Selección de pacientes.** Se incluyeron 80 mujeres con preeclampsia, de las cuales 47 pacientes

con preeclampsia severa (grupo A) y 33 pacientes con preeclampsia leve (grupo B). El grupo control fue seleccionado por tener edad e índice de masa corporal similar con los grupos en estudio y consistió en 80 embarazadas sanas (grupo C). Solo se incluyeron pacientes nulíparas.

Se excluyó a las embarazadas con polihidramnios, hemorragia del tercer trimestre (desprendimiento prematuro de placenta, placenta previa), sospecha de restricción del crecimiento intrauterino del feto (circunferencia cefálica, circunferencia abdominal y longitud del fémur menor del percentil 10 de referencia con confirmación post-natal de peso menor al percentil 10 de referencia), síndrome de HELLP, alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal, gestaciones múltiples, presencia de infección intrauterina o materna activa, enfermedad hipertensiva crónica (antes de las 20 semanas de embarazo), tratamiento con antihipertensivos, enfermedad cardíaca, hepática, renal o sistémica crónica, diabetes mellitus pre o gestacional, hábito tabáquico. También se excluyeron a las pacientes que se negaron a participar en la investigación.

La preeclampsia leve se definió como la presión arterial sistólica de 140 mm de Hg o más o presión arterial diastólica de 90 mm de Hg o más confirmada por 6 o más horas de diferencia, mientras que la proteinuria se definió como 0,3 g o más de proteína en una muestra de 24 horas, o 1 a 2 cruces de proteinuria en un examen cualitativo después de las 20 semanas de gestación. La preeclampsia severa se definió si la presión arterial diastólica por encima de 110 mm de Hg o presión arterial sistólica de 160 mm de Hg o más, presencia de cefalea, alteraciones visuales, dolor abdominal, oliguria (menos de 500 mL/24 horas), hiperbilirrubinemia, elevación de las concentraciones séricas de creatinina (mayor de 1,1 mg/dl o el doble de las concentraciones de creatinina en ausencia de cualquier otra alteración renal), trombocitopenia (menos de 100.000/mm<sup>3</sup>) y elevación de las concentraciones de las transaminasas (dos veces por encima de las concentraciones normales) después de las 20 semanas de gestación.

**Ultrasonido y Doppler de las arterias uterinas.** En todas las pacientes se realizó el ultrasonido antes del uso de cualquier intervención. Se midieron el índice de pulsatilidad, el índice de resistencia y la relación del flujo sanguíneo sístole / diástole de las arterias uterinas. Las arterias uterinas fueron identificadas en una visualización longitudinal de las caras laterales del útero con la paciente reclinada y por vía abdominal. En esa posición se buscó la bifurcación de la arteria iliaca común. La medición se

realizó en el punto donde la arteria uterina y la iliaca externa parecen cruzarse. En ese punto se midieron los parámetros de velocimetría Doppler de ambas arterias uterinas y se calculó el promedio de ambos vasos.

**Determinación de VEGF sérica.** Las muestras de sangre de la vena antecubital para la determinación de VEGF total se recolectaron en el momento de la realización de la evaluación Doppler en ambos grupos de pacientes y antes de cualquier intervención en las preeclámpticas. A todas las muestras se las dejó coagular a temperatura ambiente y se almacenaron a -70° C hasta el momento de procesarlas. Posteriormente, fueron centrifugadas a 1.000 rpm por 20 minutos y almacenadas con posterioridad a -70° C. Se utilizó una prueba de inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) para la medición cuantitativa de VEGF total (R&D Systems, Minneapolis, EEUU). Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio fue el resultado final. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo de 5% y 7%, respectivamente.

**Análisis estadísticos.** Los datos se presentan como valores promedios +/- desviación estándar. El análisis estadístico entre los grupos se realizó con la prueba de ANOVA con post prueba de Dunnett para comparar los datos sobre edad materna, edad gestacional, presión arterial sistólica y diastólica, concentraciones de VEGF total, índice de pulsatilidad, índice de resistencia y relación del flujo sanguíneo sístole / diástole de las arterias uterinas entre las preeclámpticas severas (grupo A), las preeclámpticas leves (grupo B) y las embarazadas controles (grupo C). Posteriormente, las concentraciones de VEGF total se dividieron por cuartiles (concentración baja, media, alta y muy alta) y se compararon los valores promedio de los parámetros de velocimetría Doppler de los cuartiles medio, alto y muy alto con el cuartil de concentraciones bajas utilizando la prueba de análisis de varianza con post-test de Dunnett. Los coeficientes de correlación entre el factor y los valores promedio de los parámetros de velocimetría Doppler de las arterias uterinas se evaluaron mediante la prueba de Pearson. Se consideró  $p < 0,05$  como estadísticamente significativa.

## Resultados

Las características de embarazadas de ambos grupos se muestran en la tabla 1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad materna y la edad gestacional al momento de la evaluación entre los tres grupos de embarazadas ( $p =$

**Tabla 1.** Características generales de las preeclámpticas y controles normotensas sanas.

	<b>GRUPO A</b> Preeclámpticas severas (n = 47)	<b>GRUPO B</b> Preeclámpticas leves (n = 33)	<b>GRUPO C</b> Controles (n = 80)
Edad materna, años	19,3 +/- 2,3	20,5 +/- 3,9	20,7 +/- 4,5
Edad gestacional al momento de la evaluación, semanas	33,7 +/- 2,5	33,8 +/- 2,5	34,0 +/- 2,1
Edad gestacional al momento del parto, semanas	35,0 +/- 2,0*	36,8 +/- 0,8*	39,4 +/- 0,7
Presión arterial sistólica, mm de Hg	151,2 +/- 11,7*	134,0 +/- 9,7*	103,9 +/- 9,6
Presión arterial diastólica, mm de Hg	110,3 +/- 9,0*	97,6 +/- 5,0*	73,9 +/- 7,71
Excreción urinaria de proteínas en 24 horas, n (%)	47 (100)	33 (100)	0

\* p < 0,05 comparado con las normotensas sanas.

ns). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad gestacional al momento de parto, promedio de presión arterial sistólica, presión arterial diastólica entre las pacientes del grupo A y del grupo B con las embarazadas del grupo control (p < 0,05).

En la tabla 2 se muestran las concentraciones plasmáticas de VEGF total y los valores de la velocimetría Doppler de los tres grupos. Las pacientes del grupo A (141,5 +/- 48,4 ng/mL) y del grupo B (62,8 +/- 22,8 ng/mL) presentaron concentraciones significativamente más elevadas de VEGF total que las mujeres del grupo C (22,1 +/- 3,99 ng/mL; p < 0,05). Las mediciones del índice de pulsatilidad, índice de resistencia y relación de flujo sístole / diástole de las arterias uterinas también demostraron valores significativamente más altos en las pacientes del grupo A y las pacientes del grupo B comparado con las embarazadas del grupo C (p < 0,05).

Al correlacionar las concentraciones de VEGF total plasmáticas con los valores de velocimetría Doppler de las arterias uterinas se observó que esta era moderada, positiva y significativa con los valores del índice de pulsatilidad (r = 0,554; p < 0,05), con el índice de resistencia (r = 0,453; p < 0,05) y con la relación de flujo sístole / diástole (r = 0,447; p < 0,05).

Los valores promedio de los diferentes parámetros de velocimetría Doppler por cada cuartil de concentración de VEGF total se muestran en la tabla 3. Los valores promedio del índice de

pulsatilidad, índice de resistencia y relación de flujo sanguíneo sístole / diástole fueron significativamente más altos en los grupos con concentraciones altas y muy altas de VEGF total al compararlas con aquellas pacientes con concentraciones bajas (p < 0,05). No se encontraron diferencias significativas con en el grupo de concentraciones moderadas al compararlo con el grupo de concentraciones bajas (p = ns).

## Discusión

Los resultados de esta investigación demuestran que las preeclámpticas tienen concentraciones de VEGF total más altas que las embarazadas normotensas sanas y las pacientes con altas concentraciones de VEGF total tienen mayores alteraciones ecográficas Doppler del flujo sanguíneo de las arterias uterinas.

El embarazo requiere de un balance entre las proteínas pro- y anti-angiogénicas producidas por la placenta. En las fases iniciales del embarazo dominan los factores pro-angiogénicos, como el VEGF y factor de crecimiento placentario (PIGF), mientras que en las fases finales del embarazo los factores anti-angiogénicos, como sFLT-1 y endoglinas, son mayores, posiblemente en preparación para el parto (4,7).

La alteración del balance de las concentraciones de proteínas angiogénicas o de la interacción con los receptores podría estar involucrada en la patogénesis de varias enfermedades en las cuales

**Tabla 2.** Concentraciones de factor de crecimiento vascular endotelial y determinaciones hemodinámicas doppler de la arteria uterina de las preeclámpticas y controles normotensas sanas.

	<b>GRUPO A</b> Preeclámpticas severas (n = 47)	<b>GRUPO B</b> Preeclámpticas leves (n = 33)	<b>GRUPO C</b> Controles (n = 80)
Factor de crecimiento vascular endotelial, ng/mL	141,5 +/- 48,4*	62,8 +/- 22,8*	22,1 +/- 3,99
Arteria uterina			
Índice de pulsatilidad	1,119 +/- 0,021*	1,099 +/- 0,017*	0,850 +/- 0,056
Índice de resistencia	0,627 +/- 0,060*	0,621 +/- 0,061*	0,499 +/- 0,052
Relación de flujo sístole / diástole	2,731 +/- 0,308*	2,648 +/- 0,294*	2,157 +/- 0,210

\* p < 0,05 comparado con las normotensas sanas.

la disfunción endotelial es un factor contribuyente, como en pacientes con diferentes tipos de cáncer o endometriosis (11). Los hallazgos de esta investigación sugieren que el aumento de las concentraciones del VEGF total puede estar asociado a los mecanismos moleculares en el desarrollo anormal de la placenta y puede ser un factor importante involucrado en la patogénesis de la preeclampsia y sus complicaciones. Por otra parte, un estudio histoquímico demostró que las concentraciones de VEGF eran significativamente superiores en las biopsias placentarias de las preeclámpticas que en los controles normotensas (12), mientras que otros estudios no mostraron diferencias en la expresión y concentraciones de ARNm del VEGF en las placentas de las preeclámpticas y las normotensas (13). Se ha postulado que estas variaciones pueden ser debidas a las diferentes técnicas usadas para la determinación o a los diferentes grupos etarios. El VEGF aumenta la permeabilidad vascular a través de la producción de óxido nítrico y prostaciclina en las células endoteliales (14). Además, produce vasodilatación acompañado de hipotensión y taquicardia a través de mecanismos dependientes del óxido nítrico (15).

En los últimos años se han realizado intentos para medir las concentraciones de VEGF total en la preeclampsia, con resultados contradictorios. Hunter y col. (16) usando una prueba de ELISA de inmunofluorescencia demostraron la elevación en algunas preeclámpticas mientras que en las embarazadas normotensas y en los controles no embarazados las concentraciones no fueron detectables. Otros investigadores (3,17) también demostraron concentraciones elevadas en las preeclámpticas con el uso de un inmunoensayo

enzimático competitivo. Sin embargo, Reuvekamp y col. (18) usando una prueba de ELISA comercial encontraron que las concentraciones disminuían en la preeclampsia y en las embarazadas sanas comparadas con los controles no embarazados. El hallazgo de ausencia de elevación en el embarazo es sorprendente debido a que es un elemento clave en la embriogénesis y formación placentaria. La unión del VEGF total a las proteínas puede causar este problema en todas las pruebas utilizadas, incluyendo la utilizada en esta investigación. Sin embargo, a diferencia de los resultados de informes previos (16,18), Belgore y col. (19) desarrollaron un inmunoensayo con anticuerpos policlonales para el VEGF, el cual puede solucionar los problemas potenciales del ELISA para la detección de la VEGF unida en el embarazo.

Es conocido que existen dos fuentes principales del factor de crecimiento vascular endotelial. Uno es las plaquetas quienes toman el factor y lo liberan para su activación tanto in vivo como in vitro; la otra fuente es la proteína plasmática, conocida como alfa2-macroglobulina y el sFLT-1. La proteína sFLT-1 es una variante del receptor de VEGF; el sFLT-1 carece de dominios transmembrana y citoplasmático y actúa como un potente antagonista de las proteínas angiogénicas (20). La producción placentaria de sFLT-1 esta aumentada en la preeclampsia. Este actúa adhiriéndose a los dominios de los receptores del PIGF y de VEGF, evitando su interacción con los receptores en la superficie de las células endoteliales (5).

Las concentraciones circulantes de SFLT1 y VEGF total están aumentadas y las concentraciones de PIGF y VEGF libre están disminuidas durante la fase activa y varias semanas antes de la aparición de los

**Tabla 3.** Valores promedio de la velocimetria doppler de la arteria uterina de acuerdo a la concentracion de factor de crecimiento vascular endotelial por cuartiles.

	Concentraciones bajas (n = 40)	Concentraciones medias (n = 40)	Concentraciones altas (n = 40)	Concentraciones muy altas (n = 40)
Factor de crecimiento vascular endotelial, ng/ml	18,3 +/- 2,5	25,0 +/- 1,8*	60,2 +/- 21,9*	143,9 +/- 24,0*
Intervalo de las concentraciones de factor de crecimiento vascular endotelial, ng/ml	12,1 – 21,9	22,2 – 28,3	29,1 – 98,9	99,3 – 238,4
Índice de pulsatilidad de la arteria uterina	0,871 +/- 0,086	0,873 +/- 0,099	1,093 +/- 0,068*	1,094 +/- 0,071*
Índice de resistencia de la arteria uterina	0,492 +/- 0,061	0,506 +/- 0,063	0,609 +/- 0,062*	0,632 +/- 0,068*
Relación sístole / diástole de la arteria uterina	2,233 +/- 0,217	2,235 +/- 0,282	2,726 +/- 0,328*	2,729 +/- 0,259*

\* p < 0,05 comparado con el grupo de concentraciones bajas

síntomas (1). Existen reportes sobre el aumento de la concentración del ARNm de la sFLT-1 en la preeclampsia, lo que lleva a un incremento en las concentraciones sistémicas del sFLT-1 que posteriormente disminuye después del parto (5). También se demostró que el incremento de las concentraciones circulantes de sFLT-1 puede ser la causa de la disfunción endotelial in vitro que puede ser revertido por la administración exógena de PIGF y VEGF (5). Por lo tanto, se ha sugerido un papel del bloqueo de la acción de la VEGF en la fisiopatología de la preeclampsia. El uso de compuestos antagonistas del VEGF puede inducir hipertensión y proteinuria en animales y humanos no embarazados incluidos en estudios de anti-angiogénicos.

Existe evidencia que indica que el Doppler de la arteria uterina y las muestras placentarias patológicas de invasión trofoblástica anormal es un proceso que continúa desde el comienzo del embarazo (9,21). Los hallazgos de incrementos en los parámetros Doppler de la arteria uterina en las preeclámpticas encontradas en esta investigación son apoyados por investigaciones previas (22). Estos resultados apoyan

el concepto de hipoperfusión relativa de la placenta en las preeclámpticas, aunque las mediciones directas de oxígeno en la placenta son necesarias para confirmar la hipoxia (23). Los mecanismos que pueden actuar en el incremento de la resistencia del flujo sanguíneo uterino incluyen vasoconstricción sistémica e hipertensión, los cuales pueden incrementar la presión de perfusión de la circulación útero-placentaria a corto plazo, e incrementa las concentraciones del factor de crecimiento vascular endotelial, lo cual puede llevar a un aumento de la vasculogénesis e incremento del flujo sanguíneo como una respuesta de compensación crónica. Se ha demostrado que la hipoxia incrementa la producción del VEGF (24). El incremento de la resistencia de la arteria uterina, que es un hallazgo característico de la preeclampsia, puede producir hipoxia placentaria y puede estar asociado al incremento de las concentraciones.

Los hallazgos de esta investigación también demuestran una asociación entre los índices de resistencia y las concentraciones plasmáticas del factor de crecimiento vascular endotelial. Esta relación sugiere que en la preeclampsia el aumento en las

concentraciones del factor ocurre como un mecanismo compensatorio potencial a la insuficiencia placentaria. Esto aporta evidencia a la hipótesis que la disminución del flujo, la hipoperfusión relativa y la hipoxia del lecho útero-placentario lleva a un incremento en las concentraciones del factor de crecimiento vascular endotelial, el cual puede promover la vasculogénesis en un intento de incrementar el flujo sanguíneo utero-placentario (25).

Los hallazgos de esta investigación demuestran que las preeclámpticas presentan concentraciones plasmáticas de factor de crecimiento vascular endotelial total más altas que las embarazadas normotensas y existe una correlación significativa entre las concentraciones plasmáticas y los parámetros de velocimetría Doppler de las arterias uterinas.

## Referencias

1. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004; 350: 672-83. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
2. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, Kusanovic JP, Gotsch F, Erez O, Mazaki-Tovi S, Gomez R, Edwin S, Chaiworapongsa T, Levine RJ, Karumanchi SA. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008; 21: 9-23. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
3. Bosio PM, Wheeler T, Anthony F, Conroy R, O'herlihy C, McKenna P. Maternal plasma vascular endothelial growth factor concentrations in normal and hypertensive pregnancies and their relationship to peripheral vascular resistance. *Am J Obstet Gynecol.* 2001; 184: 146-52. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
4. Lee ES, Oh MJ, Jung JW, Lim JE, Seol HJ, Lee KJ, Kim HJ. The levels of circulating vascular endothelial growth factor and soluble Flt-1 in pregnancies complicated by preeclampsia. *J Korean Med Sci.* 2007; 22: 94-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
5. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003; 111: 649-58. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
6. Jelkmann W. Pitfalls in the measurement of circulating vascular endothelial growth factor. *Clin Chem.* 2001; 47: 617-23. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
7. Brockelsby J, Hayman R, Ahmed A, Warren A, Johnson I, Baker P. VEGF via VEGF receptor-1 (Flt-1) mimics preeclamptic plasma in inhibiting uterine blood vessel relaxation in pregnancy: implications in the pathogenesis of preeclampsia. *Lab Invest.* 1999; 79: 1101-11. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
8. Madazli R, Somunkiran A, Calay Z, Ilvan S, Aksu MF. Histomorphology of the placenta and the placental bed of growth restricted fetuses and correlation with the Doppler velocimetries of the uterine and umbilical arteries. *Placenta.* 2003; 24: 510-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
9. Guzin K, Tomruk S, Tuncay YA, Naki M, Sezginsoy S, Zemheri E, Yucel N, Kanadikirik F. The relation of increased uterine artery blood flow resistance and impaired trophoblast invasion in pre-eclamptic pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2005; 272: 283-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
10. Li H, Gudnason H, Olofsson P, Dubiel M, Gudmundsson S. Increased uterine artery vascular impedance is related to adverse outcome of pregnancy but is present in only one-third of late third-trimester pre-eclamptic women. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005; 25: 459-63. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
11. Pupo-Nogueira A, de Oliveira RM, Petta CA, Podgaec S, Dias JA, Abrao MS. Vascular endothelial growth factor concentrations in the serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2007; 99: 33-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
12. Akercan F, Cirpan T, Terek MC, Ozcakil HT, Giray G, Sagol S, Karadadas N. The immunohistochemical evaluation of VEGF in placenta biopsies of pregnancies complicated by preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet.* 2008; 277: 109-14. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
13. Sgambati E, Marini M, Zappoli Thyron GD, Parretti E, Mello G, Orlando C, Simi L, Tricarico C, Gheri G, Brizzi E. VEGF expression in the placenta from pregnancies complicated by hypertensive disorders. *BJOG.* 2004; 111: 564-70. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
14. Murohara T, Horowitz JR, Silver M, Tsurumi Y, Chen D, Sullivan A, Isner JM. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation.* 1998; 97: 99-107. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
15. Tilton RG, Chang KC, LeJeune WS, Stephan CC, Brock TA, Williamson JR. Role for nitric oxide in the hyperpermeability and hemodynamic changes induced by intravenous VEGF. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999; 40: 689-96. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)

16. Hunter A, Aitkenhead M, Caldwell C, McCracken G, Wilson D, McClure N. Serum levels of vascular endothelial growth factor in preeclamptic and normotensive pregnancy. *Hypertension*. 2000;36:965-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
17. Sharkey AM, Cooper JC, Balmforth JR, McLaren J, Clark DE, Charnock-Jones DS, Morris NH, Smith SK. Maternal plasma levels of vascular endothelial growth factor in normotensive pregnancies and in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Eur J Clin Invest*. 1996; 26: 1182-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
18. Reuvekamp A, Velsing-Aarts FV, Poulina IE, Capello JJ, Duits AJ. Selective deficit of angiogenic growth factors characterises pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*. 1999;106:1019-22. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
19. Belgore FM, Blann AD, Lip GY. Measurement of free and complexed soluble vascular endothelial growth factor receptor, Flt-1, in fluid samples: development and application of two new immunoassays. *Clin Sci (Lond)*. 2001;100:567-75. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
20. Ferrara N, Gerber HP. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol*. 2001; 106: 148-56. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
21. Hafner E, Metzenbauer M, Höfner D, Stonek F, Schuchter K, Waldhör T, Philipp K. Comparison between three-dimensional placental volume at 12 weeks and uterine artery impedance/notching at 22 weeks in screening for pregnancy-induced hypertension, pre-eclampsia and fetal growth restriction in a low-risk population. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006;27:652-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
22. Parretti E, Mealli F, Magrini A, Cioni R, Mecacci F, La Torre P, Periti E, Scarselli G, Mello G. Cross-sectional and longitudinal evaluation of uterine artery Doppler velocimetry for the prediction of pre-eclampsia in normotensive women with specific risk factors. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003; 22: 160-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
23. Ranheim T, Staff AC, Henriksen T. VEGF mRNA is unaltered in decidua and placental tissues in preeclampsia at delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001;80:93-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
24. Ankoma-Sey V, Wang Y, Dai Z. Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in activated rat hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2000; 31: 141-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
25. Simmons LA, Hennessy A, Gillin AG, Jeremy RW. Uteroplacental blood flow and placental vascular endothelial growth factor in normotensive and pre-eclamptic pregnancy. *BJOG*. 2000;107:678-85. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)

**Como citar este artículo:** Reyna-Villasmil E, Mejia-Montilla J, Santos-Bolívar J, Torres-Cepeda D, Navarro-Briceño Y, Reyna-Villasmil N, Suarez-Torres I. Factor de crecimiento vascular endotelial total y Doppler de las arterias uterinas en preeclámpticas y embarazadas normotensas sanas. *Avan Biomed* 2014; 3: 76-83.

## Role of Free Radicals, Oxidative Stress and Xenobiotics in Carcinogenesis by Environmental Pollutants (Papel de los radicales libres, estrés oxidativo y xenobioticos en la carcinogénesis por contaminación ambiental)

Dibyajyoti Saha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, BGC Trust University Bangladesh, Chittagong.

[REVIEW ARTICLE]

Submitted: 26 October 2013. Accepted: 29 November 2013.

### Abstract (english)

Carcinogenesis by many small molecular weight chemicals involves either a direct action of the chemical on cellular DNA or metabolism of the parent chemical to an active or ultimate form, which can then react with cellular DNA to produce a permanent chemical change in a DNA structure. A free radical is an atom or molecule that has one or more unpaired electron(s). These are highly reactive species capable of wide spread, indiscriminate oxidation and per oxidation of proteins, lipids and DNA which can lead to significant cellular damage and even tissue and/or organ failure. . Oxidative stress is a leading cause to damage cells by oxidation. The rate at which oxidative damage is induced (input) and the rate at which it is efficiently repaired and removed (output). Xenobiotics are a compound that is foreign to the body. Xenobiotics can produce a variety of biological effects, including pharmacologic responses, toxicity, genes, immunologic reactions and cancer. Oxidative stress is a leading cause to damage cells by oxidation. The rate at which oxidative damage is induced (input) and the rate at which it is efficiently repaired and removed (output). This communication highlights the role of carcinogens as environmental pollutants with the possible mechanism of free radicals, oxidative stress and xenobiotics.

### Keywords (english)

*Carcinogenesis, xenobiotics, oxidative stress, free radicals, environment, pollutants.*

### Carcinogenesis-at a glance

Carcinogenesis is a general term used to denote the development of cancer (figure 1). This is an active phenomenon induced by any one or several of a variety of agents i.e. physical, chemical, genetic or biological. Passive carcinogenesis may occur with spontaneous carcinogenesis occurring in organisms without any active introduction of a carcinogenic agent into the system under study.

Some characteristic features of the stages of carcinogenesis:

Initiation: Irreversible, requires fixation, Additive, No threshold.

Promotion: Reversible, Somatic aneuploidy, Progressive karyotypic instability.

Progression: Irreversible, Somatic aneuploidy, Progressive karyotypic instability.

Initiation is rapid and irreversible and involves direct carcinogenic binding and damage to DNA.

Promotion, the period between initiation and premalignancy, is generally reversible and primarily occurs by epigenetic mechanisms.

Progression the period between pre-malignant and malignant disease, is generally irreversible and involves primary genetic mechanism (1).

**Carcinogenes as an environmental pollutant**

Heterocyclic amines represent an important class of carcinogens in foods. They are mutagens and carcinogens at numerous organ sites in experimental animals, are produced when meats are heated above 180 degrees C for long periods. Four of these compounds can consistently be identified in well-done meat products from the North American diet, and although a causal linkage has not been established, a majority of epidemiology studies have linked consumption of well-done meat products to cancer of the colon, breast and stomach. Studies employing molecular biomarkers suggest that individuals may differ in their susceptibility to these carcinogens, and genetic polymorphisms may contribute to this variability. Heterocyclic amines, like most other chemical carcinogens, are not carcinogenic per se but must be metabolized by a family of cytochrome P450 enzymes to chemically reactive electrophiles prior to reacting with DNA to initiate a carcinogenic response. These same cytochrome P450 enzymes--as well as enzymes that act on the metabolic products of the cytochromes P450 (e.g. glucuronyl transferase, glutathione S-transferase and others)--also metabolize chemicals by inactivation pathways, and the relative

amounts of activation and detoxification will determine whether a chemical is carcinogenic. Because both genetic and environmental factors influence the levels of enzymes that metabolically activate and detoxify chemicals, they can also influence carcinogenic risk. Many of the phenotypes of cancer cells can be the result of mutations, i.e., changes in the nucleotide sequence of DNA that accumulate as tumors progress. These can arise as a result of DNA damage or by the incorporation of non-complementary nucleotides during DNA synthetic processes. Based upon the disparity between the infrequency of spontaneous mutations and the large numbers of mutations reported in human tumors, it has been postulated that cancers must exhibit a mutator phenotype, which would represent an early event in cancer progression (2). A mutator phenotype could be generated by mutations in genes that normally function to guarantee genetic stability. These mutations presumably arise via DNA damage by environmental or endogenous agents, but it remains to be determined whether the acquisition of a mutator phenotype is a necessary event during tumor progression. An integrative theory is proposed in which environmental carcinogenesis is viewed as a process by which the genetic control of cell division and differentiation is altered by carcinogens. In this

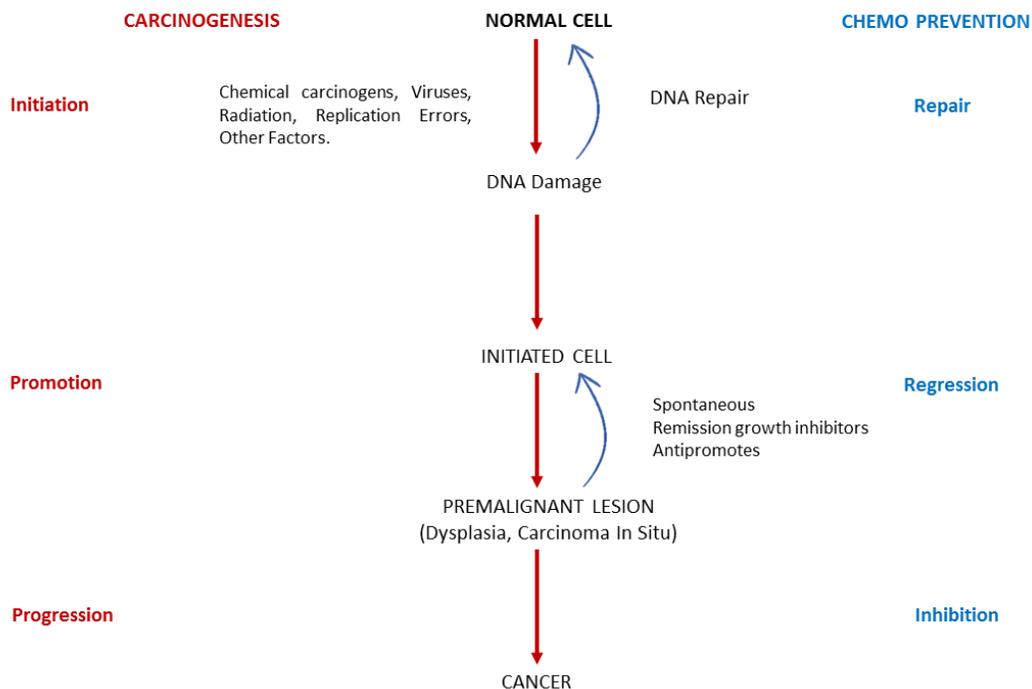


Figure 1. A Multistep Carcinogenesis Model

theory, carcinogens include physical, chemical, and viral "mutagens," as well as chemical and viral gene modulators. Existing explanations of carcinogenesis can be considered either as somatic mutation theories or as epigenetic theories. Evidence seems to support the hypothesis that both mutations and epigenetic processes are components of carcinogenesis. The mutational basis of cancer is supported by the clonal nature of tumors, the mutagenicity of most carcinogens, high mutation frequencies in cells of cancer-prone human fibroblasts lacking DNA repair enzymes, the correlation of in vitro DNA damage and in vitro mutation and transformation frequencies with in vivo tumor genesis, age-related incidences of various hereditary tumors, and the correlation between photo reactivation of DNA damage and the biological amelioration of UV-induced neoplasm's (3). Since both mutagens and gene modulators can be carcinogenic it may be that carcinogens affect genes which control cell division. An Integration of the mutation and epigenetic theories of cancer with the "two-stage" theory and Comings's general theory of carcinogenesis is proposed. This integrative theory postulates that carcinogens can affect regulatory genes which control a series of "transforming genes." A general hypothesis is advanced that involves a common mechanism of somatic mutagenesis via error-prone repair of DNA damage which links carcinogenesis, teratogenesis, atherosclerosis and aging (4). Various concepts are presented to provide a framework for evaluating the scientific, medical, and social implications of cancer.

The pathways of impact of the environment on the human body evidently are the systems that are exposed to hazardous materials, covering the external skin, and the internal respiratory and alimentary systems, each with an array of organs and functions, and with an ultimate bearing on the structures and organs of the body as a whole. While many ailments like asthma and allergies are known to be environment linked, cancer is the most significant in the environmental health profile (5). Tobacco is a known cause of cancer of the lungs, bladder, mouth, pharynx, pancreas, stomach, larynx, esophagus and possibly colon. In addition to tobacco use, certain chemicals can also cause cancer such as asbestos, benzene, vinyl chloride, arsenic, aflatoxin, DDT, formaldehyde and ionizing radiation (IR) such as X-rays, and radon have also been proven to cause cancer in humans. While tobacco and other environmental toxins are the causes of cancer, all smokers or those exposed to environmental hazards do not get cancer, indicating the importance of genetic alterations that occur in the

DNA (6). Alterations in the sequences of certain genes, which are inherited, are equally responsible for carcinogenesis. A combination of tobacco exposure and genetic alterations will increase the risk for malignant transformation of normal cells.

### **Environmental carcinogens with examples**

Environmental carcinogens mean any of the natural or synthetic substances that can cause cancer. Such agents may be divided into chemical agents, physical agents, hormones, and viruses. Some environmental carcinogens are arsenic, asbestos, uranium, vinyl chloride, ionizing radiation, ultraviolet rays, x-rays, and coal tar derivatives. Carcinogenic effects of chemicals may be delayed for as long as 30 years (7). Other carcinogens produce more immediate effects. Some studies indicate that the carcinogens in cigarette smoke are involved in 80% of all lung cancer. Most carcinogens are unreactive or secondary carcinogens but are converted to primary carcinogens in the body. Numerous factors, such as heredity, affect the susceptibilities of different individuals to cancer-causing agents (8).

Arsenic is a naturally occurring element. It is most commonly used as a wood preservative (in pressure treated wood) and can be found in building materials, industry, and water (inorganic) as well as fish and shellfish (organic compounds). Exposure is through inhalation or ingestion (intentional poisoning). Arsenic is linked to lung cancer, skin cancer, and urinary tract cancer. Arsenic is a known human carcinogen.

Asbestos is a group of naturally produced chemicals composed of silicon compounds. It is used in insulation materials due to heat resistance. Human exposure is through inhalation (from disruption of materials containing asbestos) and ingestion (contaminated food/water). Tiny asbestos fibers in the air can get trapped and accumulate in the lungs. Asbestos is linked to increased risk of lung cancer, and development of mesothelioma (cancer of the thin lining surrounding the lung (pleural membrane) or abdominal cavity (the peritoneum) and laryngeal cancer. Cancer may appear 30 to 50 years after exposure. Asbestos is a known human carcinogen.

Benzene is used as a solvent in chemical and pharmaceutical industry, and is released by oil refineries. It is one of the largest-volume petrochemical solvents in production; it is produced from coal and from petroleum. Exposure is through inhalation (smoke, gas emissions, etc.) or ingestion

(contaminated food/water). Exposure to benzene is linked to acute myeloid leukemia (AML) and chronic lymphocytic leukemia (CLL); breast cancer; lymphatic and hematopoietic cancer. Benzene is a known human carcinogen.

Bisphenol A (BPA), a building block of polycarbonate plastic, is one of the most widely produced chemicals in the world. It is used in hard plastics, food cans, drink cans, receipts, and dental sealants. BPA is ubiquitous. CDC biomonitoring surveys indicate that more than 90% of Americans have the substance in their bodies. BPA is an endocrine disruptor linked to breast and prostate cancer. The International Agency for Research on Cancer has listed BPA as “not classifiable as to its carcinogenicity in humans.”

Chromium Hexavalent compounds: Elemental chromium does not occur naturally; chromium (IV) compounds are highly corrosive and strong oxidizing agents rarely found in nature. Such compounds are also used as corrosion inhibitors in the leather tanning process, in the manufacture of dyes and pigments, and in wood preserving, chrome plating, and steel and other alloy production. Exposure is through inhalation, ingestion (chromium leached into soil and water), and dermal contact. They are linked to lung, nasal, and nasopharyngeal cancer. Chromium hexavalent compounds are a known human carcinogen.

Dioxins are a group of chemicals formed as unintentional byproducts of industrial processes involving chlorine, such as waste incineration, chemical manufacturing, and pulp and paper bleaching. Dioxins include polychlorinated dibenzo dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzo furans (PCDFs), and the polychlorinated biphenyls (PCBs). Exposure is through the ingestion of contaminated foods and, to a lesser extent, dermal contact. Dioxins accumulate in fat cells and degrade very slowly in the environment. The cancer classification depends on the dioxin: 2,3,7,8-TCDD (Agent Orange) is a known human carcinogen; some other dioxins are probable or possible human carcinogens.

Formaldehyde can be found in a variety of building and home decoration products (as urea-formaldehyde resins and phenol-formaldehyde resin). It is also used as a preservative and disinfectant. Exposure is through inhalation and dermal contact. Automobile exhaust is the greatest contributor to formaldehyde concentrations in ambient air. Construction materials, furnishings, and cigarettes account for most formaldehyde in indoor air. Formaldehyde has caused nasal cancer in rats after long term exposure; it is linked to leukemia and

nasopharyngeal cancer in humans. It is a known human carcinogen.

Polybrominated diphenylethers (PBDEs) are used as flame retardants in furniture, computers, electronics, medical equipment, and mattresses. Exposure is through inhalation, ingestion and dermal contact. Two of the common commercial formulations, penta- and octa-BDE, have been voluntarily phased out of US production. Deca-BDE continues to be produced. Highly persistent in the environment, they are endocrine disruptors. PBDEs are linked to liver cancer in laboratory animals, but are not classifiable as to carcinogenicity in people.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) form as a result of incomplete combustion of organic compounds: combustion from wood and fuel in residential heating, coal burners, automobiles, diesel-fueled engines, refuse fires, and grilled meats. They are found in coal tar and coal tar pitch, used for roofing and surface coatings. Exposure to these lipophilic substances results from inhalation of polluted air, wood smoke, and tobacco smoke, and ingestion of contaminated food and water. PAHs are reasonably anticipated to be a human carcinogen, according to the National Toxicology Program. IARC lists them as probably or possibly carcinogenic.

Vinyl Chloride is used by plastics companies in the production of PVCs and copolymers. Exposure is largely occupational, and results from inhalation, ingestion or dermal contact. Exposure is very low in the general population. Exposure to vinyl chloride is linked to the development of liver cancer and weakly associated with brain cancer. Vinyl chloride is a known human carcinogen.

### Free radicals

Free radicals are atoms or molecules containing an odd number of electrons, which results in an odd electron in the external orbit (figure 2). Free

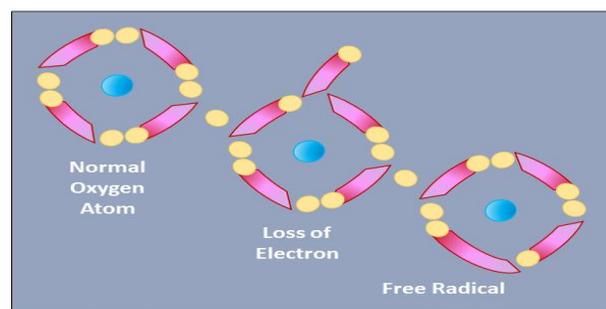


Figure 2. Free Radicals.

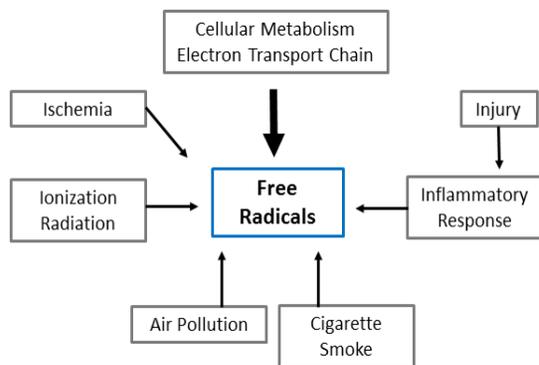


Figure 3. Exposure of Free Radicals in Environment

radicals frantically seek electrons in order to pair their unpaired electrons (Table 1). Free radicals cause a chain of reactions leading to consecutive oxidation (figure 3). These radicals attacks molecules like fat, proteins, DNA, sugar etc. the newly damaged molecule unfortunately becomes a free radicals and thus a chain reaction started (9)

**Free Radicals Cause Oxidative Stress**

- Superoxide anion radicals.
- Hydrogen peroxide.
- Hydroxyl radicals.
- Per-oxy radicals.
- Nitric oxide radicals.

**Formation of Free Radicals**

- Air pollution.
- Cigarette, pipe smoke.
- Injury & inflammatory response.
- Ionization radiation.
- Ischemia.

Table 1. Radicals and non-radicals

Radicals		Non-Radicals	
Hydroxyl	OH <sup>•</sup>	Peroxynitrite	ONOO <sup>-</sup>
Superoxide	O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Hypochloric acid	HOCl
Nitric Oxide	NO <sup>•</sup>	Hydrogen Peroxide	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Thyl	RS <sup>•</sup>	Singlet Oxygen	<sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ( <sup>-1</sup> O <sub>2</sub> )
Peroxyl	RO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Ozone	O <sub>3</sub>
Lipid peroxy	LOO <sup>•</sup>	Lipid peroxide	LOOH

- Cellular metabolism (electron transport chain).
- Exercise.
- Food additives.
- Food preparation.
- Ozone.
- Pesticides.
- Other pollution.
- Stress.
- Sunlight.
- X-rays.

**Effect of carcinogen by modulating enzyme activation**

**Effect on Carcinogenic Activation by Modulating Phase I Enzyme Activation.** The cytochrome p450 dependent mono oxygenase system was evolved as one of our primary defense against toxic chemical present in the environment. The multi-enzymes system functions as an adaptive response to environment challenge. In that exposure to specific agents induce the expression of cyp- 450 isozyme active in their metabolism (10). In most cases such metabolism lead to increase rate of detoxification, but in certain cases it can also lead to an increased rate of chemical activation of toxic products, as for example most of the chemical carcinogens in the environment induced tumors only after metabolic activation by CYP 450.

**Effect on Carcinogen Detoxification by Modulating Phase II Enzymes.** In addition to the phase II enzymes, mammalian system including humans possess a series of enzymes called phase II detoxification enzyme that are involved in the detoxification of activated carcinogens, thus preventing their binding to DNA and thus retard the initiation and progression of carcinogenesis. One unifying features of the metabolic activation of all procarcinogens is that the ultimate DNA reactive carcinogenic species is electrophilic. The electrophilic metabolites may themselves be reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS), hydroxyl radicals (OH), malondialdehyde (MDA) that directly or indirectly are involved in multistage carcinogenesis (11). They are mainly involved in DNA damage leading sometimes to mutation in tumor suppressor genes. They also act as initiator and / or promoter in carcinogenesis. Thus agents that can modulate body's antioxidant enzymes system (phase II enzymes) which can scavenge DNA reactive

intermediates constitute a plausible strategy for perturbing the entry stage of carcinogenesis.

### Oxidative stress

Oxidative stress is a leading cause to damage cells by oxidation. All forms of life maintain a reducing environment within their cells. The cellular redox environment is preserved by enzymes that maintain the reduced state through a constant input of metabolic energy. The effects of oxidative stress depend upon the size of changes, with a cell being able to overcome small perturbations and regain its original state (12). A particularly aspect of oxidative stress is the production of reactive oxygen species, which include free radicals and peroxides.

#### Pathways:

- Oxidative stress – DNA damage.
- Oxidative stress – GSH depletion.
- Oxidative stress – Direct damage to proteins – Rises in intracellular free  $\text{Ca}^{2+}$  - Cytoskeletal damage.
- Oxidative stress – Rises in intracellular free iron – Membrane per-oxidation and destruction – Injury to adjacent cells.
- Oxidative stress – Increased lipid per-oxidation – Increased damage to DNA, proteins, lipids.

#### ***Oxidative stress is imposed on cells as a result of one of three factors:***

- An increase in oxidant generation;
- A decrease in antioxidant protection;
- A failure to repair oxidative damage.

The determinants of oxidative stress are regulated by an individual's unique hereditary factors, as well as his/her environment and characteristic lifestyle. Unfortunately, under the present day life-style conditions many people run an abnormally high level of oxidative stress that could increase their probability of early incidence of decline in optimum body functions. Oxidative stress has been one of the prime factors in arsenic induced carcinogenicity. The reactive oxygen species (ROS) generated by arsenic causes damage to the genome, lipids and proteins in the vicinity. As III administration elevated both lipid peroxides and protein carbonyl level in the liver tissues of Swiss albino mice. ROS generation beyond the body's endogenous antioxidant balance caused a severe imbalance of the cellular antioxidant defense mechanism. This was evident from the depletion of

antioxidant enzymes like CAT, SOD GPx, GST, GR and non enzymatic antioxidants like GSH (13). Tea was used as antioxidant against these oxidative damages and it was interesting to note that both black tea and green tea was efficient in reducing the lipid peroxidation and formation of protein carbonyl groups induced by As III in Swiss albino mice. The induction of the antioxidants like SOD, CAT GPx, GST, GR and GSH provided protection against the oxidative stress created by As III in mice liver tissue. The chronic arsenic affected showed that curcumin intervention for three months at a dose of 500mg twice daily gave significant recovery of DNA damage as evident from the results of comet assay and fluorimetric analysis of DNA unwinding. HPLC analysis exhibited that there was an increase in the level of curcumin in the plasma after one month of curcumin intake which remained unaltered throughout the study period. This consistency of curcumin level might have provided protection against arsenic induced DNA damage. The antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-s-transferase and the non enzymatic antioxidant glutathione which were depleted with chronic arsenic exposure were elevated with curcumin administration. Apart from this, curcumin also showed enhancement of DNA repair capacity which was evident from the profiles of protein expression and genetic activity of the DNA repair genes (14). The enzymes related with break excision repair pathway were studied in detail. Poly ADP ribose polymerase and DNA ligase III which were down regulated with arsenic were up regulated after curcumin administration. XRCC 1, another DNA repair enzyme which showed positive correlation with arsenic exposure was inhibited with curcumin intervention. Constitutive levels of various PKC isoforms (PKC  $\alpha$ ,  $\beta$ II,  $\epsilon$ , and  $\delta$ ) were found high in tumor cells of human origin compared to normal lymphocytes isolated from healthy donor. However, expression of PKC  $\delta$ , which is a pro-apoptotic isoform, was not overexpressed in tumors. Expression of PKC  $\delta$  in PC-3 cell was very low. Telomerase, a reverse transcriptase, was found to get activated in all tumor cells. These observations clearly indicated that both PKC and telomerase can be considered as molecular markers of tumorigenesis, and their suppression will be a rational strategy in cancer therapy (15). Effect of some natural polyphenols like curcumin, EGCG, resveratrol, capsaicin, and isothiocyanates PEITC, sulphoraphane and sulphoraphene have been examined and the results indicated that these compounds efficiently modulated the expression levels of different PKC

isoforms as well as inhibited the activity of the enzyme telomerase (16). The concentration, in which these tumor markers were modulated, had been found to induce apoptosis in tumor cells, but not in normal lymphocytes. Although beneficial, it is accepted that oxygen, through ROS generation, can react with DNA, proteins and other cellular components and can become problematic (figure 4). The body is constantly trying to maintain homeostasis with the utilization of the immune system. The immune system is divided into two categories: adaptive and innate. In adaptive immunity, highly complex cells are deployed and recognize antigens on foreign cells. Innate immunity is much broader and is designed to recognize common features on foreign cells and ultimately release more expansive white blood cells such as macrophages and neutrophils. These cells are capable of releasing cytokines which are chemicals that signal other cells to a specific site of damage or injury and aid with the induction of inflammation. Typically most ROS have a short half-life and cause damage locally but for example H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> has a relatively long half-life and can travel long distances, causing DNA damage at distant sites. In addition, it may be pointed out that mostly hydroxyl radical (\*OH) and to a lesser extent the lower-energy singlet molecular oxygen (1O<sub>2</sub>) through specific targets (guanine, histidine, tryptophan, tyrosine) may react with DNA and proteins. In contrast O<sub>2</sub>\* is completely unreactive towards biomolecules

while H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requires the presence of reduced transition metals such as Fe<sup>2+</sup> to promote the Fenton type reaction (17)

### Xenobiotics

The principal classes of xenobiotics of medical relevance and drugs, chemical carcinogens, and various compounds that have found their way into our environment by one route or another, such as polychlorinated biphenyls and certain insecticides. Xenobiotics are chemical compounds foreign to the body, such as drugs, food additives, and environmental pollutants; more than 200,000 have been identified.

Xenobiotics are metabolized in two phases. The major reaction of phase 1 is hydroxylation catalyzed by a variety of monooxygenases, also known as cytochrome P450s. In phase 2, the hydroxylated species are conjugated with a variety of hydrophilic compounds such as glucuronic acid, sulfate or glutathione. The combined operation of these two phases renders lipophilic compounds into water soluble compounds that can be eliminated from the body (18). Cytochrome P450s catalyze reactions that introduce one atom oxygen derived from molecular oxygen into the substrate, yielding a hydroxylated product. NADPH and NADPH – cytochrome P450 reductase are involved in the complex reaction

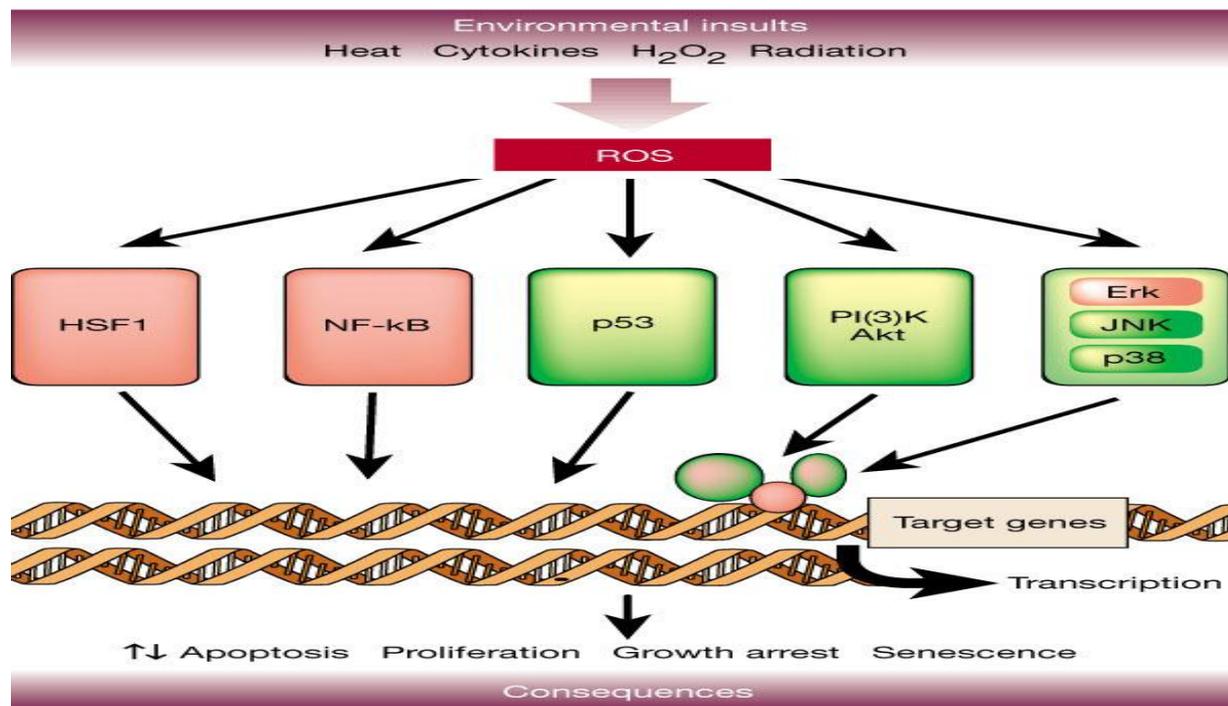


Figure 4. Apoptosis & oxidative stress

mechanism (figure 5). All cytochrome P450s are hemoproteins and generally have a wide substrate specificity, acting on many exogenous and endogenous substrates. They represent the most versatile biocatalyst known. Members of II families of cytochrome P450 are found in human tissue. Cytochrome P450s are generally located in the endoplasmic reticulum of cells and are particularly enriched in liver. Many cytochrome P450s are inducible. This has important implications in phenomena such drug interaction (19).

### Conclusion

Exogenous sources include exposure to cigarette smoke, environmental pollutants such as emission from automobiles and industries, consumption of alcohol in excess, asbestos, and exposure to ionizing radiation, and bacterial, fungal or viral infections. Free radicals are generated during normal metabolism and exposure to environmental insults such as infections agents, pollution, UV light, radiation and so on. These are highly reactive species capable of wide spread, indiscriminate oxidation and per-oxidation of proteins, lipids and DNA which can lead to significant cellular damage and even tissue and/or organ failure. When these harmful free radicals cause damage to vital proteins, lipids and DNA (20).

Oxidative stress can damage many biological molecules, indeed, proteins and DNA are obtain more significant targets of injury than are lipid and lipid peroxidation often occurs late been injury process. The disorders in lipid organization of biological membranes result in alterations in the activity of a number of membrane bound enzymes. Induction of apoptosis is evident from the release of mitochondrial cytochrome c to the cytosol and also by the induction of caspase 3 and 8. Based on these observations, ability of natural compounds in potentiating the efficacy of antitumor drugs in tumor cells was investigated. Results as obtained from MTT assay demonstrated that compounds especially curcumin, EGCG, PEITC, sulphoraphane and sulphoraphene were effective in reducing dose levels of chemotherapeutic drugs like adriamycin and etoposide when tumor cells were treated with these natural compounds before or during treatment with adriamycin etoposide. Mitochondrial cytochrome P450s also exist and are involved in cholesterol and steroid biosynthesis. They use a non heme iron containing sulfur protein, adrenodoxin, not required by microsomal isoforms. Cytochrome P450s, because of their catalytic activities, play major roles in the reactions of cells to chemical compounds and in chemical carcinogenesis (21). Phase 2 reactions are catalyzed by enzymes such as glucuronosyl transferases, sulfotrans ferases and

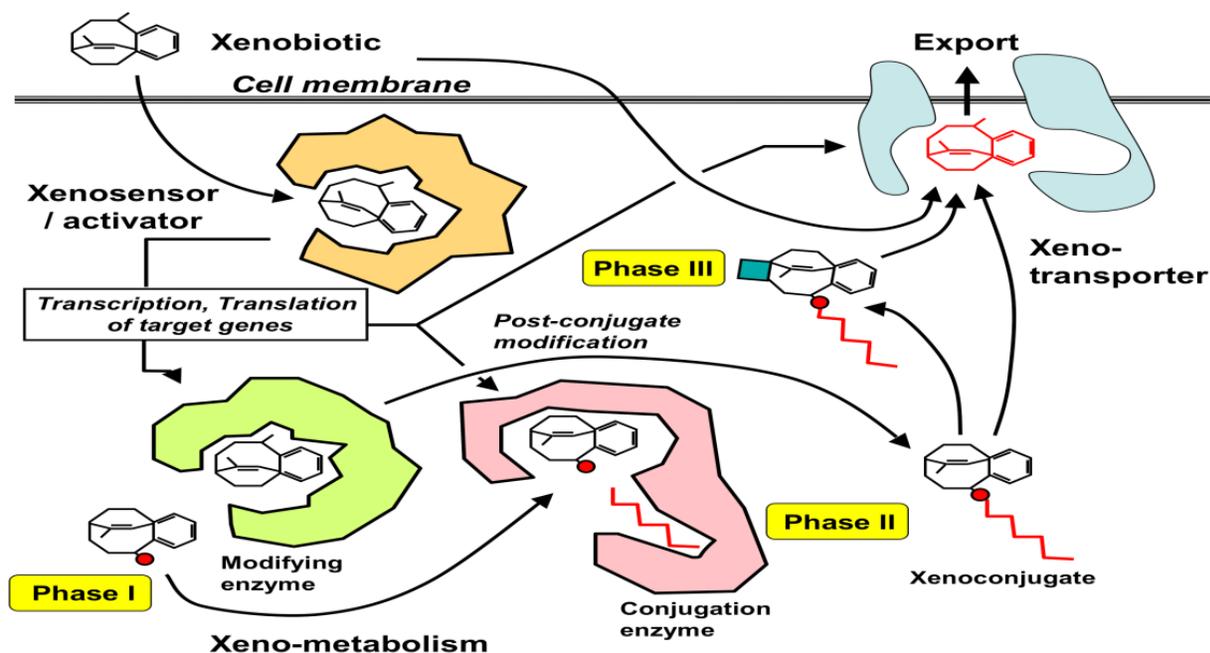


Figure 5. Xenobiotics mechanism

glutathione S – transferases, using UDP – glucuronic acid, PAPS (active sulfate), and glutathione, as donors. Glutathione not only plays an important role in phase 2 reactions but is also intracellular reducing agent and

is involved in the transport of certain amino acids into cells.

## References

1. Saha D, Hait M. An Ontological design: Two stage mouse skin carcinogenesis induced by DMBA and promoted by croton oil. *Asian J Res Pharm Sci.* 2012; 2: 1-3. [[Google Scholar](#)].
2. Saha D, Maity T, Jana M, Mandal S. Cancer treatment strategy: an overview. *Asian J Pharm Tech.* 2011; 1: 28-33. [[Google Scholar](#)].
3. Saha D, Tamrakar A, Jana M, Mandal S. Skin cancer: dance of death. *Asian J Pharm Res.* 2011; 1: 34-6. [[Google Scholar](#)].
4. Weiderpass E, Pukkala E, Kauppinen T, Mutanen P, Paakkulainen H, Vasama-Neuvonen K, Boffetta P, Partanen T. Breast cancer and occupational exposures in women in Finland. *Am J Ind Med.* 1999; 36: 48-53. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
5. Woods JS, Polissar L, Severson RK, Heuser LS, Kulander BG. Soft tissue sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in relation to phenoxyherbicide and chlorinated phenol exposure in western Washington. *J Natl Cancer Inst.* 1987; 78:899-910. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
6. Garabrant DH, Held J, Langholz B, Peters JM, Mack TM. DDT and related compounds and risk of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1992; 84: 764-71. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
7. Brown LM, Blair A, Gibson R, Everett GD, Cantor KP, Schuman LM, Burmeister LF, Var Lier SF, Dick F. Pesticide exposures and other agricultural risk factors for leukaemia among men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res.* 1990; 50: 1685-91. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
8. Saha D, Mridha D, Mondal S, Jana M, Kayal S. Organoselenium as a cancer chemopreventive agent against carcinogenesis. *Res J Pharm and Tech.* 2011; 4: 367-8. [[Google Scholar](#)].
9. Feychting M, Plato N, Nise G, Ahlbom A. Paternal occupational exposures and childhood cancer. *Environ Health Perspect.* 2001; 109:193-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
10. Saha D, Tamrakar A. Xenobiotics, oxidative stress, free radicals vs. antioxidants: dance of death to heaven's life. *Asian J Res Pharm Sci.* 2011; 1: 36-8. [[Google Scholar](#)].
11. Saha D, Paul S, Hosen SMZ, Emran TB, Rahim ZB. Role of chemoprevention in cancers. *Pharmacology Online.* 2012; 2: 29-35.
12. Flodin U, Fredriesson M, Persson B, Axelson O. Chronic lymphatic leukemia and engine exhausts, Fresh wood and DDT: a case referent study. *Br J Ind Med.* 1988; 45:33-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
13. Saha D, Mridha D, Beura S. Nano selenium: potential boon and novel approaches for cancer chemoprevention. *Res J. Pharmacology and Pharmacodynamics.* 2011; 3: 15-6. [[Google Scholar](#)].
14. Saha D, Nath AK, Uddin MZ, Dutta M. Cancer chemoprevention: potential boon for cancer biology. *J Dhaka International University.* 2011; 3: 140-5.
15. Saxena SP, Khare C, Farooq A, Murugesan K, Buckshee K, Chandra J. DDT and its metabolites in leiomyomatous and normal human uterine tissue. *Arch Toxicol.* 1987; 59: 453-5. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
16. Wassermann M, Nogueira DP, Tomatis L, Mirra AP, Shibata H, Arie G, Cucos S, Wassermann D. Organochlorine compounds in neoplastic and adjacent apparently normal breast tissue. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1976; 15:478-84. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
17. Kryston TB, Georgiev AB, Pissis P, Georgakilas AG. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research.* 2011; 711:193-201. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
18. Saha D, Hosen SMZ, Paul S. "glimpse of cancer chemoprevention". 2012. Published by: LAP Lambert Academic Publishing, Germany. pp: 260.
19. Schwartz J. Air pollution and daily mortality: a review and meta-analysis. *Environ Rev.* 1994; 64:36-52. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
20. Pearce N. Traditional epidemiology, modern epidemiology and public health. *Am J Public Health.* 1996; 86: 678-83. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
21. McMichael AJ. The health of persons, populations and planet: epidemiology comes full circle. *Epidemiology.* 1995; 6: 633-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

**How cite this article:** Saha D. Role of Free Radicals, Oxidative Stress and Xenobiotics in Carcinogenesis by Environmental Pollutants. *Avan Biomed* 2014; 3: 84-92.

## Leiomioma perianal. Reporte de un caso (Perianal leiomyoma. A case report)

Yorlenis C Uzcátegui R<sup>1</sup>✉, Ángel A Rodríguez U<sup>1</sup>; Luigi R Flores<sup>1</sup>; Rafael E Colina S<sup>1</sup>, Hansely Arcos O<sup>1</sup>, Gery Ruiz C<sup>1</sup>, Henry Ramírez<sup>2</sup>, Humberto Ruz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Unidad Académica de Anatomía Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida Venezuela. <sup>2</sup> Servicio de Urología, Hospital II Doctor Tulio Carnevali Salvatierra, Mérida, Venezuela. <sup>3</sup> Servicio de Cirugía General, Hospital II Doctor Tulio Carnevali Salvatierra, Mérida, Venezuela

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 5 de Noviembre de 2013. Aceptado: 11 de Abril de 2014.

### Resumen (español)

Los leiomiomas perianales son tumoraciones derivadas de células mesenquimales distribuidas por todo el cuerpo. Histológicamente se han clasificado en tres subtipos: vascular, no vascular y epiteloide. El subtipo vascular puede ser sólido, cavernoso o venoso. Los leiomiomas son raros en adultos, con incidencia de 0,1 %, generalmente se presentan entre la cuarta a sexta década de la vida con predominio en mujeres en caso de ser benignos. La forma de presentación más frecuente es un nódulo palpable, próximo al ano e indoloro. El diagnóstico se realiza según criterios histológicos e inmunohistoquímicos, además son útiles la ecografía endoanal y RMN. La exéresis es la primera opción terapéutica. Se presenta caso de paciente femenino de 41 años de edad, quien consulta por presentar nódulo palpable perianal derecho, con dolor a la palpación, de ocho meses de evolución, con valores normales de marcadores tumorales, el ultrasonido revela a nivel perianal derecho imagen sólida, hipocrómica (con tejido lineal fibroso), mide 4.82x 6.7x 6.87cm, la RMN muestra lesión ocupante de espacio en la misma ubicación, Doppler Color sin vascularización. Se efectuó exéresis de leiomioma en fosa isquirorectal derecha de 4x6 cm. El estudio anatomopatológico reportó leiomioma perianal subtipo epitelial. En el presente estudio se reporta un caso muy poco frecuente de leiomioma perianal doloroso, exponiendo las características clínicas e histológicas del mismo

### Palabras clave (español)

*Leiomioma perianal, tumor perianal, tumor de recto.*

### Abstract (english)

Perianal leiomyomas are neoplasms arising from mesenchymal cells distributed throughout the body. Histologically have been classified into three subtypes: vascular, nonvascular and epithelioid. The vascular subtype may be solid, cavernous or venous. Leiomyomas are rare in adults, with an incidence of 0.1 %, usually within the fourth to sixth decade of life with female predominance if benign. The most frequent form of presentation is, near the anus and painless palpable nodule. The diagnosis is made by histologic and immunohistochemical criteria also are useful endoanal ultrasound and MRI. The resection is the first treatment option. Case of female patient aged 41 , who consulted for perianal nodule palpable right , with tenderness , eight months duration , with normal levels of tumor markers is presented , ultrasound reveals perianal solid right image hypochromic ( linear fibrous tissue) , measured 4.82x 6.7x 6.87cm , MRI shows space occupying lesion in the same location , without Color Doppler vascularity. Leiomyoma excision was performed in right ischiorectal fossa 4x6 cm. Histopathological study reported perianal leiomyoma epithelial In the present study a rare case of painful perianal leiomyoma is reported, explaining the clinical and histological characteristics

### Keywords (english)

*Perianal leiomyoma, perianal tumor, tumor of rectum.*

## Introducción

El leiomioma es un tumor benigno formado principalmente por haces desordenados de músculo liso, con fibras morfológicamente más grandes y abundante cromatina, revestido por tejido conectivo sano. Muy frecuente en útero y menos frecuente en tubo digestivo y partes blandas (1). Respecto al recto, se considera que solo 1 por cada 2.000 tumores corresponden de este tipo (2). El 50% de las lesiones son de localización intraluminal en el recto, el 30% extrarrectales, el 10% intra y extraluminales, y el 10% restante intramurales (3). La incidencia máxima es entre la 4ª y la 6ª década de la vida, siendo la distribución por géneros semejante (2,); con predominio en mujeres en caso de ser benignos, aproximadamente el 63,9% (4-5). La forma de presentación más frecuente es un nódulo palpable próximo al ano indoloro; aunque el estreñimiento o la hemorragia también se observan en estos pacientes (3). En el examen histológico están constituidos por fascículos o bandas de células de músculo liso entrelazadas y dispuestas en palizadas. Dentro de la misma lesión se pueden observar áreas de edema con incremento en la celularidad, atipia celular y nuclear y figuras mitóticas escasas o ausentes, patrones de células epitelioides y de células claras. (6). Son diagnosticados dentro del primer año del inicio de los síntomas (2). A medida que se avanza en la búsqueda de los tumores del colon, se encuentran lesiones que no son tan comunes, pero que plantean algunas dudas diagnósticas y por lo tanto, hay que tenerlas en cuenta en la evaluación de los pacientes con sintomatología del colon o del recto es por ello la importancia del estudio de estos casos

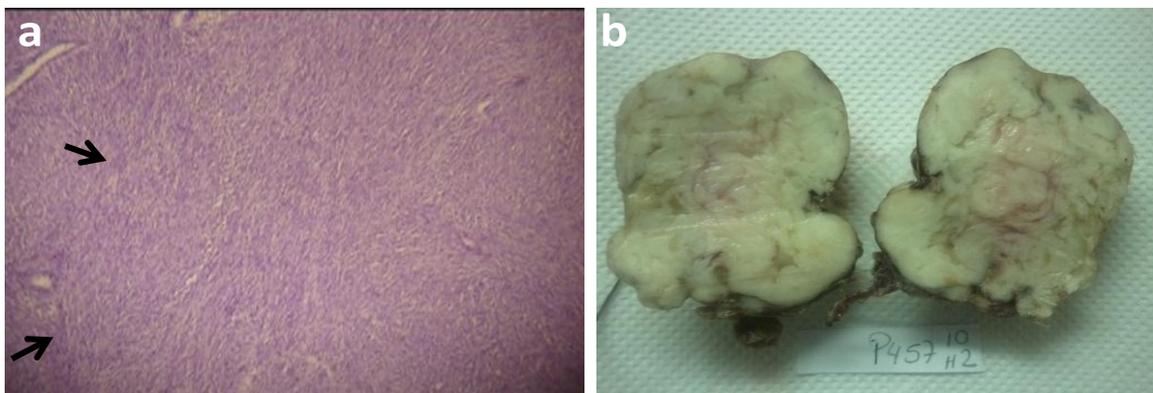
## Caso clínico

Presentamos el caso de una paciente femenina de 41 años de edad, con hábitos alcohólicos ocasionales y tabáquicos desde los 23 hasta los 37 años, la paciente acude a la consulta del servicio de cirugía del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales, por presentar tumoración en región perineal derecha con ocho meses de evolución que ha aumentado de tamaño y tiene como concomitante dolor. A la exploración clínica se encuentra en la inspección nódulo perianal derecho con bordes definidos, de aproximadamente 4cm x 6cm, que se extiende desde la fosa isquiorrectal derecha hasta la pared lateral de la vagina y recto derecho, de



**Figura 1.** Ultrasonido región rectal y ultrasonido región perianal (imagen que mide 4,82 x 6,70 x 6,87 cm, volumen de 116,15 ml).

consistencia dura, sin evidencia de signos de flogosis, dolorosa a la palpación. Se solicita Ultrasonido donde se evidencia imagen sólida hipoeoica (con tejido lineal fibroso) que hace contigüidad con región posterior y anterior de vagina y labios mayores a predominio derecho, bordes definidos circulares, mide 4,82 x 6,70 x 6,87 cm y presenta un volumen de 116,15 ml. (Fig. 1). Doppler negativo de enfermedad a precisar, la RMN de pelvis demuestra lesión ocupante de espacio a nivel de fosa isquiorrectal derecha en intimo contacto con la pared lateral derecha de la vagina y recto así como con el músculo elevador del ano, imagen sólida o quística con líquido muy espeso, con un diámetro cefalocaudal de 5,6 cm, eje transversal de 4,5 cm, eje anteroposterior de 6,3 cm y no se evidencian cambios inflamatorios. Marcadores tumorales CEA: 0,4 ng/ml (VN: <0,5 ng/ml), AFP: 0,2 ng/ml (VN: <10 ng/ml), CA-19:12,8 ng/ml (VN: <37 U/ml), CA-125:17,1 ng/dl (VN: <35 U/ml). En este caso determinado por la presencia de características clínicas e imagenológicas de la masa, especialmente por su localización extramural e independencia de la pared rectal, se efectuó una intervención quirúrgica, donde se realizó un abordaje perineal con incisión pararrectal derecha vertical en el espacio isquiorrectal, efectuándose exéresis de tumoración irregular adyacente a pared lateral derecha de la vagina y recto, obteniendo como muestras para el estudio anatomopatológico la tumoración y tejido blando de los bordes de la lesión, el cual reportó biopsia de tumoración irregular de 7,2 x 4,6 x 2,6 cm, color pardo claro, aspecto fibroadiposo de consistencia firme (Fig. 2a). La biopsia de partes blandas muestra fragmento irregular que mide 1,2 x 0,7 cm de color pardo claro, aspecto fibroadiposo de consistencia firme.



**Figura 2.** 2a. La biopsia del tumor en la región perianal, muestra lesión encapsulada de estirpe epitelial con células musculares lisas ahusadas, dispuestas en haces o fascículos en diferentes direcciones. 2b Tumor de región perianal irregular que mide 7,7x4.6x26cm de color pardo claro, aspecto fibroso.

Los cortes evaluados muestran lesión encapsulada de estirpe epitelial con células musculares lisas ahusadas dispuestas en haces o fascículos en diferentes direcciones, núcleo de cromatina densa y homogénea, un patrón arremolinado esteriforme en área de lesión. El estroma es vascularizado con escaso infiltrado de tipo crónico, áreas de colagenización (Fig. 2b), lo cual nos puede orientar a que el leiomioma tuvo un probable origen en la pared del recto, en el material evaluado no se observa criterio de malignidad, lesión benigna de estirpe mesenquimática de células musculares lisas. En la biopsia de partes blandas se halló tejido adiposo con hemorragias recientes

### Discusión

Los leiomiomas de localización anorrectal son tumores infrecuentes que se originan en la pared del recto, en el músculo liso de la vagina o a partir del plano muscular del tabique rectovaginal, además de la localización su vascularización determina la naturaleza de los signos y síntomas que presentan, ya sea dolor anal, perineal, cambios en el hábito intestinal, tenesmo, prurito, dispareunia, masa palpable y sangrado (3). El diagnóstico se realiza mediante el estudio macroscópico e histopatológico de la pieza quirúrgica; las biopsias que se realizan antes de la cirugía son de poca utilidad (sólo se correlacionan en un 20%) (7), La forma más frecuente de presentación es una masa próxima al ano e indolora (8). Macroscópicamente, el leiomioma aparece como un tumor sólido, de consistencia elástica por estar formado de músculo y colágeno, bien delimitado, de aspecto fascicular y color blanco-nacarado, blanco-

grisáceo o rojizo al corte, dependiendo de la vascularización que presente permanecen localizados en la pared del intestino o abordar hacia el exterior rechazando las estructuras perirrectales, puede estar recubierto por mucosa ulcerada o no ulcerada (9).

Histológicamente, están constituidos por células musculares lisas maduras con abundante citoplasma eosinófilo, organizadas en haces entrelazados carentes de atipia y necrosis, y con leve actividad mitótica (< 1 mitosis/50 campos de alta potencia (7). La modalidad más útil para la detección de leiomiomas son la ecografía, tomografía computarizada y resonancia magnética. Sin embargo, algunos leiomioma pueden simular otro resultado (10). La ecografía endoanal junto a la RNM evalúan las características de la lesión y su relación con el complejo esfinteriano anal (11).

En este caso se realizó el diagnóstico en base a la clínica posteriormente con la ecografía y resonancia que permitió determinar la extensión de la lesión y características.

Los leiomiomas constituyen el 4% aproximadamente de los tumores de partes blandas(7)entre los tumores benignos a nivel de recto y ano, los pólipos epiteliales son los más frecuentes como el adenoma tubular y el vellosos. Los lipomas rectales se sitúan en la submucosa y proyectándose en la luz del recto a manera de pólipos sésiles pudiendo en ocasiones ulcerar la mucosa. Los hemangiomas son excepcionales pudiendo ser pequeños en forma de nódulos, extenderse por todas las capas rectales; su clínica es la hemorragia siendo difícil a veces la localización de la tumoración si es pequeña ya que se puede circunscribir a la mucosa y submucosa (12). El principal diagnóstico diferencial del leiomioma

pararrectal es el leiomioma, que también se ha descrito a nivel pararrectal, y los tumores estromales gastrointestinales (GIST). El leiomioma presenta características microscópicas e histopatológicas que permiten un diagnóstico diferencial en ocasiones límite. Microscópicamente, son lesiones de rápido crecimiento que presentan en su sección áreas de necrosis y hemorragia, junto a unos límites poco definidos. Desde el punto de vista histopatológico, se observa una mayor densidad de células fusiformes con núcleos atípicos y pleomórficos, patrón estoriforme, con áreas de necrosis coagulativa y sobre todo una elevada actividad proliferativa; éste es un elemento fundamental en el diagnóstico diferencial entre lesiones border line. Los GIST se caracterizan por dar una tinción inmunohistoquímica positiva para CD117, CD34 y ser negativos para actina y desmina. El riesgo de recidiva se establece sobre todo en función del tamaño tumoral y del índice mitótico (13).

En cuanto al tratamiento, la resección quirúrgica completa del tumor es la elección. Los leiomiomas de localización intrarrectal de fácil acceso pueden resecarse por vía transanal, la resección anterior baja o la amputación abdominoperineal deberán reservarse para aquellos casos en los que el tamaño o la afectación de la pared no permiten una resección local. Deberá plantearse otro abordaje como el transperitoneal, el pararrectal o el trasvaginal cuando sea de localización extrarrectal (14). En otros casos, de acuerdo a la extensión de la lesión, el compromiso de la pared rectal y la sospecha de malignidad puede ser necesaria una resección anterior, o anterior baja de recto, o una resección abdominoperineal (3). En el caso presentado determinada por la presencia de características clínicas e imagenológicas de la masa, especialmente por su

localización extramural y tamaño, se efectuó exéresis de tumoración irregular en fosa isquiorectal derecha, a través de un abordaje pararrectal, como la indicación más idónea de acuerdo con la revisión de la literatura.

La exéresis debe garantizar la eliminación completa del tumor ya que la recurrencia local de los leiomiomas de localización anorrectal, representa un gran problema pues aproximadamente 40% de ellos recurre después de una resección local y en un 10% lo hace como leiomiomas lo cual parece estar en relación con resecciones incompletas o un tamaño no superior a los 5 cm. (14). El leiomioma se origina en las mismas áreas que el leiomioma, siendo clínicamente imposibles de distinguir los grandes leiomiomas de los leiomiomas, mediante la TAC es difícil diferenciar un leiomioma de un leiomioma (9,12). Después de una escisión transanal, pararrectal o transvaginal, la recurrencia con transformación maligna se ha descrito en el rango de 9 meses a 9,5 años (3). Por lo tanto el seguimiento es necesario, ya que las recurrencias a largo plazo parecen ser también posible en los casos de lesiones de bajo grado (15), el comportamiento biológico también varía con la localización, los tumores de colon generalmente son menos agresivos en comparación con los de recto ya que estos últimos manifiestan mayor tasa de recurrencia y difusión, incluso después de la resección amplia con fines curativos (3). El caso expuesto debido a las dimensiones de la masa tumoral, amerita seguimiento postoperatorio en un periodo de 8 meses, no se evidenció la capacidad proliferativa de este tipo de tumor

## Referencias

1. Chuaqui B, Duarte I, González S, Rosenberg H. Alteración del crecimiento y desarrollo. Manual de patología general. 2da edición. Santiago: Universitaria; 1999.
2. Kusminsky RE, Bailey W: Leiomyomas of the rectum and anal: report of six cases and review of the literature. Dis Colon Rectum 1977; 20: 580-99. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
3. Lombana LJ, Domínguez LC, Bermúdez C. Leiomioma extrarrectal gigante en una mujer con embarazo de 22 semanas. Col Gastroenterol. 2007; 22: 131-5. [\[Google Scholar\]](#)
4. Behranwala KA, Clark MA, Thomas JM. Soft-tissue tumours of the perineum. Eur J Surg Oncol. 2002; 28: 437-42. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
5. Grobmyer SR1, Clary B, Lewis JJ, Delgado R, Woodruff JM, Brennan MF. Adult perineal sarcomas. J Surg Oncol. 2001; 77: 101-4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
6. Paláu M, Sánchez Baracaldo LM, Rubio Romero JA, Castro de Pabón E. Tumores de músculo liso de vagina, presentación de dos casos y revisión de la literatura. Rev Col Obst Ginecol. 2001; 52: 1-4 [\[Google Scholar\]](#)
7. Bernal J, Tursi L, Landete F, Soriano D, Millán J, Ripoll F, Morera F, García M. Leiomioma perineal grande en gestante de 9 semanas. Progresos de Obstetricia y Ginecología. 2010; 53: 426-9. [\[Google Scholar\]](#)
8. Brox-Jiménez A, Díaz-Gómez D, Martínez-García P, Parra-Membrives P. Perineal leiomyoma. Cir Esp. 2007; 82:53-4. [\[PubMed\]](#)
9. Cheong MS, Koo DH, Kim IS, Moon KC, Ku JH. Concurrent Multilocular Cystic Renal Cell Carcinoma and Leiomyoma in

- the Same Kidney: Previously Unreported Association. Case Rep Oncol. 2010; 3: 218–22. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
10. Koc O, Sengul N, Gurel S. Perineal leiomyoma mimicking complex Bartholin mass. Int Urogynecol J. 2010; 21: 495-7. [\[PubMed\]](#)
11. Salvans Ruiz S, Gimeno Beltrán J, Parés D. Perianal leiomyoma. Rev Esp Enferm Dig. 2009; 101: 209-11. [\[PubMed\]](#)
12. Clemente Ramos LM, Candia Fernández A, Allona Almagro A. Symptomatic leiomyoma of the kidney: renal mass with difficult preoperative diagnosis. Actas Urol Esp. 2003; 27: 546-50. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
13. Poveda A, Artigas V, Casado A, Cervera J, García Del Muro X, Antonio López-Guerrero J, López-Pousa A, Maurel J, Ortega L, Ramos R, Romero I, Safont MJ, Martín J; Grupo Español de Investigación en Sarcomas (GEIS). Clinical practice guidelines in gastrointestinal stromal tumours (GEIS): update 2008. Cir Esp. 2008;84(Suppl 1): 1-20. [\[PubMed\]](#)
14. García-Santos EP, Ruescas-García FJ, Estaire-Gómez M, Martín-Fernández J, González-López L. Leiomioma anorrectal. Presentación de un caso y revisión de la literatura. Rev Gastroenterol Mex. 2014; 117:1-3. [\[PubMed\]](#)
15. Campos FG, Leite AF, Araújo SE, Atuí FC, Seid V, Habr-Gama A, Kiss DR, Gama-Rodrigues J. Anorrectal leiomyomas: report of two cases with different anatomical patterns and literature review. Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo. 2004; 59: 296-301. [\[PubMed\]](#)

**Como citar este artículo:** Uzcátegui-R YC, Rodríguez-U AA; Flores LR; Colina-S RE, Arcos-O A, Ruiz-C G, Ramírez H, Ruz H. Leiomioma perianal. Reporte de un caso. **Avan Biomed** 2014; 3: 93-7

## Lesión de paladar duro por uso crónico de cocaína. Reporte de un caso (Hard palate lesion due to chronic cocaine use. Report of a case)

José Luis D'Addino<sup>1</sup>✉, María Mercedes Pigni<sup>1</sup>, Silvia Venegas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cirugía General y Sección Cabeza y Cuello. Sanatorio La Torre y Hospital Municipal de Vicente López. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> Sección Estomatología, Hospital Municipal de Vicente López. Buenos Aires, Argentina.

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 27 de Marzo de 2014. Aceptado: 11 de Julio de 2014.

### Resumen (español)

El objetivo de este trabajo fue presentar una lesión inusual de gran tamaño comprometiendo paladar duro. Se describe su diagnóstico, manejo terapéutico y evolución. El paciente de raza blanca de 37 años, desde hace 12 meses presentaba lesión ulcerada con perforación de paladar duro. Dentro de los antecedentes personales se resalta el uso de cocaína desde hace 20 años, tabaquista desde hace 23 años. Como antecedentes familiares de importancia cabe citarse 2 casos de Hipertermia Maligna en familiares consanguíneos operados anteriormente. La biopsia de la lesión fue lesión benigna. Se intervino quirúrgicamente efectuándose un colgajo tipo Randal para el cierre del defecto y Rintala para la cobertura de la cara nasal del orificio. Se reforzó con malla de colágeno entre los dos colgajos. El último control a los 6 meses de seguimiento, mostraba buena evolución post quirúrgica aunque recayó en el consumo de cocaína y no regresó a la consulta. En conclusión, el uso crónico de cocaína suele destruir el tabique nasal y el paladar. La reparación resulta un desafío por lo dificultoso de la obtención de tejidos sumado a la escasa adhesión de los enfermos al abandono de la droga.

### Palabras clave (español)

*Lesion de paladar, cocaína.*

### Abstract (english)

In this work we report rare big hard palate destruction. We describe the diagnosis, the therapeutic management and its evolution. White male of 37 years old, who presented a 12 months perforated lesion in hard palate. 20 years of chronic snorting of cocaine and 23 years of tobacco smoke. The patient had a familiar background of Malignant Hyperthermia in 2 blood relatives operated before. The biopsy was a benign lesion. We underwent a Randal type flap to close the defect and a Rintala type flap to cover the nasal side of the fistula. It was firmed up with a resorbable collagen mesh between both flaps. The last control after 6 month of follow up showed a good result of the surgery but he relapsed with active addiction of cocaine and never consulted again. In conclusion, the chronic use of cocaine may develop destructive lesions of nose and palate. Repair is a challenge because of the difficulty in obtaining tissues in addition with the poor adherence of the patients to abandon the drug.

### Keywords (english)

*Hard palate destruction, cocaine.*

### Introducción

La inhalación de cocaína puede causar lesiones en la mucosa nasal. Cuando el consumo es crónico, puede producir destrucción osteocartilaginosa

extensa de la nariz, los senos paranasales y el paladar que simulan otras enfermedades asociadas con lesiones necrosantes de la línea media (1-4). El tratamiento de las lesiones incluye un manejo multidisciplinario y la terapéutica de la adicción hasta la cirugía reparadora (5-8).

✉ **Autor de correspondencia:** Dr. José Luis D'Addino. Adolfo Alsina 1991. Florida (1602). Buenos Aires. Argentina. Tel-fax: 54-11-4795-3730. Email: [jldaddino@gmail.com](mailto:jldaddino@gmail.com). Sanatorio La Torre Avenida San Martín 2142. Florida (1602). Buenos Aires. Argentina. Tel: 54-11-4797-9697. Hospital Municipal de Vicente López Hipólito Yrigoyen 1757. Florida (1602). Buenos Aires. Argentina. Tel: 54-11-4796-7200:

Hemos tratado un caso con una lesión mayor a 4 cm de diámetro con el uso de colgajos de mucosa reforzado con malla reabsorbible de colágeno con buenos resultados.

### Caso clínico

Paciente masculino de 37 años que es remitido al consultorio presentando una lesión ulcerada de 4 cm de diámetro en paladar duro, con destrucción mucosa y ósea (figura 1). Había sido tratado en varios centros con antibióticoterapia sin respuesta. Para evitar la regurgitación nasal y mejorar la rinolalia, se manejaba con una placa obturadora de paladar. Presentaba como antecedentes personales, tabaquismo de 23 años de evolución e inhalación de cocaína por 20 años; también refirió que en ocasiones se colocaba la cocaína directamente sobre el paladar. A nivel familiar, se citan 2 casos de Hipertermia Maligna en episodios de cirugías de dichos familiares, padre y hermano. No manifestaba otros antecedentes de importancia.

Inicialmente fue derivado al Psiquiatra con quién inició un tratamiento por su adicción que duró 14 meses. Bajo dicho tratamiento psicológico, dejó de consumir cocaína por lo que el gabinete psicológico propuso la resolución de la fisura palatina para mejorar su fonación, deglución y autoestima. Mientras se realizaba esta terapéutica se realizaron biopsias de la lesión para descartar otras patologías. Todas las biopsias resultaron proceso inflamatorio crónico. Se realizaron los estudios prequirúrgicos, que se encontraron dentro de parámetros normales. Se decidió una conducta quirúrgica con todos los recaudos para la prevención de la Hipertermia Maligna



Figura 1. Lesión de paladar.

con Dantrolene Sódico (DantrolenNR).

Bajo Anestesia general con intubación nasotraqueal, efectuamos una resección de los tejidos perilesionales y tallamos un colgajo mucoperióstico de paladar peri orificial, según técnica tipo Rintala (figura 2a) y luego tallamos otro colgajo mucoperióstico del sector palatino contralateral, con pedículo vascular en la arteria palatina posterior, tipo Randal (figura 2b). El colgajo peri orificial se desplazó y se rotó de manera que la mucosa palatina pasara a localizarse en el piso nasal, se fijó con puntos, posteriormente se reforzó con una malla de colágeno bovino que también fijamos (figura 2c) y todo el orificio se cubrió con el segundo colgajo en forma de raqueta, que una vez desplazado y rotado, también se fijó con puntos separados de material absorbible (figura 2d). La superficie cruenta ósea del lecho dador cerró por segunda intención en 15 días. La evolución fue favorable, no presentando morbilidad por el procedimiento (figura 2e). Continuó en buena evolución hasta el último control a los seis meses, luego recayó en el consumo de droga, negado por él pero manifestado por los familiares

### Discusión

Las lesiones destructivas de la línea media palatina, causadas por cocaína son raras (1,2). La cocaína es un derivado de la planta *Erythroxylon coca*, consumida comúnmente por sus efectos euforizantes y estimulantes. La incidencia del consumo de dicha droga se ha incrementado sustancialmente en los últimos años. El daño mucoso inducido por la cocaína es multifactorial, por un lado hay un efecto vasoconstrictor, que produce isquemia a nivel capilar primordialmente, la inhalación crónica causa isquemia mucopericondral que ocasiona cambios atróficos en la mucosa nasal (3). Con el uso progresivo se asocia destrucción osteocartilaginosa (4). Por otro lado, los efectos irritantes de los adulterantes de la droga, como manitol, dextrosa, entre otros, también tienen un efecto traumático sobre la mucosa por los cristales inhalados a alta velocidad y las infecciones nasales recurrentes. Todo esto contribuiría a la destrucción tisular tanto septal como palatina. Las lesiones pueden comprometer el septum nasal, paredes laterales de la nariz, paladar duro, vómer, etmoides, senos cribiformes, esfenoides y orbitas (9). Estas lesiones inicialmente isquémicas y luego necrotizantes deben diferenciarse de otras enfermedades necrosantes de la línea media como granulomatosis de Wegener, sarcoidosis, tuberculosis, rinoscleroma infeccioso y neoplasias como el Linfoma T/NK o el carcinoma

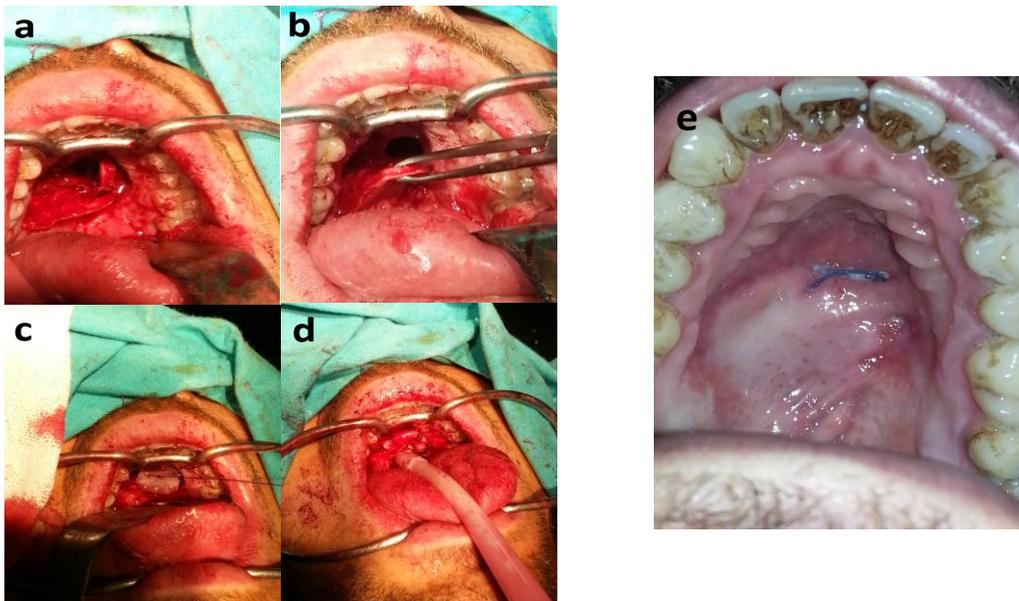
escamoso (1). La biopsia que realizamos de la lesión de nuestro paciente evidenció un proceso inflamatorio crónico benigno.

El enfermo que tratamos tenía una historia, inicialmente negada pero luego certificada por él mismo, de consumo de cocaína, durante 20 años. Refirió que en algunos períodos dejó de consumir pero siempre presentó recaída a la adicción y jamás hizo tratamiento para adicciones, situación habitual en estos enfermos (10). Bajo un tratamiento psicológico, dejó de consumir por lo que el gabinete psicológico propuso la resolución de la fisura palatina para mejorar su fonación, deglución y valoración personal.

Existen muchas técnicas descriptas en literatura para el cierre de los defectos orificiales palatinos; desde colgajos de vecindad hasta colgajos libres microvasculares. No parece haber unanimidad respecto a la técnica quirúrgica ideal. Los colgajos rotatorios de vecindad, o del Buccinador son accesibles y no tienen compromiso estético externo mientras que en los microvasculares, si bien proveen tejidos con buena vascularización, el defecto estético es mayor tanto por la necesidad de acceder a un paquete vascular de buen calibre como también por el prolongado tiempo operatorio. Otros colgajos utilizando la lengua permiten gran aporte de tejido pero requieren muchas veces, una segunda intervención. En el caso que hemos intervenido, optamos por colgajos mucoperiosticos, uno

periorificial tipo Rintala, y otro de desplazamiento lateral irrigado por la arteria palatina posterior, tipo Randal (5,6,11). Ambos colgajos fueron reforzados con una malla de colágeno intermedia. La colocación de membranas comenzó en 1982 con los trabajos de Nyman S. (7,8). Resultan útiles para el cierre de grandes defectos, conformando un armazón entre los tejidos blandos. Es vital la provisión de tejido bien vascularizado y la estimulación de las células circundantes para que migren proporcionando una adecuada estabilidad final.

Existen en el mercado diferentes tipos de membranas, ya sea reabsorbibles por ejemplo de colágeno bovino, membranas de ácido poliláctico o de ácido poliglicólico y también no reabsorbibles. Nosotros optamos por una malla reabsorbible de colágeno bovino, de uso habitual en estos procedimientos, que produce una escasa respuesta inflamatoria. Gottlow J. (12) realizó estudios comparando membranas reabsorbibles y no absorbibles y demostró una mayor inflamación con las no absorbibles además del trauma causado por la eventual remoción de la membrana. En su trabajo Dhalin C. establece condiciones para la predictibilidad de la formación de tejido óseo: a) presencia de células osteogénicas en la vecindad, b) adecuada vascularización, c) estabilidad mecánica, d) mantenimiento del espacio entra la membrana y el tejido óseo remanente y e) la membrana debe ser capaz de excluir células del tejido conectivo. (7, 13)



**Figura 2.** **2a.** Representa colgajo lateral tipo Rintala para reconstruir la cara nasal. **2b.** Muestra el colgajo desplazado tipo Randal para cubrir el defecto. **2c.** Fijación de la malla reabsorbible. **2d.** Sutura final del colgajo desplazado y **2e.** Imagen del Post operatorio de un mes.

El cierre de los defectos palatinos con colgajos de vecindad reforzados con mallas reabsorbibles, se ve beneficiado por el soporte que brindan éstas, sin el riesgo de tener que extraerlas como en ocasiones ocurre cuando son no reabsorbibles. Estos colgajos son de rápido tallado y fácilmente rotados a la posición deseada. El lecho dador, cicatriza por segunda intención completamente entre 15 y 20 días. La morbilidad de este tipo de colgajos es menor al 2% (11). El colgajo de lengua tiene la desventaja de dejar al paciente con la lengua parcialmente suturada al lecho receptor lo que implica dislalia, disfagia, mayor dolor e incomodidad en el post operatorio, incluso suma un riesgo en pacientes drogadictos ante la posibilidad de crisis de abstinencia. Comparando con los colgajos microvasculares, en estos existe el riesgo de necrosis por la posibilidad de trombosis de la microanastomosis y el resultado estético es peor. El colgajo del Buccinador asociado con otro colgajo para cubrir la cara nasal del defecto, resulta una opción a considerar, pero también hay que tener en cuenta el riesgo de lesión del conducto de Stenon (14).

No se presentó ninguna complicación anestésica relacionada con su antecedente de Hipertermia Maligna por lo que no se requirió el uso

del Dantrolene Sódico (15). Tampoco hubo morbilidad por el procedimiento quirúrgico.

Con posterioridad a un seguimiento de seis meses, se encontraba en buen estado pero desafortunadamente, abandonó el tratamiento de adicciones y recayó en el consumo de droga no regresando a la consulta.

Es conocido que los problemas relacionados con el abuso de cocaína son difíciles de tratar y muchos individuos adictos no aceptan ayuda o bien consideran que el tratamiento para su adicción no es necesario. En general, la recaída es algo común (6).

En conclusion, el consumo de cocaína en la población mundial se incrementa día a día por lo que las lesiones palatinas se harán más frecuentes. El tratamiento conlleva un manejo conjunto de la adicción y de la reconstrucción quirúrgica del defecto. En la actualidad hay varios tratamientos para reparar defectos severos de paladar, todos procuran restablecer la indemnidad palatina y la recuperación ósea. Creemos que la terapéutica instituida con colgajos de vecindad y malla reabsorbible ha sido satisfactoria no obstante queda latente la recaída en la drogadicción tan común en estos enfermos

## Referencias

- Bonner Osorio CB, Castillo López IY. Lesión destructiva de la línea media inducida por cocaína: comunicación de un caso. *An Orl Mex.* 2009;54:32-5. [[Google Scholar](#)]
- Padilla Rosas M, Jimenez Santos CI; García González CL. Perforación en bóveda palatina por consumo de cocaína. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006; 11: 153-6. [[Google Scholar](#)]
- Nastro Siniscalchi E, Gabriele G, Cascone P. Palatal fistula resulting from cocaine abuse: A case report. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012; 16: 280-2. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Tartaro G, Rauso R, Bux A, Santagata M, Colella G. An unusual oronasal fistula induced by prolonged cocaine snort. Case report and literature review. *Minerva Somatol.* 2008; 57: 203-10. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Recaman M, Bonet B, Leita A, Mesquita J. Reconstrucción del esfínter velofaríngeo en la fisura del paladar secundario: alternativa quirúrgica. *Cir Pediatr.* 2006; 19: 106-10. [[Google Scholar](#)]
- Di Cosola M, Turco M, Acero J, Navarro-Vila C, Cortelazzi R. Cocaine-related syndrome and palatal reconstruction: report of a series of cases. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 36: 721-7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Nyman S, Gottlow J, Lindhe J. The regenerative potencial of the periodontal ligament: A experimental study in the monkeys. *J Clin Periodontol.* 1982; 9: 257-65. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Blanco Pico A. Actualización en el uso de membranas reabsorbibles en implantes. Segundo accésit Premio "Gaceta Dental" Fin de Carrera 2007. *Gaceta Dental* 2008; 189: 86-108. [[Google Scholar](#)]
- Rubin K. The manifestation of cocaine-induced midline destructive lesion in bone tissue and its identification in human skeletal remains. *Forensic Sci Int.* 2013; 231: 408.e1-408.e11. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Sanchez Hervas E, Llorente del Pozo JM. Recaídas en la adicción a cocaína: una revisión. *Adicciones.* 2012; 24: 269-80. [[Google scholar](#)]
- Loré J. Cirugía de Cabeza y Cuello. Atlas. 3ª edición. Frydman J. Traductor. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana. 1990. p 441.
- Gottlow J. Guided tissue regeneration using bioresorbable and nonresorbable devices: Initial healing and long term results. *J. Periodontal.* 1996 (Supl 11); 64: 1157-65. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg.* 1988; 81: 672-6. [[PubMed](#)] [[Google Scolar](#)]
- González García R, Naval Gias L, Rodríguez Campo FJ, Escorial Hernandez V, Martos PL, Sastre Pérez J, Muñoz Guerra MF, Gil-Díez Usandizaga JL, Díaz González FJ. Colgajo miomucoso de buccinador en la reconstrucción de defectos del área máxilo facial. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac.* 2005; 27:197-205. [[Google Scholar](#)]
- Escobar Jaime D. Hipertermia Maligna. *Rev Med Clin Condes.* 2011; 22: 310-5. [[Google Scholar](#)]

**Como citar este artículo:** D'Addino JL, Pigni MM, Venegas S. Lesión de paladar duro por uso crónico de cocaína. Reporte de un caso. *Avan Biomed* 2014; 3: 98-101.

## Linfoma de células B de la zona marginal extraganglionar del tejido linfoide asociado a mucosa (linfoma MALT) de pulmón (Extranodal marginal zone B-cell lymphoma of pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma))

Carlos Vergara-Uzcategui<sup>1</sup>✉, Melizabeth Ruiz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Residente Asistencial del servicio de Medicina Interna. Hospital II Dr. Tulio Carnevalli Salvatierra IVSS Mérida.

<sup>2</sup> Especialista en Medicina Interna, Adjunto del servicio de Medicina Interna. Hospital II Dr. Tulio Carnevalli Salvatierra IVSS Mérida.

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 19 de Diciembre de 2013. Aceptado: 08 de Mayo de 2014.

### Resumen (español)

Los Linfomas Pulmonares Primarios son extremadamente raros (0,4% de los linfomas extraganglionares), y generalmente son de tejido linfoide asociado a mucosas (tipo MALT), con ocasionales linfomas de células grandes difusos. Los síntomas son inespecíficos, y casi la mitad de los pacientes son asintomáticos. Se presenta el caso de un paciente masculino de 56 años de edad, quien presentó durante 7 meses accesos diarios de tos seca, de predominio nocturno, asociados en el último mes a fiebre de 39°C, disnea a medianos esfuerzos y expectoración verdusca. Los exámenes de laboratorio fueron normales. La radiografía de tórax mostró el mediastino ensanchado, un proceso en lóbulo medio con efecto atelectásico, y un nódulo en hemitórax izquierdo. La tomografía computarizada (TC) torácica de alta resolución evidenció proceso alveolar derecho en lóbulo medio y un nódulo pulmonar izquierdo calcificado de tipo inespecífico. El estudio inmunohistoquímico de la biopsia pulmonar fue compatible con Linfoma de Células B de la zona marginal extraganglionar del tejido linfoide asociado a mucosa (Linfoma MALT de pulmón). La TC corporal y la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) evidenciaron importantes hallazgos complementarios para determinar la extensión de la enfermedad. El paciente se trató con quimioterapia y actualmente se encuentra en buenas condiciones, sin recidiva de la sintomatología. Dado lo infrecuente de la patología se presenta este caso y se hace una revisión de la literatura

### Palabras clave (español)

*Linfoma pulmonar primario, linfoma MALT, CT/PET, inmunohistoquímica.*

### Abstract (english)

Primary Pulmonary Lymphomas are extremely rare (0.4% of extranodal lymphomas), and are usually Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT), with occasional diffuse large cell lymphomas. The symptoms are nonspecific, and almost half of patients are asymptomatic. The case of a male patient aged 56, who presented hits daily for 7 months of dry cough, predominantly nocturnal, associated in the past month to 39 ° C fever, dyspnea on moderate exertion and greenish expectoration is presented. The laboratory tests were normal. Chest radiography showed widened mediastinum, a process in the middle lobe atelectasis effect and a nodule in the left hemithorax. Thoracic high resolution computed tomography (CT) demonstrated alveolar process right middle lobe and left lung nodule calcified nonspecific. Immunohistochemical study of lung biopsy was consistent with B-cell Lymphoma extranodal marginal zone of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma of the lung). Body CT and Positron Emission Tomography (PET) showed significant additional findings to determine the extent of the disease. The patient was treated with chemotherapy and is currently in good condition with no recurrence of symptoms. Because the infrequent of the disease, this case is presented and a review of the literature is made

### Keywords (english)

*Primary pulmonary lymphoma, MALT lymphoma, CT/PET, immunohistochemistry*

## Introducción

Los Linfomas Pulmonares Primarios son extremadamente raros (0,4% de la lista de linfomas extraganglionares), y generalmente en la actualidad son de tejido linfoide asociado a la mucosa (tipo MALT), con ocasionales linfomas de células grandes difusos. Se planteó la hipótesis de que la alta incidencia de linfomas tipo MALT en pulmón se deben principalmente a la estimulación antigénica crónica (con agentes etiológicos que van desde el tabaquismo, las enfermedades autoinmunes, las infecciones y la exposición ocupacional a sustancias irritantes) (1). En casos raros, un trastorno no neoplásico pulmonar linfoproliferativo como la neumonitis intersticial linfocítica puede convertirse en linfoma de células B, maligno, de bajo grado (2). El linfoma MALT pulmonar es un linfoma de células B de bajo grado que fue descrita por primera vez en 1983 por Isaacson y Wright. Representa sólo el 0,5-1,0% de los tumores malignos de pulmón y menos de 1,0% de todos los linfomas malignos. Sin embargo, constituye aproximadamente el 90% de todos los linfomas pulmonares primarios (3).

Los síntomas del linfoma MALT incluyen tos, disnea leve, dolor torácico y hemoptisis ocasional, sin embargo, todos los síntomas son inespecíficos, y casi la mitad de los pacientes son asintomáticos. Por lo tanto, es difícil diagnosticar la enfermedad basándose sólo síntomas (3). Debido a lo poco frecuente de esta patología en nuestro medio, presentamos el caso de masculino de 56 años y revisamos la literatura

## Caso clínico

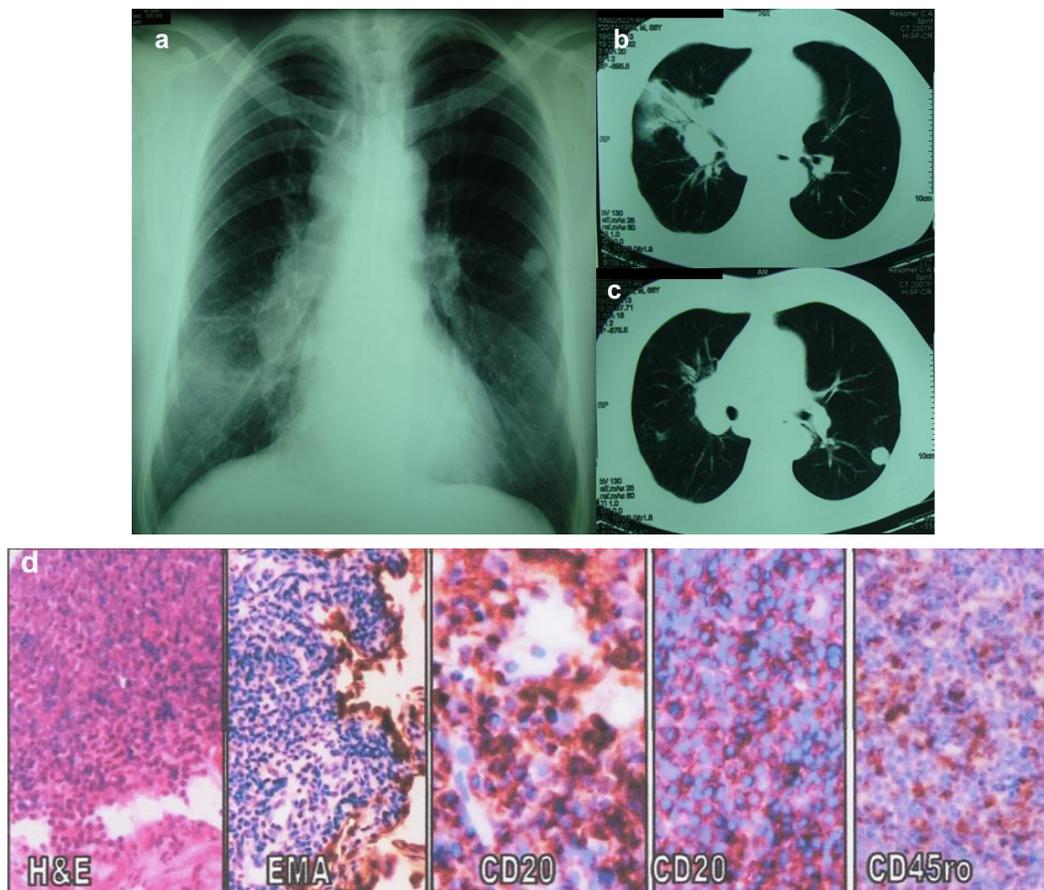
Paciente masculino de 56 años de edad, quien presentó 7 meses de evolución de accesos diarios de tos seca, sin expectoración, predominantemente en horas de la noche, y que en el último mes refiere exacerbación de los síntomas dado por alzas térmicas cuantificadas en 39°C, disnea a medianos esfuerzos y tos con expectoración verduzca. Como antecedentes personales Artritis Reumatoide tratada con Leflunomida y Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), e Hipertensión Arterial crónica controlada con Carvedilol. Antecedentes familiares padre, madre y hermanos vivos, aparentemente sanos. Hábitos psicobiológicos refiere exposición al humo de biomasa en la infancia, consumo de café 6 tazas diarias

desde la infancia, niega habito tabáquico, alcohólico, chimoico. Al examen físico luce en buenas condiciones generales, afebril, hidratado, taquipneico, tórax simétrico, hipoexpansible, murmullo vesicular disminuido en base derecha, con crepitantes basales bilaterales a predominio derecho.

Exámenes complementarios se muestran en la Tabla 1.

Otros estudios: 1) Espirometría normal con posible restricción. 2) Radiografía de tórax: mediastino ensanchado con imágenes sugestivas de Adenopatías o Timo; además de proceso en lóbulo medio con efecto atelectasico de Etiología a precisar (EAP): Lesión ocupante de espacio (LOE) vs. Neumonía; Nódulo en hemitorax izquierdo de EAP (figura 1a). 3) Tomografía computarizada torácica de alta resolución muestra proceso alveolar derecho en lóbulo medio (figura 1b), y nódulo pulmonar izquierdo calcificado de tipo inespecífico (figura 1c). 4) Fibrobroncoscopia se evidenció tumor de mediastino con componente parenquimatoso; Nódulo pulmonar izquierdo. En este procedimiento se realizó cepillados bronquiales y toma de biopsia.

El reporte histopatológico de biopsias realizadas a los tejidos enumerados a continuación reportó: 1A) Biopsia de Carina que divide el lóbulo inferior del lóbulo medio: Pared de bronquio con inflamación crónica inespecífica y focos de metaplasia epidermoide. 1B) Biopsia transbronquial del lóbulo medio obteniendo fragmento de pared de bronquio y pulmón: Bronquio: Inflamación crónica inespecífica, y Pulmón: Neoplasia maligna de probable estirpe epitelial con esbozo de estructuras glandulares (mucosas) acompañada de segmentos de células redondas pequeñas poco cohesivas (de difícil interpretación) cuyos hallazgos histológicos pueden corresponder a un adenocarcinoma de células mucosas (pequeñas). 1C) Biopsia de carina principal: Pared de bronquio con inflamación crónica, metaplasia epidermoide con atipias. En cuanto a los cepillados bronquiales realizados durante el procedimiento: 2A) Cepillado de lóbulo medio: Inflamación crónica, metaplasia epidermoide. 2B) Cepillado bronquio frente bronquio medio: Células epiteliales sugestivas de malignidad, probable adenocarcinoma. 2C) Cepillado de pirámides basales derechas: Nidos de células epiteliales con características de malignidad (sugestivas de adenocarcinoma mucinoso).



**Figura 1. 1a.** Radiografía de tórax: Proceso en lóbulo medio con efecto atelectasico; Nódulo en hemitorax izquierdo. **1b.** Tomografía computarizada torácica de alta resolución: Proceso alveolar derecho en lóbulo medio. **1c.** Nódulo pulmonar izquierdo calcificado de tipo inespecífico. **1d.** Inmunohistoquímica: Se observa inmunomarcaje con CD20 en los linfocitos neoplásicos con epiteliotropismo. Con CD45ro se observaron pequeños linfocitos T intertumORAles. EMA inmunomarcó el epitelio alveolar

La inmunohistoquímica realizada mediante la técnica de Avidina-3 Estreptavidina y la investigación de CD45, CD20, CD45ro, y Antígeno de Membrana Epitelial (EMA), evidenció inmunomarcaje con CD45 y CD20 en los linfocitos neoplásicos con epiteliotropismo. Con CD45ro se observaron pequeños linfocitos T intertumORAles, y EMA inmunomarcó el epitelio alveolar (figura 1d), siendo estos hallazgos compatibles con Linfoma de Células B de la zona marginal extraganglionar del tejido linfoide asociado a mucosa (Linfoma MALT de pulmón).

Se solicitó Tomografía Computada (CT) con Tomografía por Emisión de Positrones (PET) en cuya evaluación de la CT Corporal sin la administración de contraste se observó a nivel de tórax: Parénquima pulmonar que demuestra extensa lesión subpleural del lóbulo inferior con componente parahiliar derecha,

con la presencia de múltiples adenomegalias mediastinales globales, así como la presencia de aumento de volumen hiliar bilateral a predominio derecho. Existen lesiones nodulares basales bilaterales de contornos espiculados de 1cm y lesión nodular calcificada en lóbulo superior izquierdo de 1cm. No se aprecian masas adenopáticas a nivel del mediastino ni en regiones axilares. En región abdomenopélvica se observaron adenopatías inguinales bilaterales. El análisis de la PET Corporal tras la inyección de 150  $\mu$ Ci/kg de Fluor18 deoxyglucosa ([ $^{18}$ F]-FDG) muestra en región de cuello hipercaptación del radiotrazador metabólico FDG (Valores de Captación Estandarizados (SUV) máx. 4.3) a nivel supraclavicular bilateral. En tórax se evidencia extensa área de hipercaptación del radiotrazador metabólico FDG (SUV máx. 7.4) que se extiende hasta la región hiliar y parahiliar derecha y

Tabla 1. Exámenes complementarios.

<b>Leucocitos</b>	10.4 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	<b>TGO</b>	25 U/L	<b>Fosforo</b>	5.0 mg/dL
<b>Eritrocitos</b>	5.82 x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	<b>TGP</b>	62 U/L	<b>Cloro</b>	105.6 mg/dL
<b>Hemoglobina</b>	15.6 g/dL	<b>Bilirrubina Total</b>	0.9 mg/dL	<b>Sodio</b>	138.9 mmol/L
<b>Hematocrito</b>	48.6%	<b>Bilirrubina Directa</b>	0.2 mg/dL	<b>Potasio</b>	3.84 mmol/L
<b>VCM</b>	83.0 fL	<b>Bilirrubina Indirecta</b>	0.7 mg/dL	<b>Tiempo de protrombina</b>	13/13 segundos
<b>HCM</b>	26.9 pg	<b>Colesterol Total</b>	189 mg/dL	<b>Tiempo parcial de trombo-plastina</b>	32/32 segundos
<b>CHCM</b>	32.2%	<b>Triglicéridos</b>	265 mg/dL	<b>VDRL</b>	No reactivo
<b>Plaquetas</b>	442 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	<b>HDL colesterol</b>	46 mg/dL	<b>HIV-1 y HIV-2</b>	Negativo
<b>Neutrofilos</b>	71%	<b>LDL colesterol</b>	90.0 mg/dL	<b>Hepatitis C</b>	Negativo
<b>Linfocitos</b>	20%	<b>Proteínas Totales</b>	5.6 gr/dL	<b>Hepatitis B Core</b>	Negativo
<b>Monocitos</b>	05%	<b>Globulina 2.25 gr/dL</b>	Albumina 3.4 gr/dL	<b>Hepatitis B Antígeno de superficie</b>	Negativo
<b>Eosinofilos</b>	04%	<b>Acido Úrico</b>	4.3 mg/dl	<b>Titulo de Antiestreptolisina</b>	Negativo
<b>VSG 1 hora</b>	46mm	<b>LDH</b>	91 U/L	<b>Mycoplasma</b>	Negativo
<b>Proteína C Reactiva</b>	Positivo 1/32 diils	<b>Amilasa</b>	30 U/L	<b>Chlamydia</b>	Negativo
<b>Glicemia</b>	86 mg/dL	<b>Fosfatasa Alcalina</b>	40 U/L	<b>Antígeno prostático libre</b>	1.0 ng/dL
<b>Creatinina</b>	0.94 mg/dL	<b>Calcio</b>	9.00 mg/dL	<b>Antígeno prostático total</b>	Negativo
<b>Urea</b>	48 mg/dL				
<b>Cultivo y antibiograma de lavado bronquioalveolar</b>		Negativo hasta las 48 horas de incubación			
<b>Pruebas inmunológicas B2 Microglobulina</b>		4.00 mg/L (0,004 – 4.0 mg/L)			

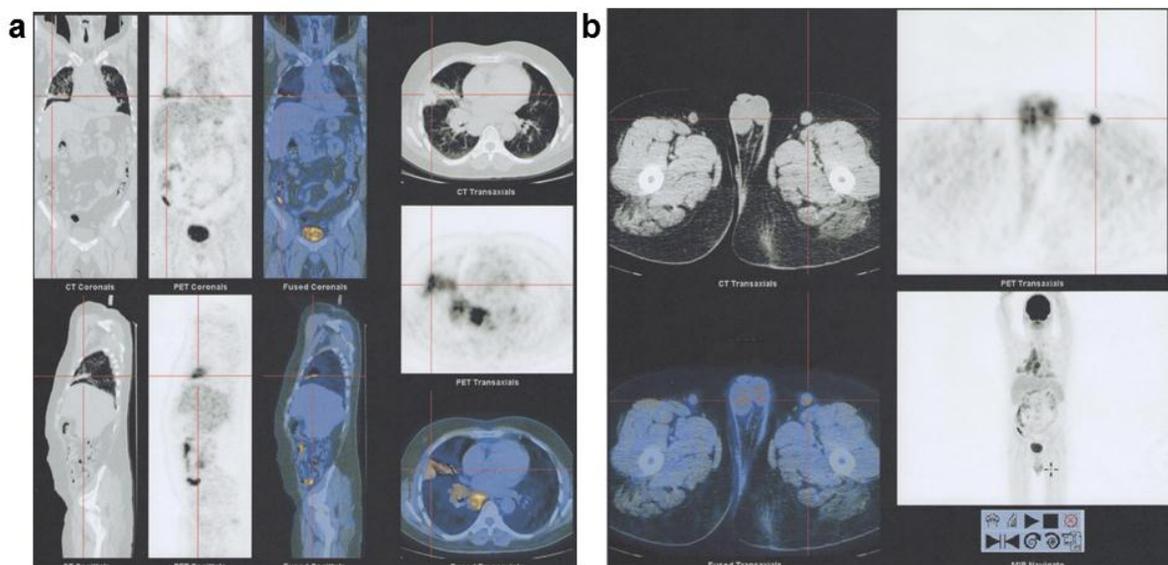
contacta con la pleura lateral, que estructuralmente se correlaciona con lesión subpleural que se extiende al lóbulo inferior ipsilateral y se evidencian áreas focales de hipercaptación del FDG (SUV máx. 2.6) en ambas bases pulmonares, que estructuralmente se correlacionan con lesiones nodulares metabólicamente activas. Adicionalmente se evidencia hipercaptación del FDG en todos los compartimientos mediastinales (SUV máx. 8.2) y ambos hilios pulmonares a predominio derecho (SUV máx. 6.8). Captaciones fisiológicas en miocardio (figura 2a). Pelvis: Áreas focales de hipercaptación del radiotrazador metabólico FDG (SUV máx. 4.2) a nivel inguinal bilateral a predominio izquierdo (figura 2b).

Aspirado de medula ósea: Medula ósea normocelular con celularidad de 40%. Relación Mieloide/Eritroide 3:2, serie eritroide presente con cambios megaloblásticos y serie granulocítica presente con arresto parcial de la maduración. Megacariocitos

presentes con algunas formas hipolobuladas. Hemosiderosis leve grado I. No se aprecia fibrosis

## Discusión

El término tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT) describe el tejido linfoide localizado en varios sitios del cuerpo, tales como el tracto gastrointestinal, tiroides, mama, pulmón, glándulas salivales, ojos y piel. Linfoma MALT del pulmón es un subconjunto de linfomas pulmonares primarios originado a partir del tejido linfoide señalado y es el más frecuente de éstos. Se observa afectación primaria del pulmón en torno al 0,4% de todos los linfomas extraganglionares (1). Una hipótesis atribuye la alta incidencia de linfomas de tipo MALT en los pulmones principalmente a la estimulación antigénica por tabaquismo, enfermedades autoinmunes,



**Figura 2.** CT/PET: **2a.** Tórax: Se evidencia extensa área de hipercaptación del radiotrazador metabólico FDG que se extiende hasta la región hilar y parahilar derecha y contacta con la pleura lateral. **2b** Pelvis: Áreas focales de hipercaptación del radiotrazador metabólico FDG a nivel inguinal bilateral a predominio izquierdo.

exposición ocupacional a sustancias irritantes e infecciones. Algunos antígenos identificados incluyen a *Helicobacter pylori* en el linfoma MALT gástrico, *Borrelia afzelii* en linfoma de células B cutáneo, *Chlamydia psittaci* en linfoma ocular anexa, y *Campylobacter jejuni* en enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado (1,4); este paciente es portador de artritis reumatoide tratada con inmunodepresores y estuvo expuesto en la infancia a estimulación antigénica causada por el humo de biomasa, los cuales son antecedentes que se consideran como posibles causantes de este tipo de linfoma pulmonar. La translocación t (11; 18) (q21; q21), lo que resulta en una fusión de la región en el cromosoma 11q21 cIAP2 con el gen en el cromosoma 18q21 MALT1, está documentada en más de un tercio de los casos (5).

Pineda y colaboradores en 2009 analizaron las características de 76 pacientes venezolanos con linfomas MALT encontrando que las localizaciones más frecuentes fueron estómago (46%), órbita y conjuntiva (10.5%) y pulmones (9.2%). En Venezuela, en el año 2011 se registraron 484 muertes por LNH de otros tipos y no especificados, englobando en este grupo al linfoma MALT (7). En Latinoamérica han sido pocas las publicaciones referidas a casos de pacientes con esta patología en particular. En Brasil, Steinhauer et al. Reportaron el caso de un paciente de 38 años con linfoma MALT y VIH positivo que se presentó con un infiltrado micronodular difuso en la radiografía; y

también se reportó el caso de un paciente masculino de 61 años quien se rehusó a recibir tratamiento para linfoma asociado al tejido linfóide bronquial debido a infiltración pulmonar masiva sin diseminación a otros órganos y falleció 2 años posterior al diagnóstico (9).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) divide a la familia de linfoma de la zona marginal (LZM) de células B en tres subtipos:

- a) linfoma de la zona marginal de células B extraganglionar (linfoma MALT),
- b) linfoma de la zona marginal de células B esplénico (con o sin linfocitos vellosos en sangre periférica),
- c) linfoma de la zona marginal de células B ganglionar (con o sin células monocitoides). Si bien hay sobreposición morfológica entre estas tres subvariedades, las diferencias clínicas y genéticas/moleculares entre ellas, justifican conservar su individualidad diagnóstica (10).

El linfoma MALT de pulmón afecta frecuentemente adultos de mediana edad hasta adultos mayores, sin preferencia de género y su presentación no es patognomónica. Las características de nuestro caso se corresponde con el estudio de Pineda (6) ya que nuestro paciente de 56 años de edad se presentó con sintomatología respiratoria inespecífica, que se exacerba y se asemeja a un proceso infeccioso respiratorio bajo.

Estos linfomas pueden asociarse al síndrome de Sjögren, el SIDA, disgammaglobulinemia,

enfermedad vascular del colágeno y los depósitos de amiloide. En este caso, no había ninguno de estos antecedentes patológicos. De las enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide y la granulomatosis de Wegener son más propensos a causar quistes de pared delgada, los cuales no se presentaron en nuestro paciente. En la artritis reumatoide, los nódulos necrobióticos usualmente comienzan como estructuras de paredes gruesas y pierden densidad a medida que el trastorno mejora. En la granulomatosis de Wegener los nódulos pulmonares pueden cavitarse y hacerse de paredes delgadas y los síntomas desaparecer. En el lupus eritematoso sistémico se observan infartos debido a tromboembolismo venoso o vasculitis que pueden cavitarse. El síndrome de Sjögren tiene un riesgo de desarrollar linfoma estimado en 6,6 a 44 veces más que en la población normal (11), estos pacientes suelen tener los síntomas típicos de la resequedad en los ojos y la boca. (12).

Los pacientes con linfoma no Hodgkin primario de pulmón MALT requieren para su evaluación pre-tratamiento de broncoscopia, tomografía computarizada de alta resolución de tórax, tomografía abdominal, pruebas de función pulmonar, incluyendo la capacidad de difusión de monóxido de carbono (DLCO), biopsia de médula ósea, inmunoelectroforesis, LDH,  $\beta$ -2-microglobulina (5), en nuestro caso se efectuaron dichas pruebas a excepción de la inmunoelectroforesis y la DLCO por no haber la disponibilidad inmediata para realizarlo y por la rapidez con la que se llegó al diagnóstico posterior a la realización de la inmunohistoquímica.

La espirometría de este paciente mostró normalidad con tendencia al patrón restrictivo y la fibrobroncoscopia no aportó mayores datos; en el estudio realizado por Cordier y cols. en 1993 no demuestran un perfil característico en los resultados de las pruebas de función pulmonar en los pacientes con esta patología puesto que la espirometría se encontraba dentro de los límites normales en la mayoría de ellos. Cuando se halló un defecto ventilatorio restrictivo había existencia paralela de lesiones pulmonares. La alteración ventilatoria obstructiva podría estar relacionada en algunos casos con el tabaquismo, pero en otros no pudo relacionarse con la afectación linfoide bronquial, aunque ésta no puede ser descartada. Ellos también realizaron fibrobroncoscopia en todos los casos de su estudio, y encontraron anomalías con cambios inflamatorios de la mucosa en 33 de 69 casos (48%) e infiltración linfomatosa bronquial en 17 de 33 casos

(52%) , especialmente cuando se asocia con estenosis bronquial.

El linfoma MALT primario puede manifestarse radiológicamente con gran variedad de imágenes: nódulos solitarios, multifocales o bilaterales, una consolidación parenquimatosa, focal o de infiltración intersticial difusa, atelectasia o derrame pleural. Características tomográficas del linfoma MALT son la presencia de consolidación con márgenes mal definidos y broncograma aéreo. En la radiología de este paciente encontramos un proceso en lóbulo medio con efecto atelectásico y un nódulo en hemitorax izquierdo; que corresponde con lo descrito por Miao y Cai en el 2009, quienes mencionan otros hallazgos como nódulos, consolidación difusa del espacio aéreo bilateral y atelectasia segmentaria o lobar (12).

Pocas características son específicas de linfoma MALT pulmonar y, por lo tanto, es difícil distinguir los linfomas de las neumonías bacterianas y del cáncer de pulmón utilizando sólo una tomografía computarizada. Es importante tener en cuenta a este tipo de tumores, dado que los síntomas, signos clínicos y los estudios de imágenes son inespecíficos. Por ello, la biopsia de pulmón es esencial para un diagnóstico definitivo (14) además de clasificar los distintos tipos de linfomas apoyado en la aplicación de la inmunohistoquímica. Ya que las imágenes son sugerentes pero nunca diagnósticas, la inmunohistoquímica es una técnica imprescindible para evitar subdiagnosticar estas neoplasias.

Los estudios de correlación de imágenes de histopatología de linfoma MALT pulmonar mostraron que diversos hallazgos radiológicos fueron explicados por la expansión y la destrucción de la pared alveolar y el llenado del espacio alveolar secundario a la infiltración tumoral de tejido a lo largo de los septos interlobulares y broncovascular. Masas, nódulos, y la consolidación fueron causadas por el llenado del espacio alveolar (15). Esto puede explicarnos el hallazgo de un proceso alveolar derecho en lóbulo medio y la presencia de nódulo pulmonar izquierdo calcificado de tipo inespecífico en la tomografía.

En el año 2009, Borie señala que existía controversia acerca de la utilidad de la PET para la evaluación de la difusión del linfoma MALT ya que se esperaba que el linfoma MALT con un crecimiento indolente podría tener poca captación de FDG. Sin embargo Zhang en 2011 muestra que la tomografía por emisión de positrones con [18F]-FDG (FDG-PET), que se basa en el mapeo funcional más que mapeo morfológico, juega un papel importante en la gestión de muchos tumores malignos. Sin embargo, la baja

resolución espacial del PET limita la exactitud en la determinación de la localización anatómica de las lesiones identificadas. Sin embargo, las imágenes híbridas FDG-PET/CT proporcionan una información tanto funcional como morfológica y han sido ampliamente utilizadas para el diagnóstico, estadificación y la evaluación de la respuesta al tratamiento en muchas enfermedades malignas (15).

El curso natural de esta enfermedad rara suele ser indolente, con un crecimiento pequeño durante un período prolongado y diseminación tardía, y podría no requerir tratamiento inmediato tras el diagnóstico. Una sola evidencia de progresión pulmonar, en ausencia de síntomas, no justifica iniciar un tratamiento inmediato, ya que esto también podría constituir un fenómeno inflamatorio con la posibilidad potencial de resolverse en forma espontánea (16). De todos modos, en general responde favorablemente al tratamiento, con pocas excepciones donde la enfermedad es agresiva, y en estos casos la quimioterapia sistémica está indicada y se basa en agentes de alquilación simple, con casos ocasionales que requieren antraciclina. El pronóstico es excelente con tasas de supervivencia de 86% a los tres años. El tipo patológico y la agresividad de la enfermedad en su presentación (incluyendo la duración de los síntomas) son por lo general factores pronósticos importantes (1,16). Se evaluó en nuestro paciente los factores pronósticos internacionales para LNH los cuales son: Edad (>60 años), estado funcional, elevación de Lactato Deshidrogenasa (LDH), localizaciones extraganglionares y estadio (17), concluyendo que nuestro paciente se encuentra en el grupo de bajo riesgo de mortalidad.

Aunque los tratamientos para el linfoma MALT pulmonar incluyen la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, en la medicina clínica diaria aún no se ha establecido una estrategia inicial de tratamiento (14). Sin embargo, la Sociedad Italiana de Hematología plantea para instaurar la terapéutica y seguimiento las siguientes recomendaciones: los pacientes con Linfoma No Hodgkin (LNH) primarios pulmonares tipo MALT localizados, sin síntomas deben ser tratados con un enfoque de "observar y esperar" (grado D). No se

recomienda la cirugía para la evaluación pre-tratamiento, pero se puede realizar en pacientes con enfermedad localizada, siempre que sea posible una resección en cuña o extirpación de lóbulo medio y llingula (grado D). El tratamiento de primera línea recomendado debe incluir clorambucil, esquema CHOP, similar-CHOP o regímenes que contienen fludarabina (grado B). La radioterapia se reserva para pacientes con una lesión única, pequeña, en un sitio pobremente móvil y con contraindicación a la cirugía (grado D). La evaluación post-tratamiento y el seguimiento de pacientes con remisión completa deben seguir las directrices para el LNH indolente, incluyendo también tomografía de tórax de alta resolución y pruebas de función pulmonar (grado D). Además de ello, refieren que el Rituximab se debe administrar sólo en ensayos clínicos aprobados. (5).

Dos estudios retrospectivos previos, grandes, no mostraron evidencia de resultados diferentes entre los pacientes que recibieron las diferentes modalidades de tratamiento, como por ejemplo, terapia local, quimioterapia o terapia combinada. Sin embargo, el pronóstico en general de la enfermedad es bueno, tienen un resultado favorable con una supervivencia global del 85% a 5 años y 72% de supervivencia a 10 años (11).

Los diagnósticos diferenciales de este tipo de linfoma son: carcinoma bronquioloalveolar ó neumonías crónicas tales como bronquiolitis obliterante con neumonía en organización, especialmente cuando es bilateral (13).

El paciente inicia Protocolo R-CHOP de quimioterapia con: Rituximab, Ciclofosfamida, Dexametazona, Doxorubicina, Vincristina y Prednisona, planificada para 8 ciclos, tuvo una evolución satisfactoria, obteniéndose una disminución de un 90% del linfoma en el control radiológico al finalizar los ciclos de tratamiento. No presentó complicaciones respiratorias o cardíacas durante ni posterior a la administración del esquema de tratamiento. La espirometría persistió normal

## Referencias

1. Attili VS, Reddy CO. An interesting case of lung mass. *J Lab Physicians*. 2009; 1: 25-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
2. Park KH, Kwon SS, Chung MH, Kim J, Lee HJ, Min JW, Kim YH. A case of pulmonary MALT lymphoma arising from lymphocytic interstitial pneumonitis. *Tuberc Respir Dis* 2012; 73: 115-21. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
3. Noguchi S, Yatera K, Kido T, Ogoshi T, Nagata S, Nishida C, Yamasaki K, Kawanami T, Kawanami Y, Ishimoto H, Mukae H. Pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma with multiple thin-walled pulmonary cysts: a case report and review of the literature.

- Intern Med 2013; 52:2325-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
4. Cadavid JC, Wani AA. A 68-year-old woman with Fever, atelectasis, and nodular endobronchial lesions. CHEST 2011; 139: 208–11. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  5. Zinzani PL1, Martelli M, Poletti V, Vitolo U, Gobbi PG, Chisesi T, Barosi G, Ferreri AJ, Marchetti M, Pimpinelli N, Tura S; Italian Society of Hematology; Italian Society of Experimental Hematology; Italian Group for Bone Marrow Transplantation. Practice guidelines for the management of extranodal non-Hodgkin's lymphomas of adult non-immunodeficient patients. Part I: primary lung and mediastinal lymphomas. A project of the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. Haematologica 2008; 93: 1364-71. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  6. Pineda-Daboin KM, Rosas-García G, Rosas-García MI, Rosas-Uribe A. Linfomas no Hodgkin extraganglionares y extraesplénicos de la zona marginal del tejido linfoide asociado con mucosas (linfomas MALT). Características clínicas y patológicas en 76 pacientes venezolanos. Patología 2009; 47: 331-40. [\[Google Scholar\]](#)
  7. Venezuela. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Dirección General de Epidemiología. Anuario de Mortalidad 2011. Caracas: MPPPS; 2011.
  8. Motta JP, Bruno LP, Andrade Lde S, França M, Capone RB, Marchiori E, Capone D. Pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma presenting with a diffuse micronodular pattern in an HIV-infected patient. J Bras Pneumol. 2011; 37: 412-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  9. Mattedi RL, Bernardi Fdel C, Bacchi CE, Siqueira SA, Mauad T. Fatal outcome in bronchus-associated lymphoid tissue lymphoma. J Bras Pneumol. 2007; 33: 487-91. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  10. Piña-Oviedo S, Ortiz-Hidalgo C. Linfoma de células B de la zona marginal extraganglionar del tejido linfoide asociado a mucosas (linfoma MALT). Evolución histórica y conceptos actuales. Gac Med Mex. 2007; 143: 237-44. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  11. Borie R, Wislez M, Thabut G, Antoine M, Rabbat A, Couderc LJ, Monnet I, Nunes H, Blanc FX, Mal H, Bergeron A, Dusser D, Israël-Biet D, Crestani B, Cadranet J. Clinical characteristics and prognostic factors of pulmonary MALT lymphoma. Eur Respir J 2009; 34: 1408-16. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  12. Miao LY, Cai HR. Cystic changes in mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma of lung: a case report. Chin Med J (Engl). 2009; 122: 748-51. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  13. Cordier JF, Chailleux E, Lauque D, Reynaud-Gaubert M, Dietemann-Molard A, Dalphin JC, Blanc-Jouvan F, Loire R. Primary pulmonary lymphomas. A clinical study of 70 cases in nonimmunocompromised patients. Chest. 1993; 103: 201-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  14. Tamura S, Ikeda T, Kurihara T, Kakuno Y, Nasu H, Nakano Y, Oshima K, Fujimoto T. Bulky Pulmonary Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma Treated with Yttrium-90 Ibritumomab Tiuxetan. Case Rep Hematol. 2013; 2013: doi:10.1155/2013/675187. [\[PubMed\]](#)
  15. Zhang WD, Guan YB, Li CX, Huang XB, Zhang FJ. Pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: computed tomography and <sup>18</sup>F fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography imaging findings and follow-up. J Comput Assist Tomogr 2011;35: 608-13. [\[PubMed\]](#)
  16. Troch M, Streubel B, Petkov V, Turetschek K, Chott A, Raderer M. Does MALT lymphoma of the lung require immediate treatment? An analysis of 11 untreated case with long-term follow-up. Anticancer Res 2007; 27: 3633-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  17. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. N Engl J Med. 1993, 329: 987-94. [\[PubMed\]](#)

**Como citar éste artículo:** Vergara-Uzcategui C, Ruiz M. Linfoma de células B de la zona marginal extraganglionar del tejido linfoide asociado a mucosa (linfoma MALT) de pulmón. *Avan Biomed* 2014; 3: 102-9.



## Estesioneuroblastoma, una tumoración poco frecuente. A propósito de un caso (Esthesioneuroblastoma, a rare tumor. A case report)

Ángel A Rodríguez U <sup>1</sup>✉, Hansely K Arcos O<sup>1</sup>, Daniel A Ascue G<sup>1</sup>, Saúl A Moreno D<sup>1</sup>, Adán A Muñoz R<sup>1</sup>, Gery R Ruiz C<sup>1</sup>, Helen D Uzcátegui C<sup>1</sup>, Yorlenis C Uzcátegui R<sup>1</sup>, José Plaza<sup>2</sup>, Roger Velazco<sup>2</sup>, Pedro Smith<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Estudiante de la Facultad de medicina, Universidad de Los Andes, Mérida Venezuela, <sup>2</sup>Servicio de Otorrinolaringología, Instituto Autónomo Hospital universitario de los Andes, Mérida, Venezuela.

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 16 de Noviembre de 2013. Aceptado: 4 de Julio de 2014.

### Resumen (español)

El estesioneuroblastoma es un tumor que se origina del neuroepitelio olfatorio y su incidencia es del 3% de los tumores nasales. Los síntomas son inespecíficos, pero las dos manifestaciones más frecuentes son la obstrucción nasal unilateral y la epistaxis. El diagnóstico definitivo de los pacientes es mediante el estudio histológico, el cual es difícil porque se confunde a menudo con otras neoplasias de células pequeñas y redondas de la cavidad nasal y la inmunohistoquímica de las muestras de la biopsia. Los enfoques terapéuticos actuales incluyen la combinación de técnicas endoscópicas con craneotomía anterior, seguidos de radioterapia adyuvante; y la quimioterapia en estadios avanzados. Se presenta un caso de masculino de 40 años de edad, quien consulta por epistaxis con predominio en la fosa nasal izquierda, en la rinoscopia anterior izquierda se evidencia una lesión ocupante de espacio, de aspecto blanco-grisáceo, no sangrante, de consistencia dura, con secreción serohemática escasa, la biopsia reporta una neoplasia maligna de células redondas pequeñas compatible con un neuroblastoma olfatorio (estesioneuroblastoma). Su diagnóstico definitivo se realiza con inmunohistoquímica. Se practica una maxilectomía total izquierda con la colocación de material de osteosíntesis. Debido a la baja incidencia de estas tumoraciones, es menester dar a conocer los casos existentes, para que luego sean estudiados por las nuevas generaciones de médicos, con el fin de no pasar por alto una patología poco usual.

### Palabras clave (español)

*Estesioneuroblastoma, neuroblastoma olfatorio, inmunohistoquímica*

### Abstract (english)

Esthesioneuroblastoma is a tumor arising from the olfactory neuroepithelium and its incidence is 3% of nasal tumors. The symptoms are nonspecific, but the two most common manifestations are unilateral nasal obstruction and epistaxis. The definitive diagnosis of the patients is by histological study, which is difficult because it is often confused with other neoplasms of small round cells in the nasal cavity and immunohistochemistry of biopsy samples. Current therapeutic approaches include endoscopic techniques combined with anterior craniotomy, followed by adjuvant therapy; and chemotherapy in advanced stages. A case of male 40 years of age, who consults for epistaxis predominantly in the left nostril, in the left anterior rhinoscopy It has a space-occupying lesion, white-gray appearance, no bleeding, hard consistency, with little serohematic secretion, biopsy reports a malignant small round cell tumor consistent with an olfactory neuroblastoma (esthesioneuroblastoma). The definitive diagnosis is made with immunohistochemistry. A left Total maxillectomy with placement of osteosintesis material is practiced. Due to the low incidence of these tumors, it is necessary to present existing cases, so then be studied by future generations of doctors, in order to not ignore an unusual pathology

### Keywords (english)

*Esthesioneuroblastoma, olfactory neuroblastoma, immunohistochemistry*

## Introducción

Las neoplasias nasosinusales representan el 0,2% de todos los tumores malignos, siendo los carcinomas epidermoides el tipo histológico más frecuente (32%-68%) (1). El estesioneuroblastoma (ENB) es un tumor derivado de la cresta neural que se origina en el epitelio olfatorio (2). Afecta primariamente la mucosa de la cavidad nasal superior y la lámina cribiforme, con posterior invasión de toda la cavidad nasal y los senos paranasales. (3), su incidencia es del 3% de los tumores nasales (4) y lo habitual es que aparezca principalmente en dos picos de edad agrupados alrededor de los 20 años y sobre los 50 años, aunque la mayor incidencia se sitúa en la quinta década de la vida (5) con igual distribución entre ambos sexos (6).

Se desconocen las causas que provocan este tumor (7). Crece por invasión local, con destrucción progresiva de la lámina cribosa; con la evolución, la neoformación va invadiendo las fosas nasales, los senos paranasales, la base del cráneo, la rinofaringe, la fosa craneal anterior y los lóbulos frontales (5). El compromiso de la lámina cribiforme es tan característico que, en su ausencia, debe dudarse el diagnóstico (8).

La presentación clínica de este tumor suele ser inespecífica, el 70% de los casos cursa con obstrucción nasal bilateral y el 46% con epistaxis, síntomas que son frecuentes en patologías tan comunes como la enfermedad sinusal polipoidea alérgica o la rinosinusitis crónica (6). Al realizar su observación por rinoscopia, se presenta como una masa polipoide, generalmente única, de base pediculada o sésil, con una consistencia dura o suave y de superficie lisa (8).

La prueba de imagen de elección es la Tomografía Axial Computarizada (TAC), donde se evidencia una masa de partes blandas, homogénea en la cúpula nasal con realce uniforme de contraste, debiendo así sospechar su diagnóstico. Esta técnica debe completarse con una Resonancia Magnética Nuclear (RMN), que permite una mayor resolución para evaluar la extensión infraorbitaria o intracerebral del tumor (6).

Posterior a la realización de los estudios imagenológicos, se debe realizar la biopsia, siendo su apariencia típica al microscopio de un tumor

conformado por células pequeñas uniformes con una escasa matriz fibrilar y rodeada por núcleos oscuros, que se ordenan clásicamente en lóbulos conteniendo rosetas (7).

Su diagnóstico definitivo se realiza con inmunohistoquímica. El ENB presenta reactividad a los marcadores de diferenciación neural o neuroendocrina que incluyen: sinaptofisina, proteína de neurofilamentos, beta tubulina III, cromogranina A, proteína S-100, y enolasa neural específica (9).

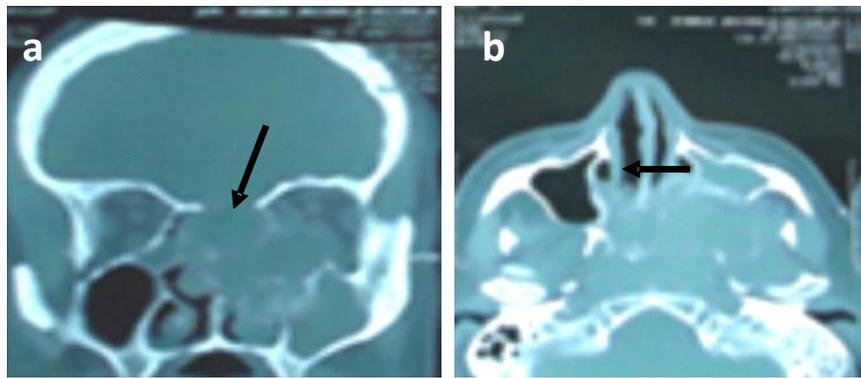
Se presenta un caso de ENB con extensión al antro maxilar izquierdo y erosión del piso de la órbita izquierda, diagnosticado en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (IAHULA), el cual es una patología poco frecuente y puede confundirse fácilmente, siendo necesaria la realización de estudios inmunohistoquímicos para obtener un diagnóstico certero. Su conducta terapéutica dependerá de su extensión, la cual debe ser evidenciada por estudios imagenológicos

## Caso clínico

Se presenta el caso de un paciente masculino de 40 años de edad, natural y procedente de El Vigía, estado Mérida, Venezuela, que presentó obstrucción nasal y epistaxis en la fosa nasal izquierda, de 8 meses de evolución, concomitantemente aumento de volumen de la pared anterior del maxilar izquierdo, con dolor y disnea de 2 semanas de evolución, por lo que consulta.

Se evidenció al examen físico, un aumento de volumen en el dorso nasal izquierdo que se extiende a la región maxilar, doloroso a la palpación, en la rinoscopia anterior se observó una tumoración de aspecto blanco grisáceo, no sangrante, con una secreción serohemática escasa. La orofaringe sin hallazgos patológicos y el cuello móvil, simétrico, sin adenopatías, ni tumoraciones, resto del examen físico sin alteraciones.

Se realizó una TAC de senos paranasales, donde se observó una lesión ocupante de espacio con una densidad de partes blandas, captante, ocupando la fosa nasal izquierda, que se extiende desde el techo etmoidal hasta el seno maxilar izquierdo y erosionando el piso de la órbita y la lámina papirácea, con ligera desviación del septum nasal (figura 1a y 1b).



**Figura 1. 1a.** TAC de senos paranasales, tumor en fosa nasal izquierda que afecta seno maxilar izquierdo, señalado por la flecha. **1b.** TAC de senos paranasales, tumor en fosa nasal izquierda que afecta seno maxilar izquierdo, señalado por la flecha.

A fin de precisar su naturaleza, se realizó una nasofibrolaringoscopia flexible en la consulta del servicio de otorrinolaringología del IAHULA, evidenciando una lesión blanco-grisácea, que ocupa la totalidad de la fosa nasal izquierda, por lo que el paciente es llevado a mesa operatoria, realizando una toma de biopsia de la fosa nasal y el seno maxilar izquierdo, mediante un abordaje de Cadwell Luk y una antrotomía izquierda, la cual mostró macroscópicamente múltiples e irregulares fragmentos de tejido pardo amarillento, de aproximadamente 6x5cm y 5x4cm respectivamente, algunos de ellos de configuración polipoidea y de consistencia semifirme (figura 2a). El estudio histopatológico describió una neoplasia maligna constituida por células redondas, con escaso citoplasma, mal definido, núcleos redondeados, monótonos con cromatina firmemente granular. Dichas células dispuestas en forma difusa, en áreas con tendencia a formar rosetas y pseudorosetas, que infiltran extensamente el tejido fibroconectivo adyacente, con ausencia de actividad mitótica, compatibles con ENB (Figura 2b).

En vista a ser necesaria la comprobación del resultado histológico por la gran cantidad de diagnósticos diferenciales se realiza inmunohistoquímica, la cual reportó inmunomarcaje en las células neoplásicas con enolasa, sinaptofisina y cromogranina con diagnóstico definitivo de ENB.

Ya teniendo certeza diagnóstica, se realizó una TAC de órbita, una TAC de cuello con contraste, una TAC de tórax, una gammagrafía ósea y una resonancia magnética cerebral sin hallazgos patológicos nuevos, estudios de extensión necesarios para descartar metástasis regionales y a distancia.

Es clasificado como Estesioneuroblastoma estadio C de Kadish, grado I de Hyams, T3 N0 M0 preoperatoriamente.

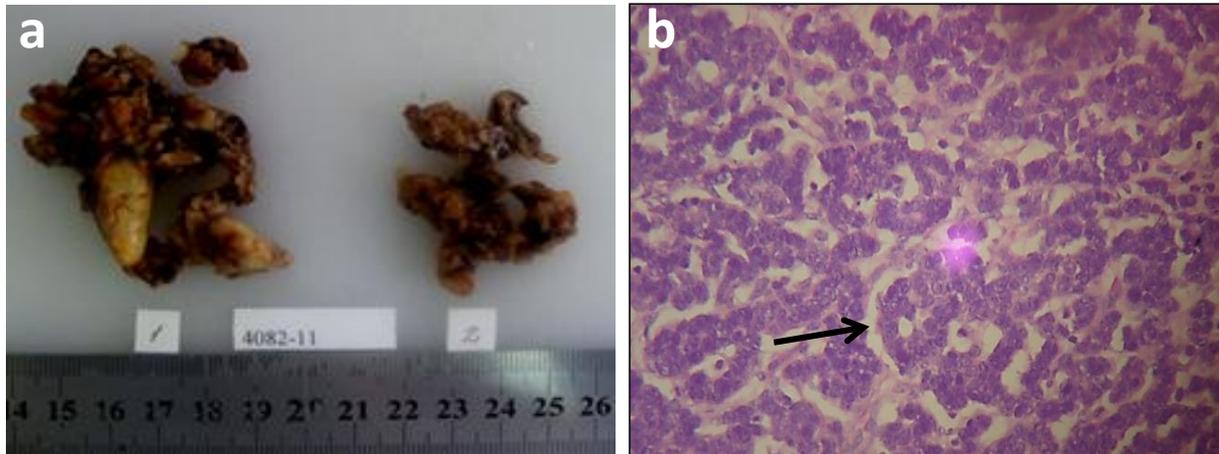
En base a los hallazgos clínicos y paraclínicos, sugestivos de ENB y en vista de no estar bien definido los márgenes quirúrgicos de resección, se indica realizar una terapia neoadyuvante para disminuir su tamaño y tomar una conducta quirúrgica apropiada. Se realizó radioterapia prequirúrgica sobre el lecho tumoral con dosis de 60 Gy a razón de 2 Gy por sesión durante 6 semanas mediante fotones de 6 Megavoltios procedentes de acelerador lineal.

Debido a la respuesta satisfactoria es llevado a mesa operatoria donde se realizó una maxilectomía radical izquierda mediante la incisión de Weber Ferguson, encontrándose una tumoración de 4x2x1cm de aspecto pardo grisáceo que ocupaba las celdillas etmoidales, la fosa nasal y el antro maxilar izquierdo, sin erosión del techo etmoidal, ni del piso de la órbita, por lo que se realiza la preservación de la órbita, la excéresis del tumor y la reconstrucción con mini placas de titanio; la pieza anatómica es llevada a estudio anatomopatológico e inmunohistoquímico que corrobora el diagnóstico de ENB con márgenes de resección negativos.

Presentó una evolución clínica satisfactoria y es dado de alta con el diagnóstico definitivo de Estesioneuroblastoma estadio B de Kadish, grado I de Hyams, TNM: T2 N0 M0; el paciente no acudió a su cita control a los 6 meses, no siendo posible así su seguimiento postoperatorio.

## Discusión

El estesioneuroblastoma o neuroblastoma olfatorio es una neoplasia poco común, fue descrito por primera vez por Berger y sus colegas en 1924 (10),



**Figura 2.** 2a. Muestra de fosa nasal y antro maxilar, lesión polipoidea, consistencia semifirme, de aproximadamente 6x5cm y 5x4cm respectivamente. 2b. Muestra de neoplasia maligna de células redondas pequeñas con tendencia a formar rosetas, señalada por la flecha. Tinción con hematoxilina-eosina (200X).

siendo pocos los casos publicados en la literatura médica hasta la fecha. En el IAHULA han sido reportados tan solo 2 casos en el último decenio, demostrando así su baja incidencia a nivel mundial, siendo similar a la bibliografía encontrada.

El ENB es parte del grupo de tumores llamados neuroectodérmicos, este grupo incluye al pineoblastoma, neuroblastoma, ganglioglioma, ependimoblastoma, espongioblastoma polar y el retinoblastoma (11).

Los síntomas ocasionados no son específicos y no se podrían diferenciar de cualquier otro tumor que ocupe la fosa nasal. El ENB no presenta un patrón definido, en los estudios de imágenes diagnósticas. Se debe sospechar al observar una lesión del tercio superior de la fosa nasal, que cause remodelación de las estructuras óseas adyacentes. Se suele observar la lesión delimitada por debajo de la lámina cribiforme. En la TAC se observa un tumor negro intenso y brillante que causa una remodelación ósea adyacente. La RMN muestra una lesión hiperintensa en el T2, e isointensa en el T1, que es invasora. La RMN es el estudio de elección para definir y valorar la extensión intracraneana. En todos éstos tipos de tumores se debe realizar una toma de biopsia preoperatoria bien sea mediante un abordaje endoscópico o una cirugía abierta y comprobar los resultados anatomopatológicos mediante la inmuistoquímica para un diagnóstico certero (12).

La estadificación ha demostrado que es un importante factor pronóstico y una herramienta útil en la valoración del manejo terapéutico. El primero en proponer una clasificación imagenológica fue Kadish, en cuatro categorías: Grado A, el tumor está limitado a

fosa nasal; Grado B, se extiende a senos paranasales, Grado C, la lesión se extiende más allá de senos paranasales, que incluye zonas como la órbita, base de cráneo, intracraneal o a la lámina cribiforme y Grado D, un tumor con metástasis a ganglios cervicales linfáticos o a distancia (13).

Dulgerov y Calcaterra proponen una consideración basada en la clásica TNM (ver tabla 1). También existe el análisis de los datos histopatológicos de la clasificación de Hyams (7).

También existe el análisis de los datos histopatológicos de la clasificación de Hyams, se efectúa agrupando éstos en Grado I y II (más diferenciadas) versus grado III y IV (de mayor índice mitótico, marcado polimorfismo nuclear, presencia de necrosis y baja o nula matriz fibrilar y rosetas, es decir menos diferenciadas) (6).

La mayoría de estos tumores tienen como conducta terapéutica la resolución quirúrgica de entrada mediante una cirugía endoscópica, sin embargo en nuestro caso debido a que los estudios imagenológicos nos muestran una extensión desde la lámina cribiforme, el seno maxilar y con erosión del piso de la órbita, se planteó la radioterapia preoperatoria a pesar de no estar descrita frecuentemente en la literatura debido a la imposibilidad de tener márgenes de resección oncológicos necesarios en este tipo de tumores. Están descritos distintos tipos de abordajes para éste tipo de tumores rinosinuales tales como la resección endoscópica, la rinotomía lateral, el abordaje Lefort 1, el transfacial, la maxilectomía y combinaciones neuroquirúrgicas; en el presente caso se optó por realizar un abordaje mediante la maxilectomía e

**Tabla 1.** Clasificación de Dulguerov y Calcaterra.

Clasificación TNM	Características
T1	Tumor que afecta a la cavidad nasal y /o senos paranasales (excluyendo esfenoides), respetando las celdas etmoidales más craneales
T2	Afecta a la cavidad nasal y /o senos paranasales (incluyendo esfenoides) con extensión o erosión de la lamina cribiforme
T3	Tumor que se extiende a la órbita o protruye en la fosa craneal anterior
T4	Tumor que afecta al cerebro
N0	No hay afectación ganglionar cervical
N1	Afectación de la cadena ganglionar cervical
M0	No se encuentra metástasis a distancia
M1	Existe evidencia de metástasis a distancia

incisión de Weber Ferguson que a pesar de dejar una cicatriz más visible, permite un abordaje adecuado de la tumoración con este tipo de extensión.

Recientemente, varias publicaciones han señalado la utilidad de la combinación de la cirugía endoscópica y la radioterapia para el tratamiento del neuroblastoma Kadish A a C, con resultados esperanzadores. Sin embargo, como han publicado Sundaresan et al, es preferible realizar una resección craneonasal seguida de radioterapia en los pacientes afectados de estesioneuroblastoma Kadish C o si los márgenes de resección son positivos para tumor (14).

El papel de la radioterapia aún es controvertido, las dosis recomendadas son radicales (60-65Gy)(14), así algunos autores han comprobado mayores recidivas cuando se emplea en los estadios A y B, cuando se ha realizado una resección craneofacial, mientras que otros encuentran mejores tasas de control del tumor a los 5 años asociando la cirugía a la radioterapia (1). En este caso el tratamiento consistió en la radioterapia preoperatoria con la finalidad de disminuir el tamaño del tumor y mejorar la posibilidad de resección quirúrgica completa, logrado esto, se procede a realizar una maxilectomía radical izquierda

con una incisión de Weber Ferguson y la colocación de material de osteosíntesis, por no contar con márgenes necesarios para la realización de una exéresis con endoscopia y proporcionando un mejor campo operatorio con una menor recurrencia mediante la maxilectomía radical, siendo esta conducta similar a las señaladas en las bibliografías, como la mayoría de los autores recomiendan.

Las recidivas son bastante comunes y pueden producirse en más del 50% de los pacientes, en éstas el arma terapéutica más utilizada es la quimioterapia con ciclofosfamida, vincristina y/o cisplatino, también necesaria en los tumores inoperables y en la metástasis (1), que se presentan fundamentalmente a nivel regional en el cuello y en los ganglios linfáticos cervicales, las metástasis hematógenas son raras, pero pueden ocurrir en el hueso, la médula ósea, los pulmones o la piel (15).

Miyamoto y cols. afirman que el 75% de los pacientes en estadio A y B de Kadish presentaron 2 años libres de la enfermedad luego del tratamiento, mientras que esta evolución solo se presentó en el 29% de los pacientes en estadio C; El valor pronóstico de la escala de Hyams y los resultados son similares, observándose que el 66% de los pacientes en grados I y II alcanzaron sobrevida libres de enfermedad durante dos años posteriores al tratamiento, mientras que solamente un 26 % de los pacientes en grados III y IV alcanzaron sobrevida sin enfermedad luego del tratamiento(9). Lo cual nos permite obtener un pronóstico favorable con las diferentes clasificaciones según su estadio sin olvidar el porcentaje de recurrencia, motivo por el cual debe realizarse un seguimiento insidioso en estos casos. Sin embargo nuestro paciente no acudió a controles postoperatorios y desconocemos el seguimiento del mismo.

Posterior al tratamiento, la media de sobrevivencia a los 5 años es del 45% y Dulguerov mostró que la sobrevivencia depende de la opción terapéutica empleada. Con solo la cirugía se estima del 48% y cuando se combina con la radioterapia, se espera un incremento al 65%. En los casos de solo manejo con la radioterapia la sobrevivencia es del 37% y si se asociaba con la quimioterapia era de 51%. (16).

La importancia de dar a conocer éste caso, está dada por las dificultades en el diagnóstico de éstos tumores, ya que se pueden confundir con otras neoplasias indiferenciadas de la cavidad nasal. Los síntomas son inespecíficos pudiéndose confundir con cualquier tumor rinosinusal o con múltiples lesiones mucho más habituales como el adenocarcinoma poco diferenciado, el carcinoma de células transicionales, el

carcinoma anaplásico, el melanoma maligno, el rhabdomyosarcoma embrionario, el sarcoma de Ewing y otros sarcomas embrionarios, el linfoma maligno, el plasmocitoma extramedular, la infiltración leucémica y la metástasis del carcinoma anaplásico de células pequeñas, entre otras.

Por otro lado, no hay un sistema de estadificación aceptado (6), siendo necesaria una guía que nos ofrezca posibilidades terapéuticas concretas,

su actividad biológica tiende en ocasiones a ser altamente agresiva, con una media entre el inicio de los síntomas y el diagnóstico de 6 meses, lo cual se debe tomar en cuenta para evitar complicaciones y una poca respuesta al tratamiento, siendo poco frecuente un crecimiento indolente con pacientes que sobreviven más de 20 años (6).

## Referencias

- Nieto L, Rodríguez M, Nieto J, Cordoncillo J. Estesioneuroblastoma. A propósito de 3 casos. *ORL-DIPS*. 2003; 30: 106-9.
- Rangel-Hernández M, Ordóñez-García R. Prevalencia de tumoraciones de nariz y senos paranasales en el Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" de enero de 1994 a diciembre de 2002. *AN ORL MEX*. 2005; 50: 36-42. [\[Google Scholar\]](#)
- Morocho Riofrio P, Russo Picasso MF, Kneševich F, Figari M, Christiansen S, Fainstein Day P. Estesioneuroblastoma y panhipofuitarismo: presentación de un caso. *Rev Arg Neurocir*. 2010; 24:61-5 [\[Google Scholar\]](#)
- Gil-Carcedo E, Gil-Carcedo LM, Vallejo LA, de Campos JM. Tratamiento del estesioneuroblastoma. Revisión de la literatura. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2005;56: 389-95. [\[PubMed\]](#) [\[Google scholar\]](#)
- Moscote-Salazar LR, Chater-Cure G, Sáenz-Amarruz M, Zubiela C, Meneses-García CA, Romero A, Penagos PJ. Estesioneuroblastoma. 2010; 1: 96-101 [\[Google Scholar\]](#)
- Gutiérrez L, Salas C, Román P. Estesioneuroblastoma. Revisión de la literatura a propósito de dos casos. *Oncología (Barc)*. 2005; 28: 51-61 [\[Google Scholar\]](#).
- Salgado-M D, Pizarro-G L., Belletti-B J., Estesioneuroblastoma Revisión de la literatura a propósito de un caso. *Rev ANACEM*. 2008, 2: 49-52 [\[Google Scholar\]](#)
- Di Mario GR. Estesioneuroblastoma con metástasis en médula ósea. Presentación de un caso y revisión de la literatura. *Rev Asoc Méd Argent*. 2007; 120: 12-5 [\[Google Scholar\]](#).
- Santos-Franco J, Ortíz-Velásquez I, Mercado-Pimentel R, Granados M, Gómez E, Revuelta-Gutiérrez R, Celis-López MA, Gómez-Llata S. Estesioneuroblastoma. Presentación de un Caso y Revisión de la Literatura. *Rev Ecuatoriana Neurol*. 2002; 11: 1-2 [\[Google Scholar\]](#).
- Sepúlveda I., Herrera, A., Delgado, C., Platin, E., Rosel, P. Estesioneuroblastoma: a Case Report and Review of the Literature. *Int J Odontostomat*. 2012; 6: 285-9 [\[Google Scholar\]](#).
- Bragg TM, Scianna J, Kassam A, Emami B, Brown HG, Haccin-Bey L, Clark JI, Muzaffar K, Boulis N, Prabhu VC. Clinicopathological review: estesioneuroblastoma. *Neurosurgery* 2009; 64: 764-70 [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Mattavelli F, Pizzi N, Pennacchioli E, Radaelli S, Calarco G, Quattrone P, Patelli L, Spinelli P. Estesioneuroblastoma metastatic to the trachea. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2009; 29: 164-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Torres Muros B, Pérez Arcos JA, Alvarez Rey I, Lazarich Valdés A, Verge González J, Rodríguez Baró JG. Estesioneuroblastoma. Description of a case and review of the literature. *An Otorrinolaringol Ibero Am*. 2006; 33: 513-20. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
- Pasquini E, Sciarretta V, Callbucci F, Mazzatenta D, Farnetia P, Frank G. Abordajes craneonasaes combinados con endoscopia para el tratamiento de tumores malignos de base de cráneo anterior. [Internet]. 2007 [citado en julio de 2014]. [\[Google Scholar\]](#)
- Bueso P., Lambea J., Andrés R., Mayordomo J., Martínez, Isla D., Escudero P., Saenz A., Polo E., Lara R., Lastra R., Ortega E., Escó R., Tres A. Resultados a largo plazo del tratamiento del estesioneuroblastoma. Experiencia en Aragón (1981-2003). *Oncología* 2004; 27:44-7 [\[Google Scholar\]](#)
- Zanation AM, Ferlito A, Rinaldo A, Gore MR, Lund VJ, McKinney KA, Suárez C, Takes RP, Devaiah AK. When, how and why to treat the neck in patients with estesioneuroblastoma: a review. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2010; 267: 1667-71. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#).

**Como citar este artículo:** Rodríguez-U AA, Arcos-O HK, Ascue-G DA, Moreno-D SA, Muñoz-R AA, Ruiz-C GR, Uzcátegui-C HD, Uzcátegui-R YC, Plaza J, Velazco R, Smith P. Estesioneuroblastoma, una tumoración poco frecuente. A propósito de un caso. *Avan Biomed* 2014; 3: 110-5.

### Instrucciones a los autores

Se aceptan solamente artículos inéditos relacionados con cualquier aspecto de las ciencias biomédicas. Todo trabajo que se desee publicar debe enviarse a la Revista utilizando el correo electrónico: [avanbiomed.idic@gmail.com](mailto:avanbiomed.idic@gmail.com), el mismo debe distribuirse en (4) archivos diferentes identificados de la siguiente manera:

- **Carta al Editor:** debe contener el nombre de todos los autores y sus respectivos correos electrónicos, título del trabajo, descripción corta del trabajo detallando el impacto de los resultados obtenidos, conflictos de interés, el tipo de artículo (Revisiones, estado actual del problema, Artículos originales, Casos clínicos, Cartas al editor, Comunicaciones rápidas o noveles) y el área (Ciencias Básicas ó Clínicas).
- **Manuscrito:** compuesto por el cuerpo del trabajo en el siguiente orden: primera página con el título, autores con sus direcciones institucionales, e información del autor de correspondencia; segunda con el resumen; tercera página con el resumen en inglés; cuarta página con el cuerpo del trabajo; referencias; y la última página con las leyendas de las figuras debidamente identificadas. El trabajo puede ser publicado en idioma Inglés o Español. Debe incluir los datos del autor de correspondencia: dirección completa, número telefónico, número de fax, y correo electrónico. El Resumen y Abstract debe ser entre 250 palabras, incluyendo un máximo de 10 palabras clave.
- **Tablas:** las cuales se enumeran según orden de aparición en números arábigos, en formato sencillo (sin color). Cada una de las tablas debe tener un título breve, y si es necesario aclaratorias se deben hacer como notas al pie de página de la misma. Las unidades de medidas y estadísticas deben ser debidamente identificadas.
- **Figuras:** en formato TIFF de 200 – 300 dpi en resolución CMYK (para impresión). Cada figura ocupa una página del archivo, y la leyenda de ellas deben estar contenidas en el manuscrito.

Los documentos y las tablas deben ser enviados como archivo WORD 2003 compatible (.DOC). Las figuras deben ser enviadas como archivo POWERPOINT 2003 (.PPT). En caso de utilizar figuras, fotos o tablas de una fuente externa, debe ir acompañada de la respectiva carta de autorización de uso.

Tipos de publicación y distribución:

- **Artículo Original:** la primera página debe incluir: Título, en español y en inglés (máximo 20 palabras), Autores con sus afiliaciones, título corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (250 palabras máx.) y palabras clave (máx. 10), Abstract (250 palabras máx.) y keywords (máx. 10), Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias, y Leyenda de Figuras. Número máximo de palabras del manuscrito sin referencias ni resumen: 5.000. En Metodología, debe incluir una cláusula de aprobación por el comité de ética correspondiente, cuando aplique. Máximo 5 figuras y/o fotos y 2 tablas.
- **Artículo de Revisión y "estado actual del problema":** la primera página debe incluir: Título, en español y en inglés (máximo 20 palabras), Autores con sus afiliaciones, título corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (250 palabras máx.) y palabras clave (máx. 10), Abstract (250 palabras máx.) y keywords (máx. 10), Manuscrito, Agradecimientos, Referencias, y Leyenda de Figuras. Número máximo de palabras del manuscrito sin referencias ni resumen: 5.000. Máximo 5 figuras y/o fotos y 2 tablas.
- **Casos Clínicos:** la primera página debe incluir: Título, en español y en inglés (máximo 20 palabras), Autores con sus afiliaciones, título corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (250 palabras máx.) y palabras clave (máx. 10), Abstract (250 palabras máx.) y keywords (máx. 10), Introducción, Caso Clínico, Discusión, Reconocimiento, Referencias, Leyenda de Figuras. En Metodología, debe incluir una cláusula de aprobación por el comité de ética correspondiente. Número máximo de palabras del manuscrito sin referencias ni resumen: 3.000. Máximo 2 figuras y/o fotos y 1 tabla. Se aceptan fotos con edición de la cara del paciente (pixelado ó barra sobre los ojos).
- **Comunicaciones Rápidas:** la primera página debe incluir: Título en inglés y español (máx. 20 palabras), autores con sus afiliaciones, título

corto (máx. 55 caracteres) y la dirección del autor de correspondencia. Seguido del Resumen (150 palabras máx.) y palabras clave (máx. 5), Abstract (150 palabras máx.) y 5 keywords, Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias, y Leyenda de las Figuras. Los resultados y discusión pueden combinarse. Número máximo de palabras del cuerpo del manuscrito que incluye: Resumen o abstract, Introducción, Metodología, Resultados, Discusión y Agradecimientos, es de 3000. En Metodología, debe incluir una cláusula de aprobación por el comité de ética correspondiente. Máximo 3 figuras y/o fotos y 1 tablas.

- **Cartas al editor** manuscrito de máximo 1.000 palabras y sus referencias.

#### Referencias:

Las referencias bibliográficas se citan de acuerdo a orden de aparición utilizando números Arábigos entre Paréntesis, por ejemplo: (1). A la hora de escribir la referencia se utiliza el formato Vancouver tomando en consideración que se deben incluir todos los autores, y el nombre de la revista debe ser abreviado acorde con el sistema adoptado por el Index Medicus, según los ejemplos anexos:

#### Revistas:

1. Petteersen FO, Torheim EA, Dahm AE, Aaberge IS, Lind A, Holm M. An exploratory trial of cyclooxygenase type 2 inhibitor in HIV-1 infection. *J Virol* 2011; 85:6557-66.

#### Libros:

2. Berrueta L, Goncalves L, Salmen S. Respuesta inmune frente a virus, 1era Ed. Mérida: CODEPRE-ULA, 2005.

#### Sitio web:

3. McCook A. Pre-diabetic condition linked to memory loss [internet]. 2010 [cited 2010 Apr 14]. Available from: <http://prevent.com/ns.htm>.

### Declaración de los autores y transferencia de derechos

Los autores de un manuscrito aceptado para publicación en la revista deben descargar el formato Word de la **declaración de la autoría** y la **transferencia de derechos de autor**. Los autores del manuscrito deben firmar el documento confirmando la originalidad del mismo, la participación de cada uno de los autores firmantes, las condiciones éticas del trabajo, financiamiento, y que no ha sido publicado en otra revista. En el caso de la transferencia de derechos de autor, el autor de correspondencia, en nombre de todos los autores, firma el formulario de transferencia de derechos de autor. Los documentos deben ser llenados, firmados y enviados por correo electrónico a la revista: [avanbiomed.idic@ula.ve](mailto:avanbiomed.idic@ula.ve) ó [avanbiomed.idic@gmail.com](mailto:avanbiomed.idic@gmail.com).

### Sistema de arbitraje

Todos los trabajos sometidos a la Revista son enviados a arbitraje, siempre y cuando cumpla con las normas editoriales mínimas, por lo que en una primera fase los manuscritos serán revisados por el comité editorial a fin de determinar si esta dentro del alcance de la revista y cumple con las normativas de la revista. Una vez aprobado por el comité editorial será enviado a revisores externos, con experticia en el área, quienes determinarán de manera anónima, si el manuscrito es: 1) aceptado sin correcciones, 2) aceptable con correcciones menores, 3) aceptable con correcciones mayores y amerita nueva evaluación por el revisor o 4) rechazado. El arbitraje para los Trabajos Originales, Revisiones, Reporte de Casos Clínicos y Comunicaciones Rápidas es realizado por al menos dos (2) expertos en el área. Los árbitros tienen un plazo de tiempo no mayor a 15 (quince) días hábiles para enviar su respuesta. Si las opiniones de dos de los árbitros coinciden, el Comité Editorial puede aceptar la respuesta de dos árbitros; en caso de discrepancia se pueden consultar árbitros adicionales. Las opiniones de los árbitros, así como la autoría de los trabajos, son estrictamente confidenciales. Los autores reciben las opiniones completas de los árbitros consultados. La Revista da un plazo no mayor a dos (2) meses a los autores, para responder punto por punto las opiniones de los árbitros y realizar las modificaciones sugeridas; estas últimas deben ser resaltadas en el texto a fin de facilitar la evaluación de los revisores. Si éstos toman más tiempo del estipulado el trabajo es rechazado o considerado como nuevo.

### Instructions for authors

The Journal will only allow original articles to be published, which have to relate with any aspect of biomedical sciences. Every research that wishes to be published first has to be sent to the magazine using the following email: [avanbiomed.idic@gmail.com](mailto:avanbiomed.idic@gmail.com); the work has to be distributed in four (4) different files, as follow:

- **Letter to the editor:** should provide authors name and email, manuscript title, short description of the article highlighting the obtained results, main points, kind of article (Review articles and state of the art, original articles, case reports, letters to the editor, Short communications, novel) and the area of research (Basics or Clinical Science)
- **Manuscript:** composed by the body work in the following order: first page with the title, authors with their institutional directions and information of correspondence of the author; second page with the abstract; third page with the abstract in Spanish, fourth page with the body work; references; and the last page with the figure legends properly identified. The article can be published in English as well as in Spanish. It must include the information of the corresponding author: complete address, phone number, fax number and email. The abstract and the Spanish abstract must have 250 words, including up to 10 keywords.
- **Tables:** which are numerated according to order of apparition in Arabic numbers, in simple layout (without color). Each one of the tables must have a proper, and if it's necessary, any commentaries must be added as a foot note of the same page. The measurement units and statistics have to be properly identified.
- **Figures:** in layout TIFF of 200 – 300 dpi on CMYK resolution (for printing). Each figure occupies one page of the file, and the legend of this must contained the manuscript.

The documents and the tables have to be sent as a file WORD 2003 compatible (.DOC). The figures must be sent as a file POWERPOINT 2003 (.PPT). In case of using figures, pictures or tables of a external source, must be accompanied by the authorization letter of use.

Types of publication and distribution:

- **Original article:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Introduction, Methodology, Results and Figure legends. Manuscript maximum number of words without references and abstract: 5.000. In Methodology, it must include an approbation clause for the committee of correspondent ethic when it applies. Figures or pictures: Up to 5. Table: 3.
- **Review articles and state of the art:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Manuscript, Summary, Acknowledgments, References and Figures legend. Manuscript maximum words without references: 5.000. Maximum of 5 figures and pictures and 2 tables.
- **Case reports:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Introduction; Clinic case, Discussion, Acknowledgment, References; Figure legends. The Methodology, most include the approbation clause from the correspondent ethic committee. The Manuscript maximum word numbers without references and abstract: 3.000. Maximum of 2 figures and pictures and 1 table. Pictures of the patient with face edition will be accepted (píxeled or with black bars covering the eyes).
- **Short communications:** the first page should include the title in English and Spanish (not to exceed 20 words), the running title (not to exceed 54 characters), the name of each author, each author's affiliation and the correspondence authors, Abstract in English and Spanish and keywords (max 10), Introduction, Results, Discussion;

Methodology, Acknowledgement, References and Figure Legends. The Manuscript maximum word numbers without references and abstract: 3000. The Methodology must include an approbation clause from the correspondent ethic committee. Up to 3 figures or pictures and one table.

- **Letters to the editor** Manuscript maximum words: 1.000; and references.

#### References:

The Bibliographic references will be cited in order of apparition using Arabic numbers between parenthesis, for example: (1). The writing style should be according to the Vancouver Format having in consideration that it must include every author. The journal name should be abbreviated according to the system adopted by Index Medicus. For example

#### Journals:

1. Pettersen FO, Torheim EA, Dahm AE, Aaberge IS, Lind A, Holm M. An exploratory trial of cyclooxygenase type 2 inhibitor in HIV-1 infection. *J Virol* 2011; 85:6557-66.

#### Books:

2. Berrueta L, Goncalves L, Salmen S. Respuesta inmune frente a virus, 1era Ed. Mérida: CODEPRE-ULA, 2005.

#### Web site:

3. McCook A. Pre-diabetic condition linked to memory loss [internet]. 2010 [cited 2010 Apr 14]. Available from: <http://prevnt.com/ns.htm>.

### Author's declaration and Copyright transfer

The authors of a accepted manuscript for publication in this journal must access to the following links **Author's declaration** and **copyright transfer** to download the Word format. All authors must sign the author's declaration to confirm its originality, their participation in the elaboration process, the ethic conditions of the work, financing, and that it hasn't been published elsewhere. The copyright transfer must be signed for the corresponding author. The documents must be filled, signed and sent to the journal via email: [avanbiomed.idic@ula.ve](mailto:avanbiomed.idic@ula.ve) or [avanbiomed.idic@gmail.com](mailto:avanbiomed.idic@gmail.com).

### Arbitrage system

Every article that wishes to be published in the journal must be sent by the arbitrage and has to have the minimum editorial requirement, so that in a first phase, the manuscripts will be reviewed by the editorial committee to establish if is within the scope and fulfills with the standards of the journal. Once approved by the editorial board, the manuscript will be sent to external reviewers with expertise in the area, who anonymously determine if the manuscript is: 1) accepted without corrections, 2) acceptable with minor corrections, 3) acceptable with major corrections and warrants further evaluation by the reviewer or 4) rejected. Arbitration to the original papers, reviews, reports of clinical cases and rapid communication is performed by at least two (2) experts in the area. The arbitrage for the Original Article, Revisions for the clinical cases and fast communications will be done by at least 2 experts in the area. The arbiters will have a period of time of 15 working days to send their response. If the opinions of two of them matches, the Committee Editorial may accept the response of two arbitrators, in case of discrepancy, it may need to consult additional referees. The opinions of the referees and authorship of the work are strictly confidential. The authors will receive full views of the referees consulted. The journal will provide two (2) months for the authors to reply to the referees acknowledgement and make the suggested changes, that must be highlighted on the text in order to facilitate the assessment of the reviewers. If they take longer than stated, the work will be rejected or considered new.

Avances en Biomedicina se asegurará de que los editores, revisores y autores sigan rigurosamente las normas éticas internacionales durante el proceso de arbitraje y publicación.

Avances en Biomedicina sigue el Código de normas de conductas éticas: [Code of Conduct | Committee on Publication Ethics: COPE](#) publicado por el Comité de Ética para las Publicaciones científicas.

Todos los trabajos que no estén acordes con estas normas, y si se revela mala praxis en cualquier momento, incluso después de la publicación, serán eliminados de la revista. Los manuscritos sometidos a Avances en Biomedicina serán sometidos a un proceso de revisión por pares doble ciego y de verificación por plagio, fabricación de resultados, falsificación (manipulación de los datos existentes de investigación, tablas o imágenes) y la utilización indebida de personas o animales en la investigación. Avances en Biomedicina se reserva el derecho a utilizar en cualquier fase del proceso de publicación software de detección de plagio para evaluar los documentos sometidos y publicados.

De conformidad con estas normas:

**Los editores deben:** 1) Utilizar métodos de revisión por pares que mejor se adapte a la revista y la comunidad de investigación. 2) Asegurarse de que todos los manuscritos publicados han sido revisados por evaluadores calificados. 3) Alentar la originalidad de las propuestas y estar atentos a la publicación redundante y plagios. 4) Asegúrese de seleccionar revisores apropiados. 5) Alentar a los revisores que comentan sobre las cuestiones éticas y la posible mala conducta de investigación planteado por las presentaciones. 6) Publicar instrucciones a los autores claras. 7) Fomentar un comportamiento responsable y desalentar la mala praxis.

**Los autores deben:** 1) Plantearse trabajos conducidos de una manera ética y responsable, y debe cumplir con todas las normativas

vigentes. 2) Presentar sus resultados de forma clara, honesta y sin falsificación o manipulación. 3) Describir los métodos de manera clara para que sus resultados pueden ser reproducidos por otros investigadores. 4) Cumplir con el requisito de que el trabajo presentado es original, no es plagiado, y no ha sido publicado en otra revista. 5) Asumir la responsabilidad colectiva de los trabajos presentados y publicados. 6) Divulgar las fuentes de financiación y los conflictos de interés pertinentes cuando existe.

**Los revisores deben:** 1) Informar a los editores de la posible mentira, la falsificación, la mala praxis o la manipulación inapropiada de los resultados. 2) Argumentar con precisión las razones por las cuales se rechazó un manuscrito. 3) Cumplir con los tiempos acordados para la entrega de las revisiones. 4) Llevar a cabo revisiones objetiva, evitando críticas personales al autor. 5) Identificar y proponer las publicaciones clave de la investigación no citados por los autores.

## Publication Ethics & Malpractice Statement

Advances in Biomedicine will ensure that editors, reviewers and authors strictly follow international ethical standards during the peer-reviewed and publication process.

Advances in Biomedicine follows the code of ethical conduct rules: [Code of Conduct | Committee on Publication Ethics: COPE](#): published by the Ethics Committee for Scientific Publications.

All work not in accordance with these rules, and if malpractice is revealed at any time, even after the publication will be removed from the journal. Manuscripts submitted to Advances in Biomedicine will undergo a double-blind peer review process, check for plagiarism, fabrication of results, falsification (manipulating existing research data, tables or pictures) and misuse of people or animals in research. Advances in Biomedicine reserves the right to use at any stage of the publishing process software to detect plagiarism.

In accordance with these rules:

**Editors must:** 1) Using peer review methods best suited to the journal and the research community. 2) Ensure that all manuscripts are revised by qualified and appropriate reviewers. 3) Encourage the originality of the proposals and be aware of plagiarism and redundant publication. 4) Encourage reviewers to comment on the ethical issues and possible research misconduct raised by the presentations. 5) Publish clear instructions for authors. 7) Encourage responsible behavior and discourage malpractice.

**Authors must:** 1) Conducted work with ethical and responsibility, and shall comply with all regulations. 2) Present results clearly, honestly and without falsification or manipulation. 3) Describe the methods clearly so that their results can be reproduced by other researchers.

4) Meet the requirement that the work submitted is original, not plagiarized, and has not been published in another journal. 5) Assume collective responsibility of the papers presented and published. 6) Disclose the sources of funding and conflicts of interest relevant when there.

**Reviewers must:** 1) Inform the editors of the possible fabrication, falsification, malpractice or improper handling of the results. 2) Arguing precisely why a manuscript was rejected. 3) Comply with the agreed time for delivery of reviews. 4) Undertake reviews objective, avoiding personal criticism to the author. 5) Identify and propose key research publications not cited by the authors.



## Tabla de contenido

### EDITORIAL

- 50 **Venezuela: país potencia**  
*Jesús Alfonso Osuna C*

### ARTÍCULOS ORIGINALES

- 51-56 **Concentraciones plasmáticas de cortisol materno secundarias al uso de betametasona para la maduración pulmonar fetal**  
*Maternal plasma cortisol concentrations secondary to betamethasone use for fetal lung maturity*  
*Keibis Jiménez-Castillejo, Yolima Ruiz-Lopez, Eduardo Reyna-Villasmil, Duly Torres- Cepeda, Joel Santos-Bolívar, Jhoan Aragón-Charris, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil*
- 57-64 **Riesgo de transmisión de Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Mérida Venezuela**  
*Transmission risk of Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in Mérida state Venezuela*  
*Elsa Nieves, Luzmary Oraá, Yorfer Rondón, Mireya Sánchez, Yetsenia Sánchez, Maria Rujano, Maritza Rondón, Masyelly Rojas, Nestor Gonzalez, Dalmiro Cazorla*
- 65-75 **Dinamic changes of pro-inflammatory cytokines, adhesion molecules and lymphocytes activation markers as early indicators of diseases severity in patients with Dengue**  
*Cambios dinámicos de citoquinas proinflamatorias, moléculas de adhesión y marcadores de activación linfocítica como indicadores tempranos de severidad en pacientes con Dengue*  
*Silvana Vielma, María Odreman-Macchioli, Saberio Pérez, Noraida Mosqueda, Guillermo Comach, Luis Téllez, José Mendoza*
- 76-83 **Factor de crecimiento vascular endotelial total y Doppler de las arterias uterinas en preeclámpticas y embarazadas normotensas sanas**  
*Total vascular endothelial growth factor and Doppler of uterine arteries in preeclamptic patients and healthy normotensive pregnant women*  
*Eduardo Reyna-Villasmil, Jorly Mejia-Montilla, Joel Santos-Bolívar, Duly Torres-Cepeda, Yolimar Navarro-Briceño, Nadia Reyna-Villasmil, Ismael Suarez-Torres*

### REVISIONES Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

- 84-92 **Role of Free Radicals, Oxidative Stress and Xenobiotics in Carcinogenesis by Environmental Pollutants**  
*Papel de los radicales libres, estrés oxidativo y xenobioticos en la carcinogénesis por contaminación ambiental*  
*Dibyajyoti Saha*



## CASOS CLÍNICOS

- 93-97 **Leiomioma perianal. Reporte de un caso.**  
*Perianal leiomyoma. A case report*  
Yorlenis C Uzcátegui R, Ángel A Rodríguez U; Luigi R Flores; Rafael E Colina S, Hansely Arcos O, Gery Ruiz C, Henry Ramírez, Humberto Ruz
- 98-101 **Lesión de paladar duro por uso crónico de cocaína. Reporte de un caso**  
*Hard palate lesion due to chronic cocaine use. Report of a case*  
José Luis D'Addino, María Mercedes Pigni, Silvia Venegas
- 102-109 **Linfoma de células B de la zona marginal extraganglionar del tejido linfoide asociado a mucosa (linfoma MALT) de pulmón.**  
*Extranodal marginal zone B-cell lymphoma of pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)*  
Carlos Vergara-Uzcátegui, Melizabeth Ruiz
- 110-115 **Esthesioneuroblastoma, una tumoración poco frecuente. A propósito de un caso**  
*Esthesioneuroblastoma, a rare tumor. A case report*  
Ángel A Rodríguez U, Hansely K Arcos O, Daniel A Ascue G, Saúl A Moreno D, Adán A Muñoz R, Gery R Ruiz C, Helen D Uzcátegui C, Yorlenis C Uzcátegui R, José Plaza, Roger Velazco, Pedro Smith
- 116 **INSTRUCCIONES A LOS AUTORES**
- 117 **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**
- 118-119 **ÉTICA DE LAS PUBLICACIONES & DECLARACIÓN DE MALA PRAXIS/ PUBLICATION ETHICS & MALPRACTICE STATEMENT**