Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor /
Copyright

Contacto/Contact:

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:1-100

Enero - Abril 2006 / January - April 2006

EDITORIAL / EDITORIAL

3-7.- LEPTIN, OBESITY AND CONTROL OF BREATHING : THE NEW AVENTURES OF MR PICKWICK

8-12.- LEPTINA, OBESIDAD Y CONTROL VENTILATORIO: LAS NUEVAS AVENTURAS DE MR PICKWICK
Claudio Rabec, MD FCCP.
Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire. Centre Hospitalier et Universitaire de Dijon. Dijon, France

ORIGINALS / ORIGINALES

13-18.- GENOTYPES OF THE *HELICOBACTER PYLORI* ISOLATES AND THE IL-1 GENES IN KAZAN CITIZENS (KAZAN, RUSSIA) WITH GASTRIC AND DUODENAL ULCER.
Olga A. Chernova, Elmira R. Nasybullina, Vladislav M. Chernov, Oleg V. Gorshkov, Gulnara F. Shaimordanova, Rustem A. Abdulhakov, Maxim V. Trushin
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics and Kazan State Medical University, Kazan, Russia.

19-25.- IMPLEMENTACIÓN DE SERVICIOS DE ATENCIÓN FARMACÉUTICA EN TRES CENTROS COMUNITARIOS DE SALUD DE LOS ÁNGELES: RESULTADOS PRELIMINARES
Olaf Domínguez, Steven Chen, Kathleen A. Johnson, B. Elizabeth Cervantes, Melvin Baron.
Facultad de Farmacia, Universidad de Southern California; JWCH Institute Inc. South Central Family Health Center. To Help Everyone Clinic. JWCH Institute at Weingart. Los Angeles. USA

26-32.- EVOLUTION OF HIV-1 VIRAL LOAD IN PATIENTS FOLLOWED-UP FOR OVER 3 YEARS
JM. Eiros, MP. Ortega, A. Mayo, C. Labayru, R. Ortiz de Lejarazu
Microbiology Department of Clinic University Hospital of Valladolid, Faculty of Medicine, and Microbiology Service of "Pio del Río Hortega" Hospital Valladolid. Spain.

33-41.- L-CARNITINE-INDUCED MODULATION OF PLASMA FATTY ACIDS METABOLISM IN HYPERLIPIDEMIC RABBITS
Maritza F. Diaz Gómez, Julio A. Urbina, Flor López, Frank Hernández Rosales
Ozone Research Center, National Center for Scientific Research. Havana, Cuba. Venezuelan Institute for Scientific Research. Caracas. Venezuela

42-46.- A SIMPLE METHOD FOR ISOLATION OF SOME BACILLUS STRAINS WITH AN EXPRESSED ANTI-CANCER ACTIVITY
Sergey V. Malkov, Vladimir V. Markelov, Gleb Y. Polozov, Boris I. Barabanschikov, Larisa I. Sobchuk, Alexandr Y. Kozhevnikov, Francesco Marotta, Maxim V. Trushin.
Kazan State University, Department of Genetics; Kazan Municipal Rehabilitation Medical Health Center "Sanatorium Krutushka"; Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics. Kazan, Russia. Hepato-Gastroenterology Department, S. Giuseppe Hospital. Milan, Italy

CASE REPORTS / CASOS CLÍNICOS

47-51.- ACUTE RENAL FAILURE WITH NORMAL PLASMA UREA LEVEL SECONDARY TO ACUTE PYELONEPHITIS IN A SINGLE KIDNEY PATIENT

52-56.- INSUFICIENCIA RENAL AGUDA CON UREMIA NORMAL EN PACIENTE MONO-RENO SECUNDARIA A PIELONEFRITIS AGUDA
Musso CG, Vilas M, Fernandez Otero L, Jauregui R, Imperiali N, Algranati L.
Servicio de Nefrología y Centro Medico Agustin Rocca. Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina

57-62.- COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA SECUNDARIA A ANEURISMA AÓRTICO DIAGNOSTICADA TRAS EXTRACCIÓN DENTAL.
Beatriz Cuevas Ruiz, Blanca de la Nogal Fernández, Mª Victoria Cuevas Ruiz
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Servicio de Farmacia. Hospital General Yagüe. Burgos. España

INTERNET REVIEWS / REVISIONES EN INTERNET

63-75.- ACTUACIÓN DOMICILIARIA EN EL SINDROME DE APNEAS/HIPOPNEAS DURANTE EL SUEÑO (SAHS): DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO.

76-87.- SLEEP APNEA/HIPOPNEA SYNDROME (SAHS): HOME DIAGNOSIS AND TREATMENT
M. Luz Alonso Álvarez, Joaquín Terán Santos, José Cordero Guevara, María Jesús Coma del Corral, Estrella Ordax Carbajo.
Sleep Disorders Breathing Unit and Investigation Unit, Hospital General Yagüe. Burgos. España

88-99.- ESTUDIO DE MARCADORES BIOLOGICOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
A. San Miguel, M.J. Rodríguez-Barbero, R. San Miguel, N. Alonso, B. Calvo, FJ Martín-Gil.
Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Rio Hortega. Valladolid. España

LETTERS TO THE EDITOR / CARTAS AL EDITOR

100.- SOBRE LA ATENCIÓN FARMACÉUTICA EN USA
Pedro del Río Pérez
Farmacéutico Comunitario. La Quintana de Rueda. León. España
RESPUESTA
Olaf Domínguez. Farmacéutico Clínico. JWCH Institute Inc. Facultad de Farmacia, Universidad de Southern California

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:3-7

Editorial:

LEPTIN, OBESITY AND CONTROL OF BREATHING : THE NEW AVENTURES OF MR PICKWICK

Claudio Rabec, MD FCCP.

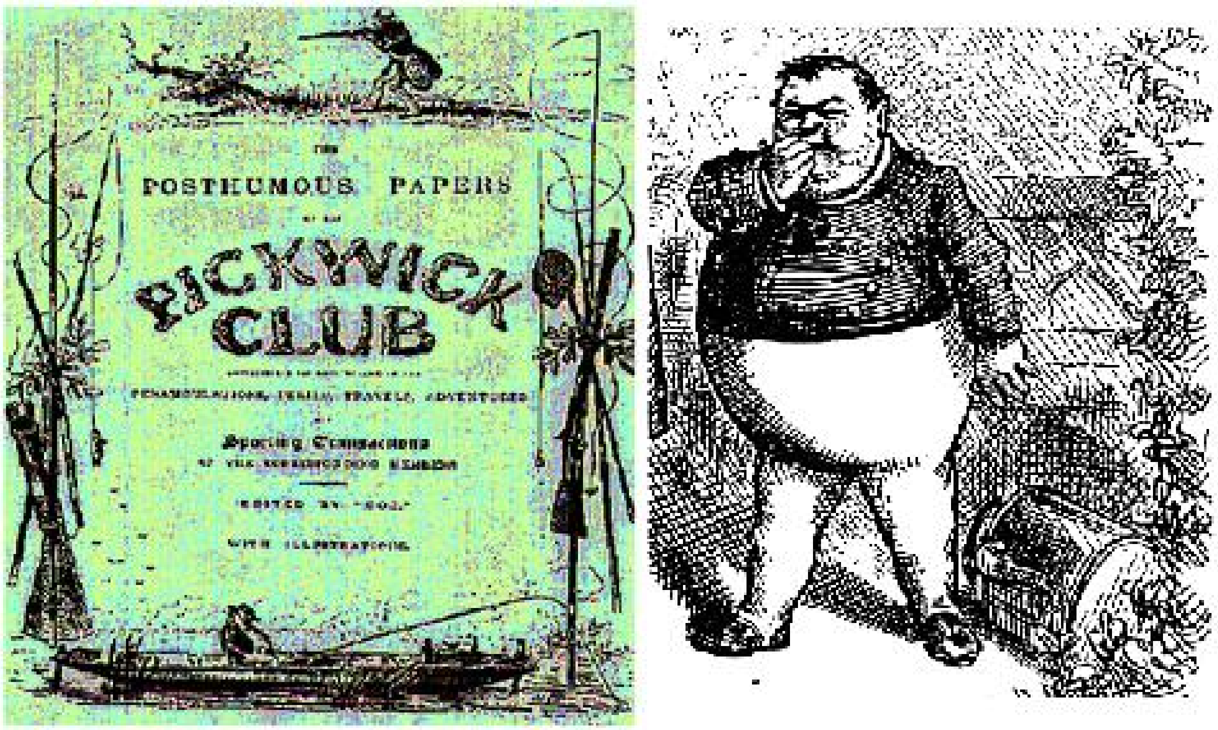
Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire.
Centre Hospitalier et Universitaire de Dijon. France

claudio.rabec @ chu-dijon.fr

".... and on the box sat a fat and re-faced boy, in a state of somnolency....the fat boy rose, opened his eyes, swallowed a hugh piece of pie he had been in the act of masticating when he fell asleep....Joe-dams the boy he's gone to sleep again."
The posthumous paper of the Pickwick Club, Charles Dickens 1836

Spanish version

There are just two decades that respiratory disorders linked to obesity began to take an important place in medical publications. Nevetheless, fiction literature has largely anticipate (once again...) science: already in 1836, Charles Dickens drew in his novel "The posthumous paper of the Pickwick Club"[1] what would be, certainly, the best characterization of an obese subject with respiratory disorders.



Front wrapper from «The posthumous paper of the Pickwick Club» by Charles Dickens and drawn of Joe

It was necessary to wait more than 150 years so that Bickelmann et al[2]found a patophysiological explanation to the "phenotype" of Joe, "this fat red-faced boy, that snores as his wait at table, becomes easily asleep and then stop to breath", when they described apneas and alveolar hypoventilation in these subjects.

The link between obesity and respiratory failure is not fortuitous. Obesity, well known as a cardiovascular risk factor is also a "respiratory" risk factor. The respiratory consequences of obesity aggravated if patient suffers also of sleep apnea or COPD, may explain the occurence of life-threatening respiratory failure.

Moreover, in our modern society with 20-30% of the adult population be diagnosed with obesity, with a growing prevalence of this condition [3, 4] we can easily understand the more and more important place of obesity within the causes of respiratory failure.

Even though respiratory impact of obesity is evident[5] pathophysiological mechanims that may explain the developpement of hypercapnia in the obese population are nowadays no clear. Leptin, a recently described protein, may put some light in this darkness.

Leptin (from the greek leptos: thin) is an endogene proteine described as an adipose-derived hormone. Leptin receptors are founded in the hipothalamus and several physiological actions were described for this hormone 6,7. Amongst them, it must be underlined its role in the angiogenesis, in vascular tone regulation and autonomous nervous system control, in pituitary-adrenal axis supression and also a potential role in the hypothalamic amenorrhea syndrome. But its main action seems to be its participation in the metabolic regulation of body weight. In this context, circulating plasma leptin levels reflect the amount of energy storage and increases exponentially with increasing fat mass8. This hormons may acts then as a negative feed-back system by activating specific receptors associated with apetite supression and increased energy expenditure [6, 7]. Amongst them, it must be underlined its role in the angiogenesis, in vascular tone regulation and autonomous nervous system control, in pituitary-adrenal axis supression and also a potential role in the hypothalamic amenorrhea syndrome. But its main action seems to be its participation in the metabolic regulation of body weight. In this context, circulating plasma leptin levels reflect the amount of energy storage and increases exponentially with increasing fat mass[8]. This hormons may acts then as a negative feed-back system by activating specific receptors associated with apetite supression and increased energy expenditure[6].

Recent investigations suggested also, a responsability of leptin in control of breathing, in particular in the obese population.

First evidences of this relationship were suggested by studies in animal odels which lack the gene responsible for production of leptin. These animals show marked abnormalities in breathing control that lead to chronic respiratory failure. This breathing control dysfunction is aggravated during sleep, mainly during REM period. Event though these animals developped also obesity as a consequence of leptin deficiency, respiratory dysfunction appeared earlier and seems to be independent of that[9]. On the other hand, even though obesity superimposed-increase in thoraco-abdominal mechanical load may aggravate by itself the ventilatory failure, these animals show also some modifications in myosine heavy chain composition that lead diaphragme less resistant to fatigue developpement. This may explain, at less partially, the typical reduction in total lung capacity and compliance found in obesity and the propensity of this population to develop hypercapnia[10]. These modifications didn't appear in animals free of leptin pathway abnormalities and in which obesity was induced artificially. Finally, these abnormalities, which are characteristics in the human of the so called obesity hypoventilation syndrome (OHS), reversed after leptin replacement therapy[10].

It seems fascinating to extend this hypothesis to the human, so that leptin may acts by stimulating ventilatoy drive in response to an increase in the ventilatory load, typical of obesity and that, in this context, leptin deficiency may lead to OHS. Then, if obesity is considered as a necessary but no as a sufficient condition to hypoventilate, a deficiency of this hormone may explain the abnormal ventilatory comportment in the obese subgroup that develop hypercapnia. Nevertheless, in the human being the situation seems to be more complex: if in the animal model, a narrow correlation exists between leptin low levels and propension to obesity and ventilatory failure, in the human, this relationship is variable. Generally, leptin deficiency in human obesity is extremely rare and on the contrary, circulating leptin levels are high. We could characterize then, human obesity as a true leptin-resistant state[11]. Given that leptin ventilatory effects were mediated by its hypothalamic recceptors, we could speculate that this leptin-resistant state may be explained by two differente mechanims: first to an impaired transport across the blood-brain barrier and second to an impairement in central leptin signaling (i.e down-regulation of leptin receptors)[12]. Supporting the first hypothesis, it has been demonstrated leptin-specific binding sites in the

choroid plexus[13] that may act as leptin carriers through the blood-brain barrier. In this context, it was also showed a negative correlation between the CSF/serum leptin ratio and body mass index (BMI)[14], This finding suggest that leptin enters the brain by a saturable transport system. As the capacity of leptin transport is lower in obese individuals, this may provide an explanation to leptin resistance.

Some published evidences reinforce the relationship between leptin and ventilatory comportment in obesity:

- **Circulating leptin levels is a better predictor of OHS than BMI itself[15] and those independently of apnea hypopnea index**
- **Non invasive ventilation (NIV) used regularly, reduces serum leptin levels in OHS. In this context, reversal of hypoventilation obtained by NIV, may reduce the "need" of high leptin levels to fight against the increased ventilatory load in obesity[16]**

This suggest that CNS-leptin levels may act to mantain alveolar ventilation to compensate for the increased ventilatory load in obesity, and that abnormalities in the leptin metabolic pathway may explain whether, at same ventilatory load, some obese hypoventilate but others not.

Obstructive sleep apnea (OSA) is another respiratory condition associated to obesity. Prevalence of obesity in OSA population varies from 40 to 70% according to different authors[17]. There are also several evidences concerning the relationship between leptin and OSA. Among them, it must be underlined:

- **Intermittent hypoxia, that characterizes sleep apnea, is a main determinant of circulating leptin levels and those independently of the degree of obesity[18, 19]**
- **OSA patients have higher leptin levels than non-OSA ones when compared relative to BMI[20] Moreover leptin levels correlate with severity of OSA mesured by apnea hypopnea index[21]**
- **High leptin levels seems to favor increased visceral fat accumulation. One of the main characteristics of visceral obesity is the increased deposition of fat or soft tissue in the neck and upper airway region. This may predispose the subject to upper airway collapse, that characterizes OSA[21]. For case, it must be emphasized that obesity type (i.e centripetal obesity) and, in particular, neck circumference predicted better presence of OSA that BMI itself [22].**
- **CPAP therapy in OSA reduces circulating leptin levels[23] I was also described that regular use of CPAP may lead to a reduction in visceral fat deposition in OSA patients [24].**

Furthermore, OSA is one of the main determinants of hypoventilation in obese individuals[25]. In this way, leptin levels, were significtively higher in hypercapnic OSA when compared to no hypercapnic ones and those independently of BMI[26].

All these findings reinforced the importance of leptin-pathway abnormalities (and in particular of a leptin-resistant state) in the pathophysiology of the two most relevant obesity-associated respiratory diseases, and the probable role of these abnormalities as a link between these two conditions (i.e by promoting hypercapnia in OSA patients)

These complex interactions lead to envisage a sort of vicious cercle in which leptin plays a role crucial (Figure 1)

Then, we can propose the hypothesis that obese humans may be at risk for developping respiratory abnormalities in two specific situations: the rare cases of patients with "true" leptin deficiency (with low plasma and CSF leptin levels) and the much more frequent scenario of those with a leptin-resistant state (with plasma levels high but CSF levels proportionately low)

In conclusion, besides of its known role in regulating body weight and energy expenditure, leptin seems to have miscellaneous effects on respiratory function in obesity. Its stimulatory action on respiratory control center seems to be a protective mechanism against respiratory complications in obesity. The leptin-resistant state, that characterize a particular subgroup of obese patients, seems to play an important role in known obese-associated ventilatory disorders such as OSA and OHS. These findings open a fascinating way: the future potential of using soluble leptin analogues (that may penetrate the CSF barrier), in the management of obesity-associated respiratory disorders. If this hypothesis will be confirmed, scientists will advance the first victory against the imaginative fictions sustained by the followers of the Pickwick's Club father.

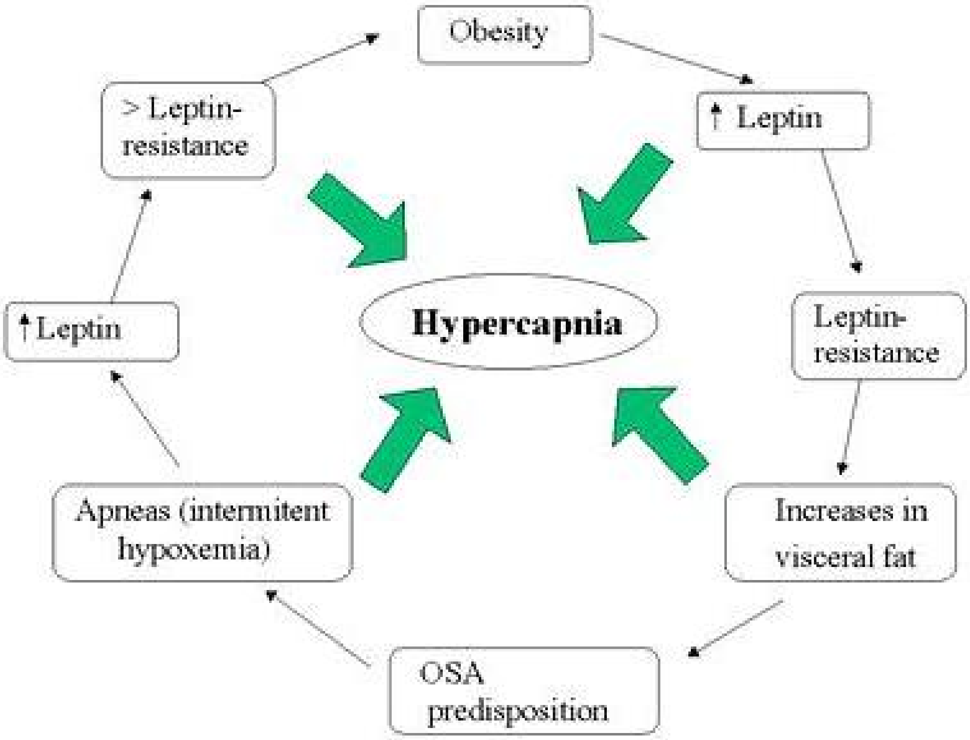


Figure 1: Obesity and respiratory disturbances: leptin's place

---

References

1.- Dickens C. The posthumous paper of the Pickwick Club. London: Chapman and Hall, 1836

2.- Bickelmann AG, Burwell CS, Robin ED, et al. Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation; a Pickwickian syndrome. Am J Med 1956; 21:811-818

3.- Fry J, Finley W. The prevalence and costs of obesity in the EU. Proc Nutr Soc 2005; 64:359-362

4.- Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, et al. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. Jama 2004; 291:2847-2850

5.- Rabec C, Merati M, Baudouin N, et al. Management of obesity and respiratory insufficiency. The value of dual-level pressure nasal ventilation. Rev Mal Respir 1998; 15:269-278

6.- Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. Ann Intern Med 1999; 130:671-680

7.- O'Donnell CP, Tankersley CG, Polotsky VP, et al. Leptin, obesity, and respiratory function. Respir Physiol 2000; 119:163-170

8.- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med 1996; 334:292-295

9.- Tankersley C, Kleeberger S, Russ B, et al. Modified control of breathing in genetically obese (ob/ob) mice. J Appl Physiol 1996; 81:716-723

10.- Tankersley CG, O'Donnell C, Daood MJ, et al. Leptin attenuates respiratory complications associated with the obese phenotype. J Appl Physiol 1998; 85:2261-2269

11.- Atwood CW. Sleep-related hypoventilation: the evolving role of leptin. Chest 2005; 128:1079-1081

12.- Polotsky VY, Wilson JA, Smaldone MC, et al. Female gender exacerbates respiratory depression in leptin-deficient obesity. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164:1470-1475

13.- Malik KF, Young WS, 3rd. Localization of binding sites in the central nervous system for leptin (OB protein) in normal, obese (ob/ob), and diabetic (db/db) C57BL/6J mice. Endocrinology 1996; 137:1497-1500

14.- Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. Lancet 1996; 348:159-161

15.- Phipps PR, Starritt E, Caterson I, et al. Association of serum leptin with hypoventilation in human obesity. Thorax 2002; 57:75-76

16.- Yee BJ, Cheung J, Phipps P, et al. Treatment of Obesity Hypoventilation Syndrome and Serum Leptin. Respiration 2005

17.- Laaban JP, Cassuto D, Orvoen-Frija E, et al. Respiratory complications of massive obesity. Rev Prat 1992; 42:469-476

18.- Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, et al. Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. J Physiol 2003; 552:253-264

19.- Sanner BM, Kollhosser P, Buechner N, et al. Influence of treatment on leptin levels in patients with obstructive sleep apnoea. Eur Respir J 2004; 23:601-604

20.- Tatsumi K, Kasahara Y, Kurosu K, et al. Sleep oxygen desaturation and circulating leptin in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. Chest 2005; 127:716-721

21.- Ulukavak Ciftci T, Kokturk O, Bukan N, et al. Leptin and ghrelin levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome. Respiration 2005; 72:395-401

22.- Young T, Palta M, Dempsey J, et al. The Occurrence of Sleep-Disordered Breathing among Middle-Aged Adults. N Engl J Med 1993; 328:1230-1235

23.- Ip MSM, Lam KSL, Ho C-m, et al. Serum Leptin and Vascular Risk Factors in Obstructive Sleep Apnea. Chest 2000; 118:580-586

24.- Chin K, Shimizu K, Nakamura T, et al. Changes in Intra-Abdominal Visceral Fat and Serum Leptin Levels in Patients With Obstructive Sleep Apnea Syndrome Following Nasal Continuous Positive Airway Pressure Therapy. Circulation 1999; 100:706-712

25.- Jeannin L, Rabec C. La fonction respiratoire de l'obèse. Rev Prat 1997; 11:35-38

26.- Shimura R, Tatsumi K, Nakamura A, et al. Fat Accumulation, Leptin, and Hypercapnia in Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome. Chest 2005; 127:543-549

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:8-12

Editorial:

LEPTINA, OBESIDAD Y CONTROL VENTILATORIO: LAS NUEVAS AVENTURAS DE MR PICKWICK

Claudio Rabec, MD FCCP.

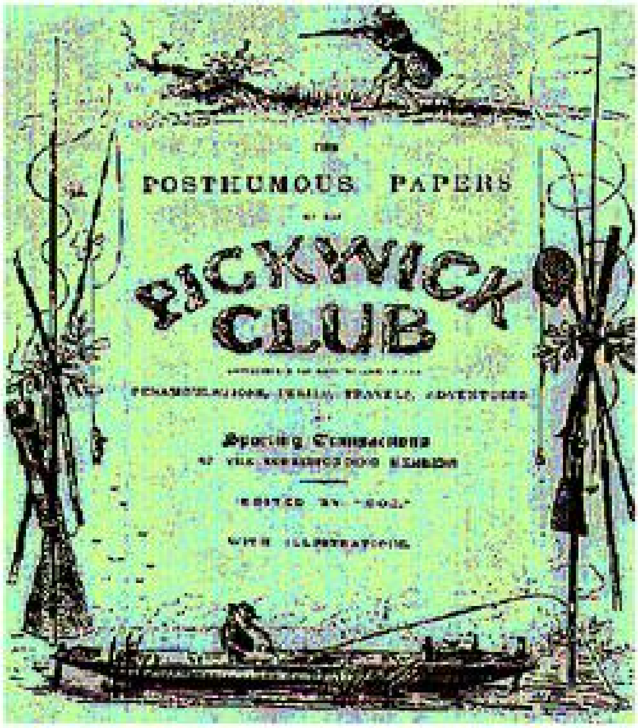
**Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire.
Centre Hospitalier et Universitaire de Dijon. France**

claudio.rabec @ chu-dijon.fr

> "…. and on the box sat a fat and re-faced boy, in a state of somnolency....the fat boy rose, opened his eyes, swallowed a hugh piece of pie he had been in the act of masticating when he fell asleep....Joe-dams the boy he's gone to sleep again."
> *The posthumous paper of the Pickwick Club, Charles Dickens 1836*

English version

Hace sólo un par de décadas que las complicaciones respiratorias vinculadas a la obesidad han comenzado a ocupar un espacio importante en las publicaciones médicas. Sin embargo, la literatura de ficción se anticiparía (una vez más...) a la ciencia: ya en 1836, Charles Dickens nos presentaría en su folletín "The posthumous paper of the Pickwick Club"[1] la que sería, sin duda, la mejor caracterización del individuo obeso con indudables problemas respiratorios.



Portada de «The posthumous paper of the Pickwick Club» de Charles Dickens y primer plano de Joe

Debieron pasar mas de 150 años para que Bickelmann y cols[2] encontraran una explicación fisiopatológica al fenotipo de Joe, ese "niño obeso, rosado y roncador con la respiración entrecortada, eternamente somnoliento", al describir la presencia de apneas e hipoventilación alveolar en ese tipo de individuos.

La asociación obesidad-insuficiencia respiratoria no es fortuita. La obesidad, bien conocida como factor de riesgo cardiovascular, es también un "factor de riesgo" respiratorio. Las consecuencias respiratorias de dicha obesidad, agravadas en presencia de un síndrome de apnea del sueño o de una enfermedad pulmonar obstructiva crónica, pueden ser la causa de una insuficiencia respiratoria que puede amenazar el pronóstico vital de estos pacientes.

Mas aún, en una sociedad con 20-30% de la población adulta obesa, con una prevalencia de dicha condición en franco aumento[3, 4] entendemos fácilmente el rol creciente de la obesidad dentro de las causas de insuficiencia respiratoria.

Si bien la repercusión respiratoria de la obesidad es evidente[5] los mecanismos fisiopatológicos que explican el desarrollo de hipercapnia en un obeso, resultan al día de hoy poco claros. Una hormona descubierta recientemente, la leptina, podría poner algo de luz en tanta oscuridad.

La leptina (del griego leptos: delgado) es una proteina producida principalmente por el tejido adiposo. Los receptores a la leptina se encuentran en el hipotálamo y se le han atribuido acciones fisiológicas variadas que cruzan diversas disciplinas[6, 7]. Entre ellas, cabe destacar su rol en la angiogénesis, en la regulación del tono vascular y del sistema nervioso autónomo, en la supresión del eje pituitario-adrenal y en el síndrome amenorrea hipotalámico. Pero su rol principal parece encontrarse en la regulación metabólica del peso corporal. Los niveles plasmáticos de leptina correlacionan con la importancia de la masa adiposa[8] y esta hormona funcionaría en dicho contexto, como un sistema de contraregulación negativa, activando receptores específicos que disminuyen el apetito e incrementan el gasto energético[6].

Recientes investigaciones sugieren, además, un rol esencial de la leptina en el control de la ventilación, en especial en la población obesa

Las primeras evidencias de esta relación surgen de estudios en animales carentes genéticamente de leptina. Estos animales presentan anomalías marcadas del control ventilatorio que conllevan al desarrollo de insuficiencia respiratoria crónica. Esta disfunción del control ventilatorio se agrava durante el sueño y en particular durante el período REM. Si bien estos animales desarrollan obesidad como consecuencia de la carencia de leptina, la disfunción respiratoria parece independiente de ello[9]. Por otro lado, si bien las alteraciones mecánicas toracoabdominales impuestas por la obesidad pueden agravar per se el fallo ventilatorio, dichos animales presentan ademas una modificación en las características de la miosina, que hace al diafragma menos resistente a la fatiga. Ello puede explicar en parte la reducción de la capacidad pulmonar total y de la compliance típicos de la obesidad y favorecer la aparición de hipercapnia[10]. Todas estas modificaciones no aparecen en los animales sin déficit congénito de leptina y a los que se les induce una obesidad artificialmente. Estas anomalías, que son características en el humano del llamado sindrome obesidad-hipoventilación (SOH), son reversibles luego de terapia de reemplazo con leptina[10].

Hacer extensiva a la especie humana la hipótesis que la leptina actuaría estimulando el comando ventilatorio a nivel central en respuesta al incremento de la carga ventilatoria presente en el obeso, y que el déficit de leptina sería responsable del síndrome obesidad hipoventilación parece muy seductor. Asi, si la obesidad es considerada como una condición necesaria pero no suficiente para hipoventilar, un déficit de esta hormona podría ser la clave que explique el comportamiento ventilatorio anormal del subgrupo de obesos que desarrollan hipercapnia. Sin embargo, en el hombre la situación parece más compleja. Asi, si en el modelo animal, existe una estrecha correlación entre los niveles bajos de leptina y el desarrollo de obesidad e insuficiencia ventilatoria, en el humano, esta relación es variable. En general, en la obesidad humana el déficit de leptina es extremadamente raro y por el contrario, se constatan altos niveles circulantes de dicha hormona, pudiendo ello caracterizarse como un verdadero estado de resistencia a la leptina[11]. Dado que la acción ventilatoria de la leptina se ejerce a través de sus receptores hipotalámicos, se ha especulado a partir de estos hallazgos, que esta "resistencia a la leptina" podría deberse ya a una anomalía del transporte de leptina al SNC, ya a una alteración a nivel del receptor central[12]. A favor de la primera hipótesis, se han identificado ligandos a la leptina en los plexos coroideos[13] que actuarían como transportadores de leptina a través de la barrera hematoencefálica y ha sido demostrado que la proporción leptina LCR/plasma disminuye a medida que el IMC aumenta[14] , lo que abogaría en favor de una saturación del sistema de transporte a altos niveles de leptina circulante, explicando el fenómeno de resistencia.

Algunas evidencias de la literatura refuerzan la relación entre la leptina y el compromiso ventilatorio en la

obesidad

- **El nivel de leptina es mejor predictor de la presencia de SOH que el índice de masa corporal (IMC)[15] y esto es independiente de la presencia o no de apneas durante el sueño.**
- **Los niveles elevados de leptina en el SOH corrigen bajo tratamiento con ventilación no invasiva (VNI) a largo plazo. En este caso la reversión de la hipoventilación obtenido gracias a la VNI reduciría la "necesidad" de altos niveles de leptina para luchar contra la mayor carga ventilatoria[16]**

Las anomalias en la vía metabólica de la leptina explicarían entonces porque, a igual carga mecánica en el sistema ventilatorio, ciertos obesos hipoventilan y otros no.

Otra de las complicaciones respiratorias vinculadas a la obesidad es sin duda el síndrome de apnea del sueño (SAOS). La prevalencia de obesidad en los pacientes portadores de SAOS es de 40 a 70% segun las distintas series[17]. En este marco, existen tambien multiples evidencias de la relación entre la leptina y el SAOS. Entre ellas cabe señalar:

- **La hipoxemia intermitente es un potente estimulante de la liberación de leptina, independientemente del nivel de obesidad[18, 19]**
- **A igual peso corporal, los pacientes con SAOS tienen mayores niveles de leptina que los individuos sin SAOS[20] y los niveles de leptina correlacionan con la importancia del SAOS medido por el índice de apnea-hipopnea[21]**
- **Los niveles altos de leptina favorecerían la distribución centrípeta de la grasa corporal. Una de las características de esta distribución adiposa es el incremento del depósito graso en el cuello y en la región de la vía aerea, cuya acción mecánica, podría predisponer a los pacientes a la obstrucción de la vía aérea superior[21]. Para el caso, cabe recordar que el tipo de obesidad (en este caso centrípeta) y en especial la circunferencia del cuello son mejores predictores de la presencia de SAOS que el IMC[22].**
- **El tratamiento con CPAP reduce los niveles de leptina en los pacientes con SAOS[23] y se ha descripto también una reduccion del nivel de grasa visceral en dichos pacientes tras la corrección del SAOS[24].**

Por otro lado, la presencia de un SAOS, es uno de los elementos determinantes de la aparición de hipoventilación en el paciente obeso[25]. En este sentido, en el SAOS, los niveles de leptina estan significativamente más elevados en los pacientes hipercápnicos que en los no hipercapnicos, y esto independientemente del IMC[26].

Todos estos hallazgos refuerzan el hecho de que las anomalías en la vía de la leptina constituirían un elemento nexo entre las dos complicaciones respiratorias mas relevantes de estos pacientes pudiendo tratarse en ambos casos de condiciones asociadas a resistencia a la leptina.

Como consecuencia de estas interacciones, estariamos en presencia de una suerte de círculo vicioso donde la participación de la leptina seria crucial (Figura 1).

En el ser humano, podríamos aventurar entonces la hipótesis de dos tipos de obesos a riesgo de desarrollar anomalías respiratorias: los raros casos de pacientes con déficit "verdadero" de leptina (con niveles bajos en plasma y SNC) y aquellos, muchos mas frecuentes, con niveles altos de leptina en plasma pero proporcionalmente bajos en LCR.

En conclusión, además de su conocido rol regulador del peso corporal y el consumo energético, la leptina posee efectos variados sobre la función respiratoria. Su efecto estimulador de la ventilación parece ser un mecanismo protector de las complicaciones respiratorias vinculadas a la obesidad. El estado de leptino-resistencia característico de un grupo particular de pacientes obesos, parece jugar un rol fundamental en los desordenes de la ventilación vinculados a dicha condición tales como el SAOS y el SOH. Dichos hallazgos abren una fascinante vía: la del posible rol de potenciales análogos de la leptina capaces de atravesar la barrera hematoencefálica en el manejo de las consecuencias respiratorias de la obesidad. Si esta hipótesis se confirma, el persistente rigor de los científicos habría avanzado una primera victoria frente a las floridas ficciones de los creativos émulos del progenitor del Pickwick Club.

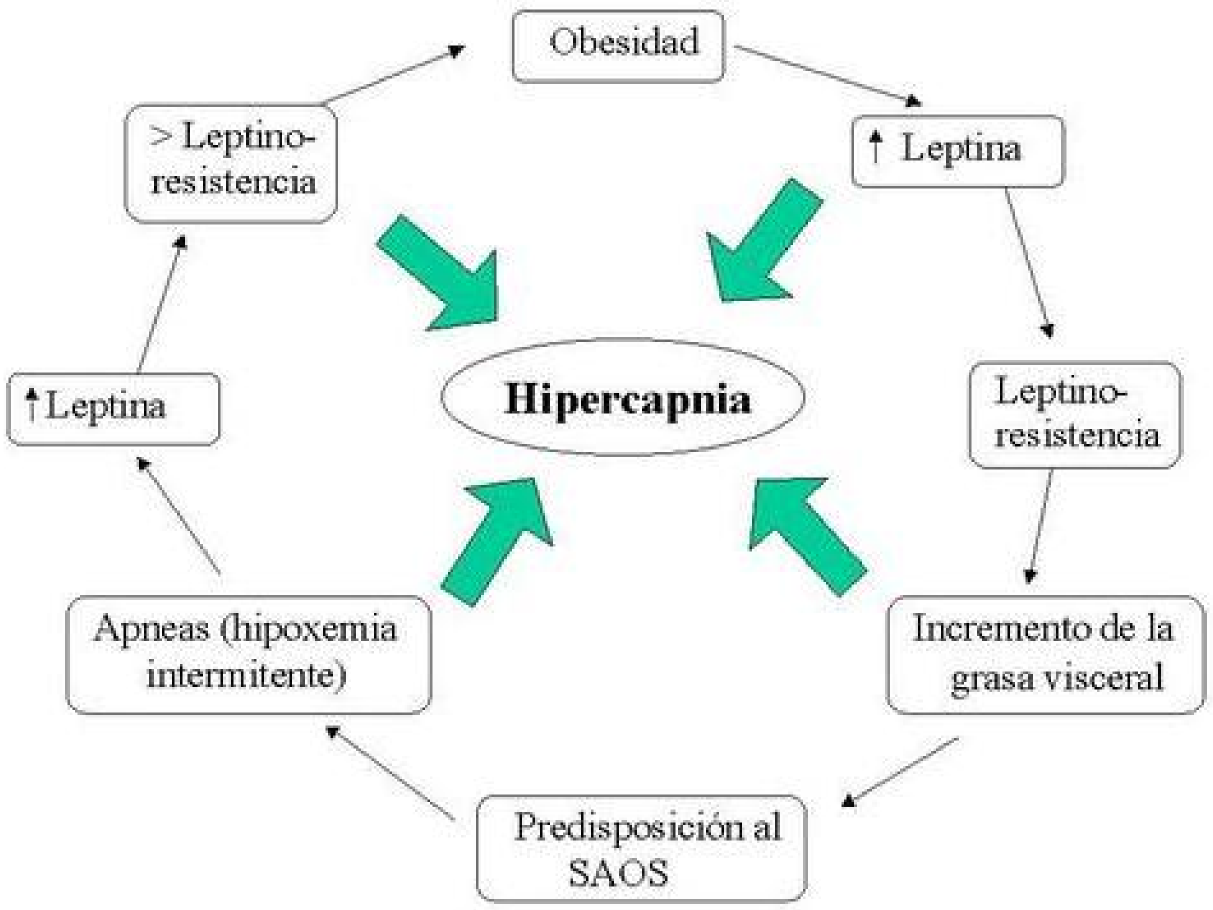


Fig 1: obesidad y anomalías ventilatorias: rol de la leptina

REFERENCIAS

1.- Dickens C. The posthumous paper of the Pickwick Club. London: Chapman and Hall, 1836

2.- Bickelmann AG, Burwell CS, Robin ED, et al. Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation; a Pickwickian syndrome. Am J Med 1956; 21:811-818

3.- Fry J, Finley W. The prevalence and costs of obesity in the EU. Proc Nutr Soc 2005; 64:359-362

4.- Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, et al. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. Jama 2004; 291:2847-2850

5.- Rabec C, Merati M, Baudouin N, et al. Management of obesity and respiratory insufficiency. The value of dual-level pressure nasal ventilation. Rev Mal Respir 1998; 15:269-278

6.- Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. Ann Intern Med 1999; 130:671-680

7.- O'Donnell CP, Tankersley CG, Polotsky VP, et al. Leptin, obesity, and respiratory function. Respir Physiol 2000; 119:163-170

8.- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med 1996; 334:292-295

9.- Tankersley C, Kleeberger S, Russ B, et al. Modified control of breathing in genetically obese (ob/ob) mice. J Appl Physiol 1996; 81:716-723

10.- Tankersley CG, O'Donnell C, Daood MJ, et al. Leptin attenuates respiratory complications associated with the obese phenotype. J Appl Physiol 1998; 85:2261-2269

11.- Atwood CW. Sleep-related hypoventilation: the evolving role of leptin. Chest 2005; 128:1079-1081

12.- Polotsky VY, Wilson JA, Smaldone MC, et al. Female gender exacerbates respiratory depression in leptin-deficient obesity. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164:1470-1475

13.- Malik KF, Young WS, 3rd. Localization of binding sites in the central nervous system for leptin (OB protein) in normal, obese (ob/ob), and diabetic (db/db) C57BL/6J mice. Endocrinology 1996; 137:1497-1500

14.- Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. Lancet 1996; 348:159-161

15.- Phipps PR, Starritt E, Caterson I, et al. Association of serum leptin with hypoventilation in human obesity. Thorax 2002; 57:75-76

16.- Yee BJ, Cheung J, Phipps P, et al. Treatment of Obesity Hypoventilation Syndrome and Serum Leptin. Respiration 2005

17.- Laaban JP, Cassuto D, Orvoen-Frija E, et al. Respiratory complications of massive obesity. Rev Prat 1992; 42:469-476

18.- Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, et al. Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. J Physiol 2003; 552:253-264

19.- Sanner BM, Kollhosser P, Buechner N, et al. Influence of treatment on leptin levels in patients with obstructive sleep apnoea. Eur Respir J 2004; 23:601-604

20.- Tatsumi K, Kasahara Y, Kurosu K, et al. Sleep oxygen desaturation and circulating leptin in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. Chest 2005; 127:716-721

21.- Ulukavak Ciftci T, Kokturk O, Bukan N, et al. Leptin and ghrelin levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome. Respiration 2005; 72:395-401

22.- Young T, Palta M, Dempsey J, et al. The Occurrence of Sleep-Disordered Breathing among Middle-Aged Adults. N Engl J Med 1993; 328:1230-1235

23.- Ip MSM, Lam KSL, Ho C-m, et al. Serum Leptin and Vascular Risk Factors in Obstructive Sleep Apnea. Chest 2000; 118:580-586

24.- Chin K, Shimizu K, Nakamura T, et al. Changes in Intra-Abdominal Visceral Fat and Serum Leptin Levels in Patients With Obstructive Sleep Apnea Syndrome Following Nasal Continuous Positive Airway Pressure Therapy. Circulation 1999; 100:706-712

25.- Jeannin L, Rabec C. La fonction respiratoire de l'obèse. Rev Prat 1997; 11:35-38

26.- Shimura R, Tatsumi K, Nakamura A, et al. Fat Accumulation, Leptin, and Hypercapnia in Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome. Chest 2005; 127:543-549

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

GENOTYPES OF THE *HELICOBACTER PYLORI* ISOLATES AND THE IL-1 GENES IN KAZAN CITIZENS (KAZAN, RUSSIA) WITH GASTRIC AND DUODENAL ULCER

Olga A. Chernova[1], Elmira R. Nasybullina[1], Vladislav M. Chernov[1], Oleg V. Gorshkov[1], Gulnara F. Shaimordanova[1], Rustem A. Abdulhakov[2], Maxim V. Trushin[1]*

[1]Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan, Russia
[2]Kazan State Medical University, Kazan, Russia

mtrushin @ mail.ru

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:13-18

Comment of the reviewer Angel San Miguel, MD. PhD Servcio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Rio Hortega. Valladolid. España

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

---

ABSTRACT
The prevalence of the virulence genes (*iceA, cagA, babA2, vacA*) in the *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with clinic and histologically proved diagnosis of gastric and duodenal ulcer as well as the distinction of the IL-1 genes in the helicobacter carriers were studied. *VacA s1/m2 iceA1 cagA*$^+$ and *vacA s1/m2 iceA1 cagA*$^+$ *babA2* genotypes of *H. pylori* were shown to be the prevalent in the clinic isolates. Four patients were found to be infected with Ureaplasma urealyticum. The combination of the *IL-1B-511*?/IL-1B+3954*C/IL-1RN*2* alleles was shown to be the prevalent among the patients with gastric and duodenal ulcer. The correlation between the *H. pylori* genotypes, the IL-1 genes and the ulcer particularity was not found.

Key words: *Helicobacter pylori*, virulence genes, IL-1 genes, genotyping, ulcer disease, persistence, *Ureaplasma urealyticum*

INTRODUCTION
An expressed genetic heterogeneity of the *Helicobacter pylori* strains determines the distinct clinical implications of the infection. In most of the *H. pylori*-infected people, clinical presentations are absent. In some individuals, however, colonization of the stomach mucous tunic with this bacterium may be the possible reason for development of chronic gastritis, peptic ulcer as well as gastric adenocarcinoma and B-cell lymphoma[1].

Pathogenicity of *H. pylori* is connected with products of the *urel, iceA, cagA, babA2* as well as vacA genes[2]. Distribution of the *H. pylori* genotypes depends on the ethnogeographic peculiarities[3]. Moreover, polypathia (*H. pylori+Ureaplasma urealyticum* infection) may modify the clinical aspects of the infection[4].

It is known that pathogenesis depends on the biology of the pathogen, the interaction between the infective agent and the defense systems of the host[5].

Recently, it was found that genetic predilection to various infections depends on the polymorphism of the genes for interleukins[6, 7]. Furthermore, allelic variability in IL-1 genes may be the reason for the distinct susceptibility to the *H. pylori* infection[8].

The subject of the study was to elucidate the genotypes of the *Helicobacter pylori* isolates and the IL-1 genes in Kazan citizens (Kazan, Russia) with gastric and duodenal ulcer.

MATERIALS AND METHODS

We obtained gastric biopsy specimens from 21 *H. pylori*-infected patients (20-78 years old citizens of Kazan, Russia) with gastric and duodenal ulcer. Biopsy and its analysis were performed as described by Momynaliev and co-workers[9]. For the extraction and purification of DNA, "HelicoPol" reagents (Litech Corporation, Moscow, Russia) were used. *H. pylori* and *U. urealyticum* were revealed by PCR assay. Genotyping of the *cagA, iceA and babA2* genes was performed with the specific reagents of Litech Corporation (Moscow, Russia). The results were documented using the "DNA Analyzer" vision system.

PCR analysis of multiform locuses for IL-1Ra and IL-1b genes (at minus 511 and plus 3954 position) was performed with a programmable thermal cycler "Tercyc" (DNA-technology, Russia). Variants of C-511T and C+3954T for *IL-1B* and VNTR for *IL-1RN* (alleles 1 and 2) genes were determined as described by Garcia-Gonzales and co-workers[8]. The amplified regions were treated with *AvaI* (C511T) and *TaqI* (C+3954T) restrictases (Fermentas, Lithuania). The lengths of the restriction fragments were as follows: 135 and 114 b.p. (presence of the restriction site, allele C) and 249 b.p. (absence of the restriction site, allele T) for *TaqI*; 190 and 115 b.p. (presence of the restriction site, allele C) and 305 b.p. (absence of the restriction site, allele T) for *AvaI*. The length of *IL-1RN*1* (IL-1Ra allele 1) was 410 b.p., and for *IL-1RN*2* (IL-1Ra allele 2) was 240 b.p.

The electron-microscopic analysis was performed with the use of Hitachi HU-125 transmissible device (Hitachi, Japan).

The data were analyzed using the χ^2 test implemented in a commercially available computer program. A value of $P<0.05$ was considered significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Helicobacters (*H. pylori*) were revealed in all patients. Moreover, *U. urealyticum* was also detected in 4 patients (19%). Due to genotyping of *vacA* gene, both s1 and s2 alleles were identified in two samples from people with duodenal ulcer. Two distinct strains of *H. pylori* were possibly the reason for this finding. In order to avoid difficulties in interpretation of the results, these two samples were eliminated from the analysis.

Urease is the universal factor of *H. pylori* pathogenicity[10]. Products of the *cagA*, *vacA* (s1, s2, m1, and m2), *iceA* (A1, A2) and *babA* (A1, A2) genes are believed to contribute an additional input into *H. pylori* pathogenicity and clinical presentation[2, 11].

cagA+ isolates of *H. pylori* were obtained in 14 cases (73.7%) out of the remaining 19 biopsy specimens. This frequency of *cagA*+ is somewhat lower than that of observed in Europe and Central Russia[9]. High frequency variability of the gene as well as alterability in genetically determined susceptibility of the host organism to various *H. pylori* strains[12] is probably the explanation for the above-mentioned fact. The presence of the cag and vac pathogenicity islets in the *H. pylori* strains is believed to prevent the englobing of these bacteria and favors their persistence[13].

All the *cagA*+ *H. pylori* strains contained *vacA* s1 allele. It should be noted that distribution of the *vacA* alleles is different in various ethnopopulations. However, infection with *vacA* s1/m1 *H. pylori* is associated with more defined inflammation. *H. pylori* strains with *vacA* s1/m1 and *vacA* s1/m2 has maximal or median level of cytotoxin secretion while the *vacA* s2/m2 has not[14]. Indeed, *vacA* s1/m2 genotypes were revealed in 94.7% ulcer cases regardless of the disease location.

babA2 gene is thought to be a marker for duodenal ulcer and adenocarcinoma of stomach[15]. In our case, this gene was determined in 8 (42%) clinical isolates of *H. pylori*.

Infiltration of the stomach mucous membrane with polymorphonuclear leukocytes is more expressed in *iceA*1 *H. pylori*-infected people[11]. However, there is no a well-defined link between development of ulcer disease and presence of the *iceA1* gene[11, 16]. We revealed *iceA1* gene in 73.7% of the investigated patients while the *iceA2* gene was not determined at all.

K. Momynaliev and co-workers[9] suggested a hypothesis about the leading role of combination of the pathogenicity

factors in development of the *H. pylori* infection. Thus, in general, *H. pylori* have about 28 genotypes. In our study, 6 genotypes of *H. pylori* were revealed (Table 1). Previously, we did not obtain any correlation between combination of the revealed genotypes and ulcer location[17].

Table 1. *H. pylori* and IL-1 genotypes in patients with gastric and duodenal ulcer

Patient nº	Disease	Size of the ulcer	Genotype of IL-1B-511/ IL-1B+3954/ IL-1RN	Genotype of H. pylori
1*	GU	0,4	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*T/T / IL-1RN*2	vac s2/m2 cag-
2	GU	0,4/0,8	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*C/C / IL-1RN*1/2	vac s1/m2 iceA1 cag-
3	GU	1,5	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ IL-1RN*1/2	vac s1/m2 iceA1 cag+
4	GU	2,5	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*C/C / IL-1RN*2	vac s1/m2 cag-
5	DU	0,9/1,0	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*C/C / IL-1RN*2	vac s1/m2 iceA1 cag+ bab
6	DU	0,4/08	IL-1B-511*C/C / IL-1B+3954*T/C / IL-1RN*2	vac s1/m2 iceA1 cag+
7	DU	0,4/0,6	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ IL-1RN*2	vac s1/m2 iceA1 cag+ bab
8	DU	0,4/0,8	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ IL-1RN*1/2	vac s1/m2 iceA1 cag+
9	DU	0,6	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ IL-1RN*2	vac s1/m2 iceA1 cag+
10	DU	0,8	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*C/C / IL-1RN*2	vac s1/m2 iceA1 cag+ bab
11*	DU	0,8	IL-1B-511*C/C / IL-1B+3954*T/C / IL-1RN*2	vac s1/s2 /m2 iceA1 cag-
12	DU	0,9	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*C/C / IL-1RN*1	vac s1/m2 iceA1 cag+ bab
13*	DU	1	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ **	vac s1/m2 iceA1 cag+
14*	DU	1,2	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*C/C / IL-1RN*1/2	vac s1/m2 iceA1 cag+ bab
15	DU	1,2	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ IL-1RN*1	vac s1/m2 iceA1 cag-
16	DU	2,5	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ IL-1RN*1	vac s1/s2 /m2 iceA1 cag-
17	DU	0,5	IL-1B-511*T/T / IL-1B+3954*C/C / IL-1RN*2	vac s1/m2 cag+ bab
18	DU	0,5	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*C/C/ IL-1RN*1/2	vac s1/m2 iceA1 cag+ bab
19	DU	0,5/0,4	IL-1B-511*C/C / IL-1B+3954*T/C / IL-1RN*1	vac s1/m2 iceA1 cag+
20	DU	0,3	IL-1B-511*T/C / IL-1B+3954*T/C / IL-1RN*2	vac s1/m2 cag-
21	DU	1,5	IL-1B-511*C/C / IL-1B+3954*C/C / **	vac s1/m2 cag+ bab

Abbreviations: GU=gastric ulcer, DU=duodenal ulcer

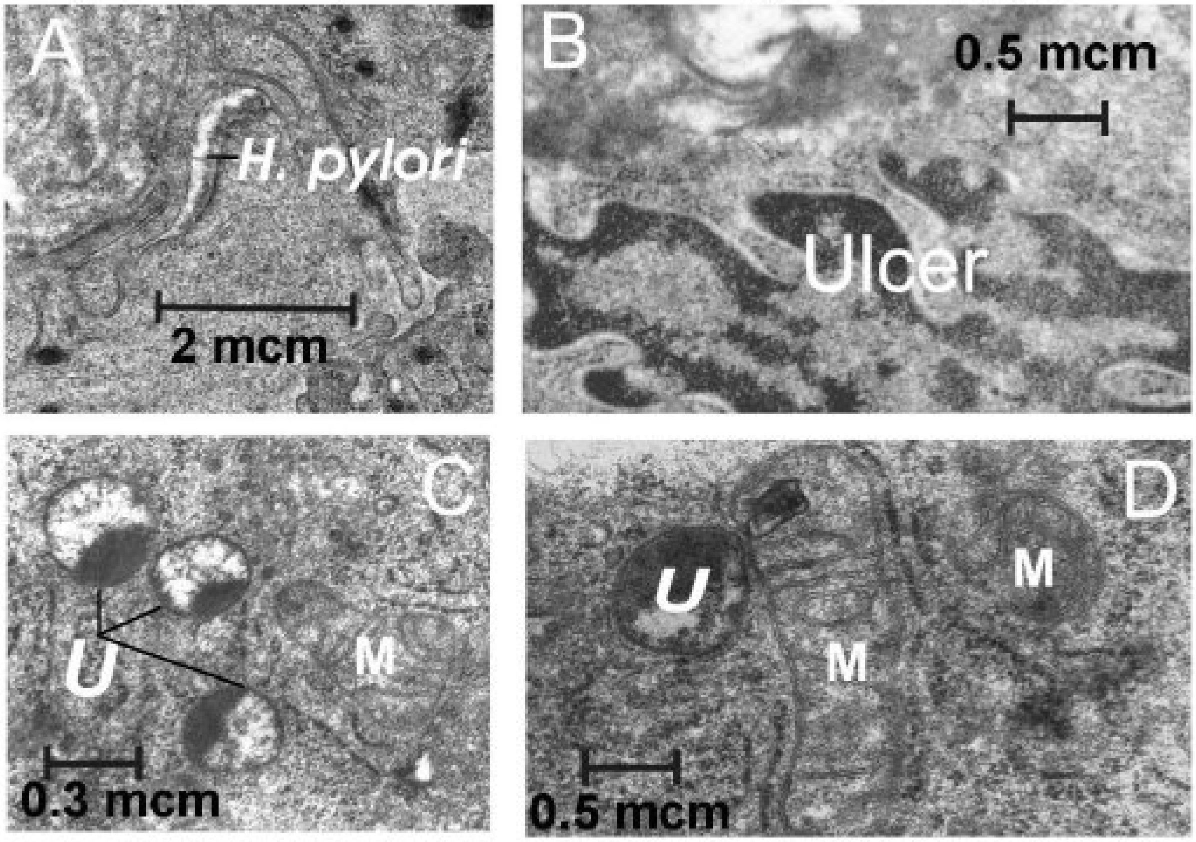
* *U. urealyticum* cells were revealed in the biopsy samples ** The presence of the *IL-1RN* gene was not tested

As far as it is known infection with bacteria and/or tissue damage result in activation of IL-1 expression. IL-1 family includes two agonists (IL-1A and IL-1B) and antagonist IL-1Ra. The susceptibility of individuals to some pathology might be connected with allele combination of the IL-1b and IL-1Ra genes[6,7].

Distribution of the IL-1 genes (*IL-1B-511, IL-1B+3954, IL-1RN*) in patients with gastric and duodenal ulcer is presented in Table 1. It is clear from the Table 1 that the combination of the following alleles was the most frequent: *IL-1B-511*T/ IL-1B+3954*C/IL-1RN*2*.

According to the data of Garcia-Ganzales et al., combination of *IL-1B-31*T/IL-1B-511*T/ IL-1B+3954*C/ IL-1RN*2* is important for duodenal ulcer progression in Europeans[8]. The data differences concerning the *IL-1B-511* might be connected with ethnogeographic aspects. It is likely that othe factors including polypathia (in particularly, *H. pylori+U. urealyticum* infection) may promote to ulcer progression in people with other combination of IL-1 alleles (Table 1, Fig 1).

Figure 1. Stomach epithelial cells infected with *H. pylori and U. urealyticum.*



A – *H. pylori* (Hp) in the epithelial cell;
B – Flemming's tingible corpuscle within the stomach epithelial cell in patient with *H. pylori*-associated gastric ulcer
C and D – contact between *U. urealyticum* (U) and mitochondrion (M) in the *H. pylori*–infected stomach epithelial cell. *H. pylori* is localized near the nucleus.

We could not observe a well-defined correlation between specific *H. pylori* genotypes and features of ulcer disease. This may point out the presence of additional factors promoting *H. pylori* virulence and connected with the peculiarities of microbiota in the pathology seat as well as with polymorphism of various genes determining the specific and the nonspecific signal pathways of the "parasite-host" system.

REFERENCES

1.Cover TL, Blasser MJ. *Helicobacter pylori*factors associated with disease. Gastroenterology 1999; 117: 257-261.

2. Ge Z., Taylor DE. Contribution of genome sequencing to understanding the biology of *Helicobacter pylori*. Annu Rev Microbiol 1999; 53: 353-387.

3. Andreson H, Loivukene K, Sillakivi T, Maaroos HI, Ustav M, Peetsalu A, Mikelsaar M. Association of *cagA* and *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* with gastric diseases in Estonia. J Clin Microbiol. 2002; 40: 298-300.

4. Abdulhakov RA, Chernova OA, Nasybullina ER, Chernov VM. *Helicobacter pylori* infection: synergism, genotypes, polymorphism and immunoresponsiveness. Pediatria 2002; 2: 19-21. In Russian.

5. Roitt IM, Brostoff J, Male DK Immunology, Moscow: Mir, 2000. In Russian

6. Freidin MB, Puzyrev VP, Ogorodova LM, Kobiakova OS, Kulmanakova IM. Polymorphism of interleukins and interleukin receptor genes: population distribution and association with atopic bronchial asthma. Genetika 2002; 38: 1710-1718. In Russian.

7. Machado JC, Figueiredo C, Canedo P, Pharoah P, Carvalho R, Nabais S, Alves CC, Campos ML, van Doorn L-J, Caldas C, Seruca R, Carneiro F, Sobrinho-Simoês M. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. Gastroenterology 2003; 125: 364-371.

8. Garcia-Gonzalez MA, Lanas A, Savelkoul PHM, Santolaria S, Benito R, Crusius JBA, Peña AS. Association of interleukin 1 gene family polymorphisms with duodenal ulcer disease. Clin Exp Immunol 2003; 134: 525-531.

9. Momynaliev K, Smirnova O, Kudryavtseva L, Govorun V. *Helicobacter pylori* genotypes in Russia. Eur J Clin Microbiol Infec Dis 2003; 22: 573-584.

10. Fan X, Gunasena H, Cheng Z, Espejo R, Crowe SE, Ernst PB, Reyes VE. *Helicobacter pylori* urease binds to class II MHC on gastric epithelial cells and induces their apoptosis. J Immunol 2000; 165: 1918-1924.

11. Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY. Relationship between *Helicobacter pylori iceA*, *cagA* and *vacA* status and clinical outcome: studies in four different countries. J Clin Microbiol 1999; 37: 2274-2279.

12. Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY, Sepulveda AR. Variants of the 3'region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different H.pylori-associated diseases. J Clin Microbiol 1998; 36: 2258-2263.

13. Shkitin VA, Shpirna AI, Starovoitov GN. The role of *Helicobacter pylori* in human pathology. Clin Microbial Antimicrobial Ther 2002; 4: 128-145. In Russian.

14. van Doorn L-J, Figueiredo C, Sanna R, Pena S. Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori vacA*. J Clin Microbiol 1998; 36: 2597-2603.

15. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Boren T, Rad R, Schepp W, Miehlke S, Classen M, Prinz C. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96:12778-12783.

16. Graham DY, Yamaoka Y. Disease-specific *Helicobacter pylori* virulence factors: the unfulfilled promise. Helicobacter 2000; 5 Suppl 1: S3-9; discussion S27-31.

17. Nasybullina ER, Abdulhakov RA, Chernova OA, Gorshkov OV, Chernov VM. Distribution of *Helicobacter pylori* genotypes among the patients with gastro-duodenal disease. Exp Clin Gastroenterol 2004; 1: 126-132. In Russian.

Comment of the reviewer Angel San Miguel, MD. PhD Servcio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Rio Hortega. Valladolid. España

We think that the article under consideration it is a good work. This contribution concerns to the *Helicobacter pylori* infection as cause of chronic superficial gastritis which, in same cases, will progress to peptic ulceration, and gastric carcinoma. This bacteria shows a very important genetic diversity. Nevertheless the genotypes involved, it has been demonstrated that successful treatment of *H. pylori* infection results in the cure of peptic ulcer, and the prevention of more severe diseases. Recently, it has been also demonstrated that the emergence of resistant strains to the antimicrobial agents of common clinical use are not only due to pinpoint mutations, but also to deletion of nucleotidic sequences, and to insertion of transposons[1-6].

Several authors have show the prevalence of the virulence genes (*iceA, cagA, babA2, vacA*) in the *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with clinic and histologically proved diagnosis of gastric and duodenal ulcer[5-9]. The same authors have elucidated the presence or absence of Il-1 genes. Also, have studied the *H. pylori VacA s1/m2 iceA1* $cagA^+$ and *vacA s1/m2 iceA1* $cagA^+$ *babA2* genotypes, and the different isolated of clinical simples.

They also have found that the combination of the IL-1B-511*?/IL-1B+3954*C/IL-1RN*2 alleles is prevalent among the patients with gastric and duodenal ulcer. But any the correlation between the *H. pylori* genotypes, the IL-1 genes and the ulcer particularity was not found[7-10]. Finally, in basis of above consideration; I recommend the publication of the article.

References:

1. Garza-González E, Pérez-Pérez GI, Tijerina-Menchaca R, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ. Genotipos de *Helicobacter pylori* y su asociación con la respuesta inmune del hospedero. Rev Gastroenterol Mex 2002; 67: 155-160.
2. Ando T, Peek R. M., Pride D, Levine S. M, et al. Polymorphisms of *Helicobacter pylori* HP0638 Reflect geographic origin and correlate with *cagA* status. J Clin Microbiol 2002; 40: 239-246.

3. Atherton J, Cao P, Peek R, Tummuru M, Blaser M, Cover T. 1995. Mosaicism in Vacuolating Cytotoxin Alleles of *Helicobacter pylori*. J Biol Chem. 270: 17771-17777.
4. Atherton J, Peek R, Tham K, Cover T, Blaser M. 1997. Clinical and Pathological Importance of Heterogeneity In *vacA*, The Vacuolating Cytotoxin Gene of *Helicobacter pylori*. Gastroenterol. 112: 92-99.
5. Atherton JC. 1997. The Clinical Relevance of Strains Types of *Helicobacter pylori*. Gut 40:701-703.
6. Harris PR, Cover TL, Crowe DR, Orenstein JM, Graham MF, Blaser MJ, Smith PD. *Helicobacter pylori* Cytotoxin Induces Vacuolation of Primary Human Mucosal Epithelial Cell. Infec Immun. 1996; 64: 4867-4871.
7. Ito Y, Azuma T, Ito S, Miyaji H, Hirai M, Yamazaki Y, Sato F, Kato T, Kohli Y, Kuriyama M. Analysis and typing of the *vacA* Gene from *cagA*-Positive Strains of *Helicobacter pylori* isolated in Japan. J Clin Microbiol 1994; 35: 1710-1714.
8. Garcia-Gonzalez MA, Lanas A, Savelkoul PHM, Santolaria S, Benito R, Crusius JBA, Peña AS. Association of interleukin 1 gene family polymorphisms with duodenal ulcer disease. Clin Exp Immunol 2003; 134: 525-531.
9. Wang H, Kuo C, Yeh A, Chang P, Wang W. Vacuolating Toxin Production in Clinical Isolates of *Helicobacter pylori* with Different *vacA* Genotypes. J Infect Dis. 1998; 178: 207-212.
10. van Doorn LJ, Schneeberger PM, Nouhan N, Plaisier AP, Quint WGV, De Boer WA. Importance of *Helicobacter pylori cagA* and *vacA* status for the efficacy of antibiotic treatment. Gut. 2000; 46:321-326.

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

The role of the proinflammatory cytokine interleukin-1 (IL-1) in host susceptibility to *Helicobacter pylori*-associated gastric pathophysiology, inflammation and carcinogenesis is well-established. Recent data suggest that this susceptibility may be under genetic control. The presence of highly prevalent genetic polymorphisms provided for an ideal opportunity to design the appropriate epidemiologic studies to test for the role of potential candidate loci.

Since *H. pylori* achieves most of its damage through induction of chronic inflammation, it is worth considering candidate interleukin genes that control this process. Thus, functional polymorphism of IL-1 gene have been related to various risk factors of gastric cancer and duodenal ulcer. However, their importance in gastric ulcer remains elusive. To clarify the possible association between gastric and duodenal ulcer and the polymorphism in the IL-1, the authors studied the genotypes of *H. pylori* isolates from 21 patients in Kazan, Russia. The biopsy specimens were followed with PCR assay and electron microscopy. Genotyping revealed the prevalence of IL-1B-511*T/IL-1B+3954*C/IL-1RN*2 allele combination. Since different loci are reported by others in a similar studies, it appears that the variations are due to ethnogeographic aspects.

Therefore, the presented study reporting genetic data from Tatarstan, Russia can be regarded as an interesting contribution to previous epidemiological studies. The lack of correlation between the reported genotypes and disease parameters is also supported by the findings of other groups, implying that apparently the relationships among IL-1 gene polymorphism, the presence of *H. pylori* infection, and disease outcome are more complex than initially proposed. The present work undobtedly is a valuable addition to more detailed studies of the IL-1 gene cluster needed, as well as to its role in *H. pylori* determined gastric pathogenesis.

*** Corresponding author: Dr. Maxim V Trushin,**
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, PO BOX 30, Kazan 420111, Russia
Mail: mtrushin @ mail.ru

Received, January 12, 2006.
Published, January 30, 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

IMPLEMENTACIÓN DE SERVICIOS DE ATENCIÓN FARMACÉUTICA EN TRES CENTROS COMUNITARIOS DE SALUD DE LOS ÁNGELES: RESULTADOS PRELIMINARES

Olaf Domínguez MS. PharmD.[1, 2], Steven Chen PharmD.[1], Kathleen A. Johnson PharmD. MPH. PhD.*[1], B. Elizabeth Cervantes PharmD.[1], Melvin Baron PharmD, MPA.[1]

[1] Facultad de Farmacia, Universidad de Southern California;
[2]Farmacéutico Clínico, JWCH Institute Inc.
South Central Family Health Center. To Help Everyone Clinic. JWCH Institute at Weingart.
Los Angeles. USA

kjohnson @ usc.edu

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:19-25

Comentario del Revisor Enrique C. Seoane-Vázquez PhD. Assistant Professor, Ohio State University, College of Pharmacy and Center for HOPES, School of Public Health. Columbus. USA

Comentario del Revisor María Jesús Coma del Corral, MD. PhD. Unidad de Investigación. Hospital General Yagüe. Burgos. España

Comentario del Revisor José Ramón García Soláns. Farmacéutico Comunitario. Presidente de LIFARA, Sociedad Aragonesa de Farmacia Comunitaria. Zaragoza. España

---

ABSTRACT
Community Health Centers play a fundamental role in the United States' healthcare system, and pharmacists may carry out an important function in these centers. This article shows a project conducted by a group of pharmacists in three community clinics in Los Angeles, United States, where they have contributed to an improvement in the management of diabetes mellitus (average reduction in Hemoglobin A1c = 3.4%), hypertension (average reduction in blood pressure = 27/13 mgHg) and other chronic diseases, in addition to promote a more rational use of medications and resources available to economically deprived patients. It has been shown that clinical pharmacists may, in fact, play an important role in community clinics; however, financial difficulties appear to hinder the full incorporation of the pharmacist to clinical tasks.

Key words: Pharmaceutical care. Diabetes. Hypertension. Medical Insurance. Drug costs. Underserved Patients

RESUMEN:
Los Centros Comunitarios de Salud juegan un papel fundamental en el sistema sanitario estadounidense, y los farmacéuticos podrían desempeñar una función importante en estos centros. Este artículo muestra un proyecto desarrollado por un grupo de farmacéuticos en tres clínicas comunitarias de Los Ángeles, Estados Unidos, donde han contribuido a mejorar el tratamiento de la diabetes (reducción promedio de 3.4% en la hemoglobina A1C), la hipertensión arterial (reducción promedio de la presión arterial de 27/13 mmHg) y otras enfermedades crónicas, además de promover un uso más racional de los medicamentos y los recursos disponibles para pacientes desfavorecidos económicamente. Se ha demostrado que el farmacéutico clínico puede jugar un papel importante en las clínicas comunitarias; sin embargo, dificultades financieras parecen entorpecer la incorporación total del farmacéutico a las tareas clínicas.

Palabras Clave: Atención farmacéutica. Diabetes. Hipertensión. Seguro médico. Costo de medicamentos. Pacientes desfavorecidos

Soporte económico: UniHealth Foundation, Grant # 450

INTRODUCCIÓN

A pesar de ser considerado el país más rico del mundo, Estados Unidos enfrenta serias deficiencias en su sistema de salud. Se calcula que aproximadamente 45 millones de estadounidenses podrían carecer de seguro médico[1], lo cual provoca una profunda desigualdad en el acceso a la atención sanitaria, afectando negativamente sobre todo a personas con bajos ingresos, afroamericanos e hispanos [2-5].

Los Centros Comunitarios de Salud (Community Health Centers) constituyen uno de los principales programas federales para combatir la desigualdad en el acceso a los servicios de salud [6]. Estos centros suelen ser organizaciones sin fines de lucro que ofrecen servicios médicos de todo tipo a personas con bajos ingresos, tengan o no seguro de salud. A veces son la única alternativa disponible para personas sin hogar, inmigrantes ilegales y otras personas que viven en la pobreza.

La profesión farmacéutica podría jugar un papel importante en la prestación de servicios en los Centros Comunitarios de Salud [7-10]. Desde la atención directa al paciente a la participación en las decisiones sobre la utilización de medicamentos, el farmacéutico posee los conocimientos y la experiencia necesarios para hacer un gran aporte al funcionamiento de estos centros.

En los últimos dos años, usando fondos aportados por la Fundación UniHealth, un grupo de farmacéuticos clínicos afiliados a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Southern California han puesto en práctica un programa títulado *Implementation and Expansion of Pharmacist Clinical Services to Improve Health Outcomes for Medically Underserved Patients* (Implementación y Expansión de Servicios Clínicos Ofrecidos por Farmacéuticos para Mejorar los Resultados de Salud en Pacientes Desfavorecidos) en tres clínicas comunitarias del área de Los Ángeles, California. El programa provee servicios clínicos con el fin de mejorar el tratamiento farmacológico de las enfermedades, aumentar el cumplimiento de los pacientes con sus regímenes terapéuticos y mejorar el conocimiento de los pacientes sobre sus enfermedades.

El objetivo principal del proyecto es evaluar el valor de los farmacéuticos como parte del equipo de atención al paciente. Esto se debe reflejar en una mejora en la calidad de los servicios y en el control de las enfermedades, y además en el ahorro en el costo de los medicamentos hasta el punto que sería posible que las clínicas contrataran un farmacéutico clínico. A continuación ofreceremos una descripción del proyecto y dos casos clínicos para ilustrar parte del trabajo que se ha realizado.

El PROYECTO

Cinco farmacéuticos clínicos han formado parte del programa aunque en la actualidad sólo cuatro continúan prestando sus servicios en tres clínicas localizadas en las zonas más pobres de Los Ángeles. South Central Family Health Center (SCFHC) tiene una población mayormente hispana, incluyendo muchos indocumentados. To Help Everyone Clinic (THE) se encuentra en un área de mayoría afroamericana, aunque también presta atención a un número considerable de hispanos. Por último, JWCH Institute at Weingart (JWCH) está en el centro de Los Ángeles, en una zona donde la inmensa mayoría de la población son desamparados "homeless" y afroamericanos.

Los servicios prestados por los farmacéuticos se centran en el tratamiento de enfermedades crónicas como la diabetes, la hipertensión arterial, el colesterol alto y el asma. En ocasiones también se asiste a pacientes con insuficiencia cardiaca, aunque esta enfermedad no es común dada la baja edad de la mayoría de pacientes que acuden a estas clínicas. Además se ven casos de bronquitis crónica y enfisema, y ha habido algunos casos de depresión en los que la intervención del farmacéutico también ha sido importante.

Para iniciar el proyecto fue necesario la firma de un contrato de colaboración con las clínicas donde está estipulado el tipo de intervenciones a prestar. En general, el farmacéutico tiene la autoridad para iniciar, sustituir, descontinuar y ajustar el régimen de administración para el tratamiento de las enfermedades antes citadas. Con tal fin, el farmacéutico también goza de potestad para solicitar e interpretar las pruebas de laboratorio, así como los signos vitales que ayuden a monitorizar el progreso de la enfermedad y el efecto de los medicamentos. En ocasiones se requiere la intervención del médico, por ejemplo cuando, dada una sintomatología o la falta de respuesta a un tratamiento, el farmacéutico estima que el paciente debe ser visto por éste o debe ser referido a un servicio especializado (por ejemplo, pruebas de función pulmonar para diferenciar el asma de otras enfermedades obstructivas).

Como parte de las actividades del farmacéutico se incluyen otras funciones, tales como proveer información sobre los medicamentos a los profesionales de las clínicas cuando éstos la requieran; participar en la creación e implementación de un listado de medicamentos teniendo en cuenta las necesidades de la población y los recursos existentes; educar a los pacientes sobre los medicamentos en el momento de la dispensación con la participación de estudiantes de farmacia; contactar a las empresas farmacéuticas con el fin de conseguir material educativo para los pacientes; y organizar clases para los pacientes.

Tras cada consulta con un paciente, el farmacéutico recoge los datos, observaciones e intervenciones en una base de de datos creada para tal fin. Los pacientes hipertensos con diabetes y/o insuficiencia renal crónica fueron estudiados por separado debido a que el objetivo clínico es más bajo (<130 / 80 mmHg versus <140 / 80 mmHg para hipertensión sin complicaciones) [11, 12]. Se estableció un nivel de hemoglobina A1c (HbA1c) igual o superior a 9.5% para referir pacientes al farmacéutico, de acuerdo con el criterio para el cuidado de la diabetes del National Committee on Quality Assurance (NCQA) [13]. La mayoría de pacientes referidos tenían una HbA1c de base ≥ 9.5%. Muchos otros pacientes con diabetes tenían una HbA1c inferior a 9.5% y fueron referidos igualmente al farmacéutico principalmente para que se les ofreciera educación general sobre la diabetes. A continuación exponemos dos casos clínicos que ilustran el trabajo realizado:

Caso 1: Mujer hispana con diabetes y depresión

Este paciente es una mujer hispana de 39 años con una historia clínica de diabetes (8 años), hipertensión arterial, colesterol alto y angina. Fue referida por su médico de atención primaria. Al presentarse para la primera consulta con el farmacéutico, la paciente utilizaba los siguientes medicamentos para la diabetes: metformina, glipizida, insulina glargina al acostarse e insulina aspart que se inyectaba de acuerdo con los niveles de azúcar que se medía en casa. La paciente se quejó de dolor de estómago y náusea provocados por la metformina. El día de la consulta la paciente no se había inyectado insulina ni tomado glipizida. Según dijo la propia paciente, su dieta había mejorado al estar ingiriendo menos azúcar, menos almidones y sólo algo de carne de cerdo. La paciente también comentó que cuando hacía dieta le bajaba demasiado el azúcar y que en ocasiones no comía al medio día. Los

síntomas de azúcar bajo los comenzaba a experimentar cuando los niveles alcanzaban aproximadamente 120 mg/dL. Además se quejó de vómitos, sensación de desmayo y mucha tristeza. Tras ser cuestionada sobre este último aspecto, la paciente comenzó a llorar. Finalmente salió a la luz que tenía pensamientos suicidas: "pensaba suicidarse con una sobredosis de insulina".

Signos Vitales: Presión arterial:98/60 mmHg, Pulso:86, Peso:99 kg
Glucosa: 218 mg/dL 8 horas después de haber comido
Otros datos analíticos iniciales: HbA1c 11.6% (<7.0%), Colesterol 209 mg/dL (<200 mg/dL), LDL 125 mg/dL (<100 mg/dL), Triglicéridos 169 mg/dL (<150 mg/dL), ALT 13 U/L (2-60 U/L), creatinina sérica 0.8 mg/dL (0.5-1.4 mg/dL)

Teniendo en cuenta que la Asociación Americana de la Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) pone como objetivos para el control de la diabetes una HbA1c de menos de 7.0%, un nivel del glucosa en ayunas de menos de 130 mg/dL y 1-2 horas después de comer de menos de 180 mg/dL[11], se consideró que la diabetes de esta paciente estaba sumamente descontrolada. Se decidió descontinuar la glipizida y la metformina, y continuar el tratamiento exclusivamente con tres inyecciones de insulina -40 unidades de insulina glargina al acostarse, 5 unidades de insulina aspart antes del desayuno y 10 unidades de insulin aspart antes de la cena— para acomodar los hábitos alimenticios y deseos de la paciente. Se le educó en términos de la dieta y el ejercicio, y se le pidió que se midiera la glucosa antes de cada inyección. No se efectuaron cambios en el tratamiento de la hipertensión "metoprolol", o el colesterol "atorvastatina". Con respecto a la depresión se consultó con su médico de atención primaria, quien a su vez refirió la paciente a la psicóloga de la clínica. Ésta última refirió a la paciente al hospital del condado al considerar que sufría de una depresión severa.

Una semana después la paciente regresó tras haber sido vista en el hospital, donde se le recetó 20 mg diarios de fluoxetina y se le dio de alta. Las mediciones de azúcar efectuadas en casa revelaron niveles de 95-305 mg/dL en ayunas, 247-308 mg/dL antes de la cena y 120-391 al acostarse. La paciente no se quejó de azúcar bajo.

Dado que los niveles matutinos habían mejorado en los últimos tres días, se optó por no cambiar la dosis de insulina glargina de la noche. Se aumentó la dosis de insulina aspart de la mañana a 10 unidades y se re-educó a la paciente en el tratamiento en casa de la hipoglucemia. También se le ajustó el glucómetro, y se le pidió que midiera la glucosa cuatro veces al día: una vez antes de cada comida y antes de acostarse. Con respecto a la depresión, y tras una consulta con la psicóloga, quien había visto a la paciente esa misma mañana, se le subió la dosis de fluoxetina a 40 mg diarios.

La paciente volvió a visitar al farmacéutico a la semana siguiente. Esta vez se quejó de un nivel de azúcar por debajo de 60 mg/dL, que había solucionado con comida. Reportó que estaba caminando entre 40 y 60 minutos tres veces por semana, y comiendo más frutas y vegetales. El promedio de los niveles de azúcar continuaba sobrepasando los 200 mg/dL. La depresión, sin embargo, parecía mejorar, sobre todo con respecto al estado de ánimo y la relación con sus hijos. No obstante, continuaba experimentando problemas con su esposo, quien también padecía de depresión y era paciente de la clínica.

Dado que los niveles obtenidos en casa continuaban siendo elevados, se convenció a la paciente para comenzar un régimen de cuatro inyecciones diarias: 10 unidades de insulina aspart antes de cada comida y 40 unidades de insulina glargina antes de acostarse.

Se continuaron ajustando las dosis de insulina de acuerdo con los niveles obtenidos en casa durante un mes y medio, en el plazo del cual la paciente fue atendida tres veces por el farmacéutico. En una de estas visitas la paciente se quejó de dolor de pecho y fue referida al médico, quien la envió por ambulancia al hospital, donde se le practicó un cateterismo cardiaco. Tres meses después de haber sido vista por primera vez por el farmacéutico la paciente tenía los siguientes promedios de azúcar: en ayunas 101 mg/dL, antes del almuerzo 143 mg/dL, antes de la cena 143 mg/dL y antes de acostarse 163 mg/dL, todos ellos dentro o cercanos al objetivo. De acuerdo con la psicóloga la depresión de la paciente estaba bajo control y se le había dado el alta. Tras esta visita el farmacéutico encargado de este caso pasó a otra clínica.

La paciente faltó a la siguiente cita, y no fue atendida de nuevo por un farmacéutico hasta un mes y medio después. En esta última visita la paciente dijo haber llorado mucho durante las dos semanas anteriores y estar totalmente desilusionada con el tratamiento porque "no se ponía mejor" a pesar de las medicinas y las visitas a la clínica. Se quejó de mucha sed y hambre, frecuencia urinaria elevada y visión borrosa. El promedio de azúcar en ayunas había subido a 355 mg/dL y en el resto del día a 262 mg/dL. Se le ajustó las dosis de insulina y se le citó para dos semanas, cita a la que faltó.

Caso 2: Hombre hispano con diabetes
Este paciente, un hombre hispano de 48 años, fue referido al farmacéutico por su médico de atención primaria, quien había tratado al paciente durante cinco años y no había conseguido bajarle la HbA1c por debajo de 12%. El paciente se había mostrado renuente a la utilización de insulina y en el momento de la primera visita estaba tomando para la diabetes metformina 850 mg tres veces al día y glipizida 10 mg dos veces al día, y gemfibrozilo 600 mg dos veces al día para los lípidos.

Signos Vitales: Presión arterial: 101/72, Pulso: 110, Peso: 77 kg
Glucosa: 314 mg/dL dos horas después de comer
Otros datos analíticos iniciales: HbA1c 12.5% (<7.0%), Colesterol 254 mg/dL (<200 mg/dL), LDL 181 mg/dL (<100 mg/dL), Triglicéridos 174 mg/dL (<150 mg/dL), HDL 38 mg/dL (>40 mg/dL), creatinina sérica 0.9 mg/dL (0.5-1.4 mg/dL), ALT 31 U/L (2-60 U/L).

En esta visita se le subió al paciente la dosis de glipizida al máximo (40 mg diarios) y se le entregó gratuitamente un glucómetro, pidiéndosele que se midiera la glucosa dos veces al día.

En el transcurso de los siguientes tres meses el paciente tuvo varias visitas con dos farmacéuticos y el médico, quienes no hablaban español. Se logró convencer al paciente para que se inyectara insulina (insulina NPH 12 unidades antes de acostarse), y se continuó las dosis anteriormente indicadas de metformina y glipizida, así como de gemfibrozilo. La HbA1c bajó a 10.1%, el colesterol total a 211 mg/dL, el LDL a 157 mg/dL y los triglicéridos a 87 mg/dL.

En la siguiente visita un farmacéutico hispano se encargó del caso. En su primera visita le hizo saber al paciente que probablemente

necesitaría inyectarse insulina dos veces al día y que tendría que añadir una insulina de acción rápida; pero el paciente rechazó inyectarse dos veces. Entonces se le dieron varios consejos dietéticos, se le re-educó sobre el tratamiento en casa de la hipoglucemia y las consecuencias a largo plazo de la diabetes descontrolada. También el gemfibrozilo se sustituyó por atorvastatina 40 mg diarios.

Durante los siguientes 10 meses se atendió al paciente con regularidad, generalmente cada dos semanas. Se subsanaron problemas tales como "comerse media barra de pan para remediar el azúcar bajo," hasta el punto que el paciente supo como tratarse la hipoglucemia y le perdió el temor a la insulina. Se fue ajustando la dosis de insulina hasta incluir insulina 70/30 (NPH/regular), que se fue ajustando de acuerdo con los niveles de glucosa medidos en casa. Tan sólo tres meses después la HbA1c había bajado a 7.5%, y siete meses más tarde alcanzó 6.8% "diabetes controlada", el LDL a 63 mg/dL y el colesterol total a 156 mg/dL, también dentro de los objetivos clínicos para los diabéticos[14].

RESULTADOS:
Un resumen del número de casos referidos, el número de visitas y el número de condiciones enfrentadas se presenta en la Tabla 1[15].

Tabla 1: Pacientes referidos, visitas y condiciones médicas atendidas por el farmacéutico

Clínica	Weingart	SCFHC	THE	TOTAL
No. de pacientes referidos	**193**	**136**	**101**	**430**
No. de pacientes atendidos	117	101	63	281
No. de visitas (iniciales y de seguimiento)	678	513	252	1443
Condiciones médicas atendidas*				
Diabetes	429	469	147	1045
Hipertensión Arterial	349	174	63	586
Colesterol Alto	169	327	88	584
Asma	153	15	15	183
Otras	24	111	0	135

SCHFC: South Central Family Health Center; THE: To Help Everyone Clinic
* "Condiciones médicas atendidas" = visitas en las que el farmacéutico estuvo involucrado en el tratamiento de una enfermedad en particular. Muchos pacientes requirieron tratamiento para múltiples enfermedades.

Los resultados clínicos preliminares se resumen en la Tabla 2[15]. En estos se puede apreciar una mejora sustancial en parámetros como la presión arterial y la HbA1c entre los pacientes atendidos.

Tabla 2: Resultados del Tratamiento por el Farmacéutico de Pacientes con Hipertensión y Diabetes. Resultados Preliminares

Condición Médica	Resultados Medios
Hipertensión arterial	
Todos los pacientes (n = 70)	
Presión Arterial de base	151 / 89 mmHg
Presión Arterial durante el seguimiento	122 / 74 mmHg
[Reducción en PA desde la visita inicial a la visita de seguimiento]	*[-29 / -15 mmHg]*
Pacientes con diabetes o insuficiencia renal (n = 45)	
Presión Arterial de base	148 / 86 mmHg
Presión Arterial durante el seguimiento	121 / 73 mmHg
[Reducción en PA desde la visita inicial a la visita de seguimiento]	*[-27 / -13 mmHg]*
Diabetes	
Pacientes con una HbA1c de base ≥ 9.5% (n = 180)	
HbA1c de base†	11.6%
HbA1c durante el seguimiento	8.2%
[Reducción en HbA1c desde la visita inicial a la visita de seguimiento]	*[-3.4%]*

PA = presión arterial; HbA1c = hemoglobina A1c
† = Los datos de base y durante el seguimiento se reportan cuando hay niveles de HbA1c disponibles. En muchos casos, para minimizar costos, pruebas de seguimiento de la HbA1c no se realizan hasta que los objetivos referentes a la glucosa en el plasma (e.g., 90-130 mg/dL en ayunas) son alcanzados.

Además de mejorar el estado de salud de los pacientes se ha aumentado el acceso de éstos a servicios de educación sobre los medicamentos al ofrecerse varias clases sobre la diabetes y distribuirse materiales educativos, ambos con la participación activa de estudiantes de farmacia. El número de interacciones paciente-farmacéutico (o estudiante de farmacia) supera las diez mil, según estimaciones realizadas, al utilizarse los estudiantes para entregar las medicinas y proveer consejos en el momento de entrega. Un servicio de información sobre medicamentos para los profesionales de las clínicas ha resuelto más de 600 consultas o dudas.

También se ha enfatizado la utilización de los Programas de Asistencia al Paciente de las empresas farmacéuticas para la obtención de medicamentos de forma gratuita. Una evaluación recientemente desarrollada en la clínica JWCH Institute desveló que las sustituciones de medicamentos efectuadas durante un periodo de cinco días podrían ahorrarle a la clínica cerca de 4000 dólares anuales. En términos clínicos, el caso que mejor evidencia el impacto de la utilización más efectiva de los Programas de Asistencia al Paciente es la sustitución de la fluvastatina por medicamentos más potentes para combatir el colesterol alto, como la pravastatina y la atorvastatina, que se pueden obtener gratuitamente.

Como muestran los casos presentados, el farmacéutico clínico puede llegar a desempeñar funciones no anticipadas durante la concepción del proyecto, como la identificación de posibles enfermedades no tratadas. Aquí se ha presentado un caso de depresión, pero también han ocurrido casos de bronquitis crónica e insuficiencia cardiaca en los que la intervención del farmacéutico ha sido fundamental. De igual manera, la regularidad y continuidad de las consultas ofrecidas por el farmacéutico han colaborado tremendamente a la mejora en la calidad de los servicios. En dos de estas clínicas las citas con el médico tienden a espaciarse dos y tres meses, por lo que no es de extrañar que la diabetes se descontrole o permanezca descontrolada sin la atención requerida, como muestran ambos casos. Además el énfasis en la administración de servicios en español para pacientes hispanos ha tenido un impacto inconmensurable en los cuidados médicos, sobre todo por el hecho de que muchos de estos pacientes son analfabetos.

DISCUSIÓN:

Como se puede apreciar, el proyecto ha sido efectivo en la mejora de los parámetros de salud de los pacientes atendidos en las tres clínicas participantes. Es remarcable que entre los pacientes con problemas de presión arterial elevada se haya logrado alcanzar durante el seguimiento una presión arterial promedio dentro de los objetivos clínicos para el tratamiento de la hipertensión en Estados Unidos[11,12]. Similarmente, el impacto de los farmacéuticos en la mejora de la HbA1c ha sido considerable, sobre todo teniendo en cuenta que, como ha sido reportado recientemente, podría existir una correlación entre el estado de deprivación socioeconómica y los niveles de la HbA1c, el riesgo de desarrollar neuropatía y retinopatía, y una frecuencia más baja de hospitalizaciones de un día[16]. Aunque los estudios no son estrictamente comparables es importante hacer notar que la mejora preliminar de la HbA1c obtenida por el proyecto supera el efecto conseguido mediante terapia intensiva en el estudio UKPDS[17], en el cual una mejora de 11% en la HbA1c reportó una reducción significativa en el riesgo de contraer alguna complicación de la diabetes[17].

Entre los factores que pueden explicar el impacto positivo del proyecto están el uso más racional de los medicamentos, el prestar servicios en el idioma del enfermo, la utilización de profesionales especializados en el área en cuestión, y un seguimiento más sistemático de los pacientes. El farmacéutico sirve como complemento al médico, que en muchos casos tiene apenas quince minutos para atender un paciente. Sin embargo, el proyecto carece de un grupo comparativo –por ejemplo, otras clínicas con población similar— que permitan llegar a conclusiones definitivas sobre la mejoría en los resultados. En esto se está trabajando actualmente.

Un aspecto que muestra la recepción que se le ha dado a la profesión de farmacia es que dos de las clínicas han contratado o están en el proceso de contratación de un farmacéutico, aunque con la función principal de dispensar los medicamentos. Un factor importante en este sentido es el hecho de que las clínicas no son retribuidas financieramente por la labor del farmacéutico, lo que hace preferible que las labores clínicas estén a cargo de los médicos, los médicos asistentes (*physician assistants*) y las enfermeras (*nurse practitioners)*, cuyos servicios son pagados por el condado. El farmacéutico, por su experiencia y eficiencia, se ve así constreñido a la función de entrega de medicamentos, ya que, en su ausencia, este trabajo suele estar reservado para médicos y enfermeras.

El proyecto también ha tenido un efecto positivo en los estudiantes de farmacia, muchos de los cuales desconocen por completo las condiciones en las que se trabaja en una clínica de este tipo. Aunque no se ha cuantificado, esta experiencia ha hecho cambiar a muchos estudiantes las perspectivas de su carrera, eligiendo encaminarla hacia la farmacia clínica y ambulatoria. Otros estudiantes utilizan el paso por estas clínicas para adquirir habilidades que luego les puede servir en su vida profesional, como aprender otro idioma o a poner una vacuna.

También ha habido fracasos. Por ejemplo, no se ha logrado implementar un programa de detección de enfermedades y tampoco otro de contracepción de emergencia debido a problemas logísticos como la falta de espacio en las clínicas o el costo de los materiales. Tampoco se pudieron administrar el número de vacunas deseadas, debido principalmente a la escasez de vacunas en el invierno 2004-2005 y el hecho de que la mayoría de pacientes en estas clínicas, por cuestiones de edad, no cumplen los requisitos para la administración de la vacuna de la gripe.

CONCLUSIÓN

Los Centros Comunitarios de Salud juegan un papel fundamental en el sistema sanitario estadounidense en lo que respecta a proveerle cuidados médicos a las personas de bajos recursos. Como ha sido mostrado por el proyecto, los farmacéuticos pueden desempeñar una labor importante para mejorar los servicios en estos centros. Dificultades principalmente financieras parecen entorpecer la incorporación total del farmacéutico a las tareas clínicas.

REFERENCIAS:

1.- De Navas Walt C, Proctor BD, Mills RJ. Income, poverty, and health insurance coverage in the United States: 2003. En: US Census Bureau. Current Population Reports, Consumer Income. US Government Printing Office, Washington (DC). 2004;60:226.

2.- Mort EA, Edwards JN, Emmons DW. Convery K. Blumenthal D. Physician response to patient insurance status in ambulatory care clinical decision-making. Implications for quality of care. Medical Care 1996;34:783-97.

3.- Callahan ST, Cooper, WO. Uninsurance and Health Care Access Among Young Adults in the United States. Pediatrics 2005;116: 88-95.

4.- Nelson KM. Chapko MK. Reiber G. Boyko EJ. The association between health insurance coverage and diabetes care; data from the 2000 Behavioral Risk Factor Surveillance System. Health Services Research. 2005;40:361-72.

5.- Simpson L, Owens PL, Zodet MW, Chevarley FM, Dougherty D, Elixhauser A, McCormick MC. Health care for children and youth in the United States: annual report on patterns of coverage, utilization, quality, and expenditures by income. Ambulatory Pediatrics. 2005;5:6-44.

6.- National Association of Community Health Centers Inc. The safety net on the edge. Disponible en: http://www.nachc.org/research/Files/SNreport2005.pdf (Accedido el 24 de enero de 2006).

7.- Goyette D, Disco ME, Leal S, Schwed DH. The pharmacist as a primary care provider for the medically underserved. Journal of the American Pharmacists Association: JAPhA. 2003;43(Suppl 1):S52-3

8.- Adams D, Wilson AL. Structuring an indigent care pharmacy benefit program. Am J Health-Syst Pharm. 2002;59:1669-75.

9.- Adams D, Wilson AL. Drug selection for safety-net-provider formularies. Am J Health-Syst Pharm. 2002; 59:1675-8.

10.- Leal S, Soto M. Pharmacists Disease State Management through a Collaborative Practice Model Journal of Healthcare for the Poor and Underserved. 2005;16: 220-224.

11.- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care. 2005; 28 (Suppl 1):S4-36.

12.- Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment odf High Blood Pressure. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment odf High Blood Pressure. JAMA. 2003;289:2560-2572.

13.- National Committee for Quality Assurance. The state of healthcare quality 2003. Disponible en: http://www.ncqa.org/Communications/State%20Of%20Managed%20Care/SOHCREPORT2003.pdf. (Accedido el 25 de enero de 2006).

14.- Grundy SM, Cleeman JI, Merz CNB, et al: Implications of recent clinical trials for the national cholesterol education program adult treatment panel III guidelines. Circulation 2004;110:227–239.

15.- Johnson KA. Progress report for UniHealth Foundation. Comunicación personal.

16.- Bihan H, Laurent S, Sass C, Nguyen G, Huot C, Moulin JJ, Guegen R, Le Toumelin P, Le Clésiau H, La Rosa E, Reach G, Cohen R.Association Among Individual Deprivation, Glycemic Control, and Diabetes Complications. Diabetes Care. 2005;28:2680-2685.

17.- The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33) Lancet 1998;352:837–853.

Comentario del Revisor Enrique C. Seoane-Vázquez PhD.. Assistant Professor, Ohio State University, College of Pharmacy and Center for HOPES, School of Public Health. Columbus. USA

Los resultados del estudio ponen en énfasis la necesidad del desarrollo de la atención farmacéutica en la atención primaria. La coordinación de la atención por el farmacéutico resulta en una mejora de los indicadores de salud de la población de pacientes y en un uso más eficiente de los recursos disponibles.

El estudio también destaca la decisiva participación del farmacéutico en la atención al paciente mediante la evaluación del *estatus* del paciente y de sus necesidades de medicamentos, la identificación de problemas de salud que estaban siendo desatendidos, la mejora de la comunicación con el paciente y de la educación para la salud, y la coordinación de la atención.

Comentario del revisor María Jesús Coma del Corral MD. PhD. Unidad de Investigación. Hospital General Yagüe. Burgos. España

En la presente contribución puede apreciarse el efecto de la incorporación del farmacéutico en el equipo de atención primaria de una población de pacientes especialmente desfavorecida donde los problemas de salud se unen a problemas socioeconomicos y de acceso a los servicios de salud.

El conocimiento farmacoterapéutico del farmacéutico permite la adecuación del tratamiento a las necesidades específicas de los pacientes, así como una mejor educación del paciente en el uso de las terapias. El estudio también destaca la necesidad de adecuar los servicios de salud a las características de la población atendida, particularmente en relación al idioma y al nivel de educación.

Comentario del Revisor José Ramón García Soláns Farmacéutico Comunitario. Presidente de LIFARA, Sociedad Aragonesa de Farmacia Comunitaria. Zaragoza. España

Los pacientes necesitan atención farmacéutica, sean del primer o del tercer mundo. Su salud mejora cuando un farmacéutico se implica en su cuidado. Artículos como el presente van consolidando la anterior afirmación, aunque la situación económica y legal en determinados países hace que esa labor la asuman otros profesionales sanitarios. Si no se asume de manera rápida y decidida por la profesión farmacéutica, otros lo harán, relegando al farmacéutico a la mera custodia y entrega de medicamentos.

Los autores del artículo no se plantean la existencia de problemas relacionados con medicamentos (PRM), ni sus posibles clasificaciones, simplemente acuden a la raíz del problema; la falta de salud del paciente y actúan sobre ella, no generan una jerga propia diferenciadora de otros profesionales sanitarios, usan el lenguaje común a la Sanidad.

***Corresponding author:**
Kathleen A. Johnson PharmD, MPH, PhD
Associate Professor, Departments of Pharmacy and Pharmaceutical Economics and Policy
Vice Chair, Department of Pharmacy
USC School of Pharmacy
1540 E. Alcazar St. CHP 140E
Los Ángeles, CA 90033
Email: kjohnson @ usc.edu

Recibido 27 de enero de 2006.
Publicado 30 de enero de 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

EVOLUTION OF HIV-1 VIRAL LOAD IN PATIENTS FOLLOWED-UP FOR OVER 3 YEARS

Eiros JM*, Ortega MP,* Mayo A**, Labayru C,*** Ortiz de Lejarazu R*

*Microbiology Department of Clinic University Hospital of Valladolid
**Faculty of Medicine
***Microbiology Service of "Pio del Río Hortega" Hospital
Valladolid. Spain.

eiros @ med.uva.es

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:26-32

Comment of the reviewer Suthon Vongsheree MD. HIV/AIDS Laboratory, Thai NIH. Department of Medical Science. Ministry of Public Health, Thailand.

Comment of the reviewer Angel San Miguel, MD. PhD. Clinical Chemistry Service. "Del Rio Hortega" Universitary Hospital. Valladolid, Spain.

Comment of the reviewer María Luisa Ávila Agüero MD. Jefa del Servicio de Infectología. Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. San José, Costa Rica.

ABSTRACT
Objectives: To describe the evolution of a Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) infected patient cohort monitored for over 1,000 days.
Methods: HIV-1 Viral Load (VL), CD4/l lymphocyte values and antiretroviral therapies given to the patients were evaluated throughout the follow-up period. We present a retrospective descriptive study of the HIV-1 VL determinations performed on 369 individuals followed-up for over 1,000 days.
Results: The "non-detectable" VL (< 400 RNA copies/ml) percentage increased inversely with the decrease in VL above the detection limit (> 100.000 copies/ml) from the interval of 0-75 days up to the interval of 501-1,000 days (t-test, p=0.005); at that point, results switched to the opposite.
Conclusions: Both CD4/ cell count lower than 200x106 and patients receiving highly active antiretroviral therapies (HAART) were related to "non-detectable" VL levels. In our series the time period between 700 and 1,000 days can be the maximum interval for benefits from therapy and virology evaluation.

Key words: HIV, Viral Load, Follow-up, HAART, observational study.

RESUMEN
Objetivo: Describir la evolución de una cohorte de pacientes con infección por el Virus de la

Inmunodeficiencia Humana (VIH) monitorizados durante más 3 años.
Métodos: Durante el período de seguimiento se han evaluado en 396 individuos con infección VIH, seguidos durante más de 1000 días los parámetros de carga viral, valores de linfocitos CD4 y terapia antirretroviral.
Resultados: Las porcentajes de carga viral no detectable (<400 copias/ARN/ml) se incrementaron de manera proporcional a cómo descendieron los valores de carga viral elevada (>100.000 copias/ARN/ml), y su rango adquirió significación desde el intervalo de 0-75 días de seguimiento al de 501-100 días (t-test, p=0.005). Los recuentos de CD4 bajos (<200) en pacientes que recibieron Terapia antirretroviral de alta eficacia se asociaron a valores indetectables de carga viral.
Conclusiones: En nuestra serie el período situado entre 700-100 días representó el intervalo de máximo beneficio para la evaluación virológica y terapéutica.

Palabras clave:HIV, Carga viral, Seguimiento, HAART, estudio observacional

---

INTRODUCTION

The appearance of highly active antiretroviral therapies (HAART) and the patients Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) viremia evaluation by plasma analysis have brought about an important change in clinical attention to HIV-1 patients. HIV-1 infection has become chronic and almost asymptomatic, with mortality reduced between 50-90% in patients with high treatment adherence [1,2]. However, the introduction of these antiretroviral therapies has not totally eradicated the virus from the organism [3]. Clinical follow-up of HIV-1 patients has lengthened, bringing new implications: treatment failure, documented mutations involving therapy resistance and possible treatment alternatives. These circumstances have also increased interest in describing real behavior in large patient samples followed-up in health centers [4-5]. This has lead in turn to the increase of studies on variability in clinical practices [6-11] in the search for helpful data.

The objective of this study was to evaluate HIV-1 VL evolution, CD4 /cell count and antiretroviral treatments of patients in clinical practice during long-term follow-up.

MATERIALS AND METHODS

The Microbiology Laboratory of the University Teaching Hospital of Valladolid (Spain) analyzes plasma viremia for eight hospitals, three prisons and other health centers treating HIV patients (centers for intravenous drug addicts individuals, out-patient clinics, etc.) in the Autonomous Community of "Castilla y León".

This study used samples from all these patients based on the existence of a follow-up period above but close to 1,000 days (average length 1,125 days; interval 1,001-1,326). This criterion yielded 369 individuals followed periods of time from September 1996 to June 2000. The individuals were 74% (273 subjects) male and 60.4% (223 patients) older than 30, based on information available. A HIV infection risk factor was found in 70.5% (N=260) of the individuals; the most frequent modality was addiction through intravenous drugs (65.4%, N=170), followed by sexual transmission (20.8%, N=54) and blood derivative transfusions (3.8%, N=10), while only three patients had mothers with HIV antibodies. The risk factor was not noted in the case files of the remaining 8.8% of the patients. Based on cohort cases with available data, HIV infection was principally diagnosed between 1990 and 1995 (122 individuals); 70 individuals were diagnosed before 1990 and 63 after 1995. No HIV diagnosis date was available for 121 patients (32.8%).

All samples used for HIV-1 RNA analysis were plasma samples. The Microbiology Laboratory used the standard and ultrasensitive versions of the Cobas Amplicor® HIV-1 MonitorTM technique (Roche Diagnostics, Branchburg, NJ, USA) and the QuantiplexTM® HIV-1 RNA 3.0 assay (Bayer Corporation Diagnostics Division, Tarrytown, NY, USA) throughout the study period. For this study, due to the time span covered, viremia analysis results lower than 400 copies RNA/ml have been considered as "non-detectable" regardless of the threshold level of the technique used. All VL above 100,000 copies RNA/ml (the limit of the Cobas Amplicor® HIV-1 MonitorTM Test) were considered as "above 100,000 copies."

The length of patient follow-up was divided into irregular intervals to make analysis easier. VL, CD4/l lymphocyte count and antiretroviral therapy were determined at the moment of initiating follow-up and also in time intervals of 0-75 days, 76-105, 106-200, 200-500, 501-1,000 days and over 1,000 days. The

average number of VL determination per patient performed during the study period was 9.5.

The antiretroviral therapy that the patients received was indicated by a variable having two categories: Treatments with a single drug or with a combination of two drugs were considered "pre-HAART therapies"; the use of three or more drugs was denominated "HAART therapy."

Patient virological, immunological and therapeutical situations were described with varied categories and percentage calculations. The relation between VL and the immunological and therapeutical parameters was calculated by statistical significance, using the SPSS 9.0 computer program.

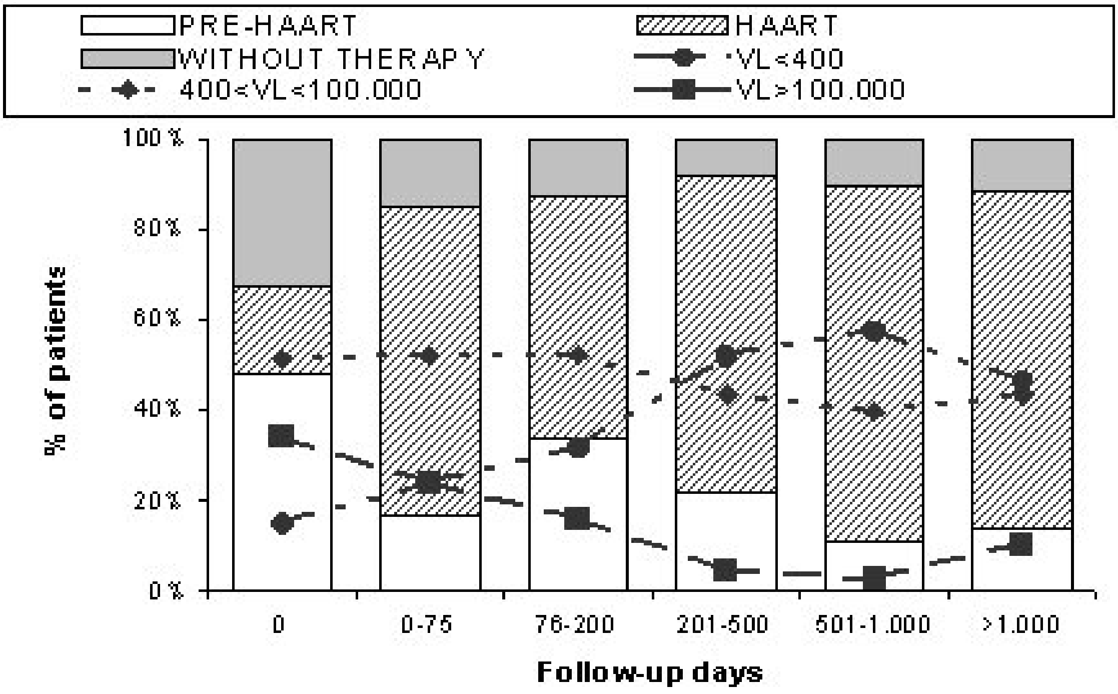
RESULTS

Viral Loads lower than threshold level were presented by 14.9% of the patients (N=55) at the beginning of follow-up. At that moment 33.9% had VL > 100,000 copies RNA/ml and the remaining 51.2% patients had VL between 400 and 100,000 copies RNA/ml. Patient VL in our sample showed steady intermediate VL levels during the first six months (51.2%, 52.2% and 52.2% up to the interval 76-200 days), with a drop after that moment (43.5%, 39.8% and 43.3%). "Non-detectable" VL increased inversely to the decrease in VL above detection limit after the interval 0-75 days; at the time interval 501-1,000 days this tendency reversed, VL above 100,000 copies RNA/ml increasing (from 2.7% to 10.4%) while "non-detectable" VL decreased (57.5% to 46.6%).

Immunological state at the moment of incorporation into the study was registered for 320 subjects (86.7%); 110 patients (34.4%) presented CD4/l lymphocyte counts lower than 200 x106 and 65 (20.3%) counts higher than 500 x 106. CD4/l lymphocyte counts remained practically stable throughout the follow-up period, with percentages about 65% for counts above 200 x106 and about 35% for those below that.

Figure 1 shows the evolution of VL and CD4/l lymphocyte counts throughout follow-up. Low VL (VL < 400 copies RNA/ml) is associated with CD4/l lymphocyte counts above 200 x106 throughout follow-up (between 73.1% and 80.2% of the subjects with "non-detectable" VL present lymphocyte CD4/mm3 counts below 200 x106). Differences in CD4/l lymphocyte count distribution are statistically significant only for follow-up above 1,000 days (p=0.005).

Figure 1. Evolution of HIV Viral Load percent (lines) and of CD4/l lymphocyte counts



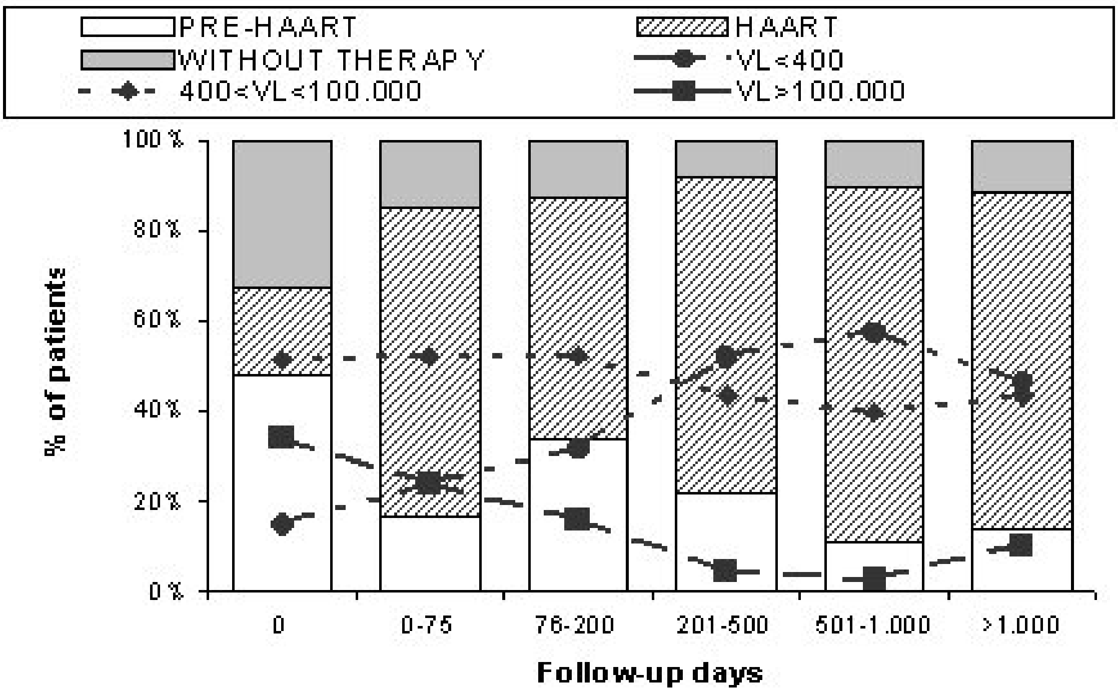
(bars).

Cohort patients for whom data on antiretroviral therapy was obtained at the beginning of follow-up (N=302, 81.8%) were divided into monotherapy regimes (27, 10.2%), bitherapy (101, 38%) or triple therapy (87, 19.2%); the remaining 87 individuals (32.7%) were not receiving any antiretroviral therapy when they were included in our study. HAART therapy individuals generally increased throughout follow-up: 19.2%, 68.5%,

53.9%, 70.1%, 78.9% and 74.5%. At the end of the study 292 individuals (79.1%) had received highly active antiretroviral therapy (HAART).

HAART therapy was more frequent in patients with "non-detectable" VL than in those undergoing single or double-drug therapy (grouped together as "pre-HAART") or those without antiretroviral therapy. The lowest VL percent was found in those not receiving any antirretroviral therapy. Differences were statistically significant for follow-up intervals above 1,000 days (p=0.004) and the interval 201-500 days (p=0.001). Figure 2 shows VL progression and patient treatments.

Figure 2. Evolution of patient HIV Viral Load percent (lines) and antiretroviral therapy



(bars).

During the study period a single drug was used for 106 patients (28.7%). The rest of the patients received the following therapies: 84 subjects (22.8%) had 2 different drug therapies, 76 (20.6%) had 3 changes of therapy, 47 patients (12.7%) had 4 changes, 12 (3.3%) had 5, and 3 patients (0.8%) received 6 and 7 changes in therapy respectively. To establish the average number of treatments among the patients for whom this information was available, the coefficient between the number of treatments and the individuals included in them was calculated; 789 treatments yielded a coefficient of 2.4 treatments per patient during follow-up.

DISCUSSION

The patients from this cohort were similar with respect to availability of resources and potential access to the antiretrovirals used. The patients began their follow-up toward the end of 1996 and early 1997; the only therapy available at that time was the pre-HAART modality (single and double-drug). These patients were subject to changes in therapy based on recommendations from experts arising throughout the follow-up period [12-16] (principally switches to HAART therapy). The incorporation of most of the individuals included in HAART modalities occurred in the follow-up interval of 0-75 days. This was also the period when the proportion of patients having VL over 100,000 copies RNA/ml decreased, while the proportion of those with VL under 400 copies RNA/ml increased simultaneously. These two VL categories varied in that time period, with no modification observed in the VL interval of 400-100,000 copies RNA/ml. These results might be considered unique to our cohort, but the study by Lepri et al, 2001 [17], evaluating highly active therapies in the context of a clinical trial, shows similar changes.

Later controls in our study included more and more patients receiving HAART therapy. A simultaneous increase in the proportion of plasma viremia below threshold level can be seen, along with decreases in the other two VL study levels. Several publications consider six months to be the maximum time interval in which highly active therapy should be evaluated [7,16], so our study has assimilated this 6-month control within the time interval of 201-500 days follow-up. The elevated number of patients who still have VL levels above detection limit at this follow-up moment is noteworthy in our results. One explanation could be the

fact that different therapy modalities began sequentially in our series, so this length of follow-up (201-500 days) is not long enough to evaluate therapy success. However, it is evident that all subjects included in the time cut of 201-500 days have a previous control at least six months earlier (even though the follow-up period of some of them is longer than six months).

Our study results show an unfavorable VL evolution at the end of patient follow-up. It is important to note that this VL increase does not correspond to modifications in the distribution of therapy modality proportions given with respect to previous controls. Consideration of therapies available when current therapy has failed [9,15,19] and the appearance of antiretroviral-resistant HIV strains [20,21] are two aspects widely discussed in literature published. For our patients, the maximum time period of benefit from therapies and virology monitoring was between 700 and 1,000 days

We studied the number of antiretroviral regimes each patient received throughout their follow-up. Conscious of the limitations of the study, we can say that our patients received an average of approximately 2.4 different therapies. Despite the fact that we did not investigate therapy change causes, it is valid to say that this average implies a different therapy regime every four VL controls. Palella et al, 2002 [22] had described a different evolution with the second or more HAART therapy respect the first one.

In our opinion, providing real findings about the patient progression in health centers can be very helpful. It would be useful to know the experiences of other groups working in situations similar to ours.

REFERENCES

1.- Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, Aschman DJ, Holmberg SD. Declining morbidity and mortality among patients with advanced Human Immunodeficiency Virus infection. N Engl J Med 1998;338:853-860.

2.- Paterson DL, Swindells S, Mohr J, Brester M, Vergis EN, Squier C, Wagener MM, Singh N. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. Ann Intern Med 2000;133:21-30.

3.- Finzi D, Hermankova M, Pierson T, Carruth LM, Buck C, Chaisson RE, Quinn TC, Chadwick K, Margolick J, Brookmeyer R, Gallant J, Markowitz M, Ho DD, Richman DD, Siliciano RF. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. Science 1997;278:1295-1300.

4.- Miller V, Sabin CA, Phillips AN, Rottmann C, Rabenau H, Weidmann E, Rickerts V, Findhammer S, Helm EB, Staszewski S. The impact of protease inhibitor-containing highly active antiretroviral therapy on progression of HIV disease and its relationship to CD4 and viral load. AIDS 2000;14:2129-2136.

5.- Hubert JB, Burgard M, Dussaix E, Tamalet C, Deveau C, Le Chenadec J, Chaix ML, Marchadier E, Vilde JL, Delfraissy JF, Meyer L, Rouzioux. Natural history of serum HIV-1 RNA in 330 patients with a known date of infection. AIDS 2000;14:123-131.

6.- Del Amo J, Del Romero J, Barrasa A, Pérez-Hoyos S, Rodriguez C, Diez M, García S, Soriano V, Castilla J, and the Grupo de Seroconvertores de la Comunidad de Madrid. Factors influencing HIV progression in a seroconverter cohort in Madrid from 1985 to 1999. Sex Transm Inf 2002;78:255-260.

7.- Grabar S, Pradier C, Le Corfec E, Lancar R, Allavena C, Bentata M, Berlureau P, Dupont C, Fabbro-Peray P, Poizot-Martin I, Costagliola D. Factors associated with clinical and virological failure in patients receiving a triple therapy including a protease inhibitor. AIDS 2000;14:141-149.

8.- Howard AA, Arnsten JH, Lo Y, Vlahov D, Rich JD, Schuman P, Stone VE, Smith DK, Schoenbaum EE; the HER Study Group. A Prospective study of adherence and viral load in a large multi-center cohort of HIV-infected women. AIDS 2002;16:2175-2182.

9.- Mocroft A, Devereux H, Kinloch-de-Loes S, Wilson D, Madge S, Youle M, Tyrer M, Loveday C,

Phillips AN, Johnson MA. Immunological, virological and clinical response to highly active antiretroviral therapy treatment regimens in a complete clinic population. AIDS 2000;14:1545-1552.

10 .- Phair JP, Mellors JW, Detels R, Margolick JB, Munoz A. Virologic and immunologic values allowing safe deferral of antirretroviral therapy. AIDS 2002;16:2455-2459.

11. Welch K, Morse A, Clark R, Ogbuokiri T. Factors associated with incomplete virological response to highly active antiretroviral therapy. Clin Infect Dis 2000;30:407-408.

12.- BHIVA Guidelines Co-ordinating Committee. British HIV Association guidelines for antiretroviral treatment of HIV seropositive individuals. Lancet 1997;349:1086-1092.

13.- Carpenter CC, Fischl MA, Hammer SM, Hirsch MS, Jacobsen DM, Katzenstein DA, Montaner JS, Richman DD, Saag MS, Schooley RT, Thompson MA, Vella S, Yeni PG, Volberding PA. Antiretroviral therapy for HIV infection in 1996. Recommendations of an International panel. International AIDS Society- USA. JAMA 1996;276:146-154.

14.- Carpenter CCJ, Cooper DA, Fischil MA, Gatell JM, Gazzard BG, Hammer SM. Antiretroviral therapy in adults. Updated recommendations of an International panel. International AIDS Society-USA panel. JAMA 2000;283:381-391.

15.- Miro JM, Antela A, Arrizabalaga J, Clotet B, Gatell JM, Guerra L, Iribarren JA, Laguna F, Moreno S, Parras F, Rubio R, Santamaria JM, Viciana P. Recommendation of GESIDA (AIDS Study Group)/National Plan on AIDS with respect to the anti-retroviral treatment in adult patients infected with the human immunodeficiency virus in the year 2000 (I). Enferm Infec Microbiol Clin 2000;18:329-351.

16.- Moreno S, Arrizabalaga J, Gatell JM, Clotet B, Aguirrebengoa K, Antela A, Iribarren JA, Laguna F, Miro JM, Ocana I, Rubio R, Viciana P, Podzamczer D. Recommendations on antiretroviral treatment. The AIDS Study Group of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology. Med Clin (Barc) 1998;110:109-106.

17.- Lepri AC, Miller V, Phillips AN, Ravenau H, Sabin C, Staszewski S. The virological response to highly active antiretroviral therapy over the first 24 weeks of therapy according to the pre-therapy viral load and the weeks 4-8 viral load. AIDS 2001;15:47-54.

18.- Mocroft A, Phillips AN, Miller V, Gatell J, van Lunzen J, Parkin JM, Weber R, Roge B, Lazzarin A, Lundgren JD; EuroSIDA study group.The use of and response to second-line protease inhibitor regimens: results from the EuroSIDA study. AIDS 2001;26:201-209.

19.- Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV Infection convened by the Department of Health and Human Services (DHHS) and the Henry J. Kaiser Family Foundation. Guidelines for the use of antirretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents, February, 2002. www.aids.nih.gov.

20.- Lorenzi P, Opravil M, Hirschel B, Chave JP, Furrer HJ, Sax H, Perneger TV, Perrin L, Kaiser L, Yerly S. Impact of drug resistance mutations on virologic response to salvage therapy. AIDS 1999;13:F17-F21.

21.- Parkin NT, Deeks SG, Wrin MT, Yap J, Grant RM, Lee KH, Heeren D, Hellmanna NS, Petropoulos CJ. Loss of antiretroviral drug susceptibility at low viral load during early virological failure in treatment-experienced patients. AIDS 2000;14:2877-2887.

22.- Palella Jr FJ, Chmiel JS, Moorman AC, Holmberg SD: The Outpatient Study Investigators. Durability and predictors of success of highly active antiretroviral therapy for ambulatory HIV-infected patients. AIDS 2002;16:1617-1626.

Comment of the reviewer Suthon Vongsheree MD. HIV/AIDS Laboratory, Thai NIH. Department of Medical Science. Ministry of Public Health, Thailand.

The manuscript describes chronologically change of HIV-1 and CD4 cell levels among 369 ARV treated patients with a long follow-up period over 3 years. Successful treatment was observed during 201-1000 days of treatments monitored by 9.5 VL tests/individuals, retrospectively.

Given to the comprehensive data of this article, the manuscript should be accepted for publication.

Comment of the reviewer Angel San Miguel, MD. PhD. Clinical Chemistry Service. "Del Rio Hortega" Universitary Hospital. Valladolid, Spain.

En este trabajo los autores estudian y describen la evolución de los niveles de carga viral en una cohorte de 369 pacientes infectados con VIH-1 y monitorizados durante 1000 días de tratamiento. Los parámetros utilizados en el estudio son, carga viral de VIH-1, valores de los niveles de lintocitos CD4, y los intervalos de seguimiento de las terapias antiretrovirales.

En los resultados obtienen que le porcentaje de carga viral "no detectable" (< 400 copias RNA/ml) aumenta de forma inversamente proporcional a la disminución en el límite de detección (> 100.000 copias RNA/mL) en el intervalo de 0-75 días de tratamiento, hasta el intervalo de 501-1000 días de tratamiento que ocurre lo contrario.

Las conclusiones más relevantes del estudio, según los autores son: (1) que de los parámetros estudiados, los niveles de CD4 < 200 x 106 y los pacientes que reciben terapias antiretrovirales altamente activas, han podido ser relacionados con niveles de carga viral de VIH-1 "no detectable"; y (2) que el intervalo de tiempo entre 700 y 1000 días puede ser el intervalo máximo para los beneficios de la terapia y de la evaluación virológica del paciente.

Mi juicio personal sobre el trabajo es ampliamente favorable: está bien diseñado, su modelo experimental es adecuado, los datos parecen fidedignos y las conclusiones aportan resultados deseables. Por ello, me parece obligado recomendar su publicación en Electronic Journal of Biomedicine. Como sugerencia, quisiera animar a los autores, a los cuales aprecio y respeto, a que en esta misma revista presenten los resultados de las resistencias de VIH a los antiretrovirales (bien sobre el grupo de pacientes estudiado u otro).

Comment of the reviewer María Luisa Ávila Agüero MD. Jefa del Servicio de Infectología. Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. San José, Costa Rica.

He revisado el artículo y lo encuentro muy adecuado para publicación, no tendría que hacersele ninguna corrección.

Received: December 16, 2005.
Published: February 2, 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

L-CARNITINE-INDUCED MODULATION OF PLASMA FATTY ACIDS METABOLISM IN HYPERLIPIDEMIC RABBITS

*Maritza F. Diaz Gómez PhD[1], Julio A. Urbina PhD[2], Flor López MSc[2], Frank Hernández Rosales PhD[1]

[1]Ozone Research Center, National Center for Scientific Research. Havana, Cuba
[2]Venezuelan Institute for Scientific Research. Caracas. Venezuela

maritza.diaz @ cnic.edu.cu

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:33-41

Comment of the reviewer Angel San Miguel, MD. PhD. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Rio Hortega. Valladolid. España

Comment of the reviewer Prof. Pilar Muñiz PhD. Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos. Burgos. Spain

---

RESUMEN:
El presente estudio tiene como objetivo investigar si el efecto hipocolesterolémico de la suplementación L-carnitina está relacionado con el metabolismo de los ácidos grasos de las lipoproteínas. Los cambios en la composición de ácidos grasos y el contenido de colesterol fueron medidos en las lipoproteínas de seis grupos diferentes de conejos, grupo 1, dieta estándar, grupo 2, dieta estándar más L-carnitina 80 mg/kg, grupo 3, dieta estándar más 0,5 % de colesterol, grupo 4, dieta estándar y 0,5 % de colesterol más L-carnitina 80 mg/kg durante 126 días. Los grupos 5 y 6 fueron alimentados con la misma dieta del grupo 4 en un período previo de 126 días, y después de este tiempo, el grupo 5 fue alimentado con una dieta igual al grupo 1 y el grupo 6 fue alimentado con una dieta igual al grupo 2 durante 65 días.

Sin embargo, la progresión de la hipercolesterolemia fue reducida un 50 % por la administración de la L-carnitina en aquellos animales alimentados con dieta de colesterol. Cambios en la composición de ácidos grasos en los esteres de colesterol de las lipoproteínas fueron encontrados en todos los grupos de animales alimentados con L-carnitina. Durante el período de alimentación estándar, la relación de ácidos grasos saturados/insaturados fue disminuida en la LDL e incrementada en las partículas de HDL y VLDL. En el período de progresión de la hiperlipidemia la relación ácidos grasos saturados/insaturados fue ligeramente incrementada en la HDL y en la VLDL+LDL fue disminuida. En el período de regresión de la hiperlipidemia los niveles de colesterol plasmáticos fueron reducidos en un 33 % en el grupo; y la relación saturados/insaturados tuvo el mismo incremento que el observado en el período de progresión de las partículas HDL y VLDL+HDL. Además, se encontró en el grupo 6 una marcada reducción del 75 % de la placa aterosclerótica de la aorta. Se concluye que la L-carnitina, contribuye al mejoramiento del metabolismo de las lipoproteínas.

Palabras clave: L-carnitina; lipoproteinas, colesterol, conejos, ácidos grasos.

ABSTRACT
The present study was designed to examine whether the hipocholesterolemic effect of L-carnitine supplementation is related with lipoprotein fatty acid metabolism. Fatty acid compositional and cholesterol content changes were measured in lipoproteins of six different groups of rabbits. Group 1, rabbits fed a standard diet; group 2, rabbits fed standard diet plus L-carnitine 80 mg/kg bw; group 3, rabbits fed a 0.5 % cholesterol diet; group 4, rabbits fed a 0.5 % cholesterol diet plus L-carnitine 80 mg/kg b.w. These four groups were fed their diets during 126 days. Group 5 and 6 were fed the same diet as group 4 in a previous period of 126 days, and after this time, group 5 was fed the same diet as group 1, and group 6 fed the same diet as group 2, during a second period of 65 days.

However, the progression of hypercholesterolemia was reduced 50 % by L-carnitine administration in those animals fed cholesterol diet. Fatty acid compositional changes in lipoprotein-cholesteryl esters were found in all groups of animals supplemented with L-carnitine. During the standard-fed period the saturated and unsaturated fatty acid ratio was increased in VLDL and HDL particles whereas was decreased in LDL. In the hyperlipidemia progression period the saturated to unsaturated fatty acid ratio in HDL fraction was slightly enhanced and in the VLDL+LDL modified particle was diminished. In the hyperlipidemia regression period, plasma cholesterol level was additionally reduced in a 33 % in the group 6; and the saturated to unsaturated fatty ratio had the same behaviour from that observed in the progression period for HDL and VLDL+LDL particles. A remarkable reduction (75%) of aorta atherosclerotic plaques in the group 6 was found. From these results we concluded that L-carnitine, in this experimental model, induces an improved lipoprotein metabolism.

Key Words: L-carnitine; lipoproteins, cholesterol, rabbits, fatty acids.

INTRODUCTION

L-carnitine (ß-hyydroxy-g-trimethylamino butyrate) has been described as a conditionally essential nutrient for human[1] and animals[2]. About 75 % of the carnitine source for the body stores comes from the diet. In man the liver and the kidney synthesize the remaining 25 % from the immediate precursor gamma butyrobetaine[3, 4].

L-carnitine is a quaternary amine which has different biological roles including: mitochondrial long-chain fatty acid oxidation, activation of aerobic glycolisis, enhancement of respiratory chain function, buffering of the mitochondrial acyl CoA/CoA couple, scavenger system for acyl groups peroxisomal fatty acid oxidation, branched amino acid metabolism, membrane stabilization, and donor of acetyl groups for biosynthesis[5]. Carnitine in blood is much less concentrated than in tissues. Consequently carnitine, either introduced in the diet or synthesizes de novo in the liver and kidney, must be actively concentrated from the blood into fatty acid metabolizing organs[6].

In previous experiments it has been demonstrated that L-carnitine administration is capable of reducing hyperlipidemia after fat diet feeding[7, 8]. Supplementation of L-carnitine derivatives to hyperlipidemic rabbits induces a marked lowering of plasma triglycerides, very low density lipoproteins (VLDL) and intermediate density lipoproteins (IDL) triglycerides, while plasma cholesterol is slightly and transiently reduced along with a reduction of aortic plaque thickness and extend[9]. The administration of L-carnitine in patients with type IV hyperlipoproteinemia increases carnitine and decreases triglycerides plasma levels[10-13]. Changes in the VLDL transport and not in lipoprotein metabolism has been proposed as the main mechanisms for lipid-lowering effect of L-carnitine in the hyperlipidemic rabbits[14]. However, other authors have stated that L-carnitine and its derivatives can stimulate the ß-oxidation of fatty acids that finally results in a strong control over the plasma lipid resulting in a decrease in the aortic plaque of this animal model[9]. In a previous paper we have suggested that the effect of L-carnitine in this experimental model could be associated with increased systemic breakdown of cholesteryl esters, a probable increase in reverse cholesterol transport, and the stabilization of a phospholipid-based structure of the abnormal VLDL + LDL particles[15].

To elucidate whether lowering-lipid effect of L-carnitine is related with lipoprotein fatty acids metabolism, we examine the effect of L-carnitine treatment on fatty acid change in plasma lipoproteins during rabbit hyperlipidemia progression and regression periods.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diets

Male New Zealand rabbits (2.5-3 kg.) were used in all experiments. Rabbits were fed with 100 g daily of a standard rabbit chow (Alimentos Protinal C.A., Valencia, Venezuela) with a partial composition of 19 % of crude protein (minimal), 2% of crude fat (minimal), 10% of crude staple (maximum) and 40% of free nitrogen extracts (minimal),

and water "ad libitum". The cholesterol diet consisted of the same chow supplemented with 0.5% Cholesterol (Sigma Company, 95% of purity), dissolved in 5% of corn oil containing 15% of saturated fatty acids and 85 % of unsaturated fatty acids approximately, (Mazeite, Refinadora de Maíz Venezolana C.A., Aragua, Venezuela); by kilogram of chow. The L-carnitine (Laboratory Elmor S.A., Caracas, Venezuela) was supplied slowly by oral route through the use of a stainless steel cannula after overnight fasting. Sodium penthothal (Laboratorios Abbot, Caracas, Venezuela), was employed intravenously to anesthetize animals. The experimental protocols used in the present study conformed to accepted standards; define by the Bioethics Commission of the Venezuelan Institute for Scientific Research.

After an initial adaptation period, rabbits were randomized and separated into six groups: group 1, six rabbits fed a normal diet; group 2, six rabbits fed a normal diet plus L-carnitine in a daily dose of 80 mg/kg of corporal weight; group 3, six rabbits fed the cholesterol diet; group 4, six rabbits fed the cholesterol diet plus L-carnitine (80 mg/kg); group 5, six rabbits fed the normal diet during 65 days post 126 days cholesterol diet administration; group 6, six rabbits fed the normal diet plus L-carnitine (80 mg/kg) during 65 days post 126 days cholesterol diet administration.

Lipoprotein isolation
Blood samples were taken from marginal ear vein at day 0, after 126 days (groups 1 to 4) and at 191 days (groups 5 and 6). Blood cells were removed by centrifugation at 2 000 g for 20 min and plasma from animals of each group was pooled. The lipoproteins of each pool of plasma were isolated sequentially by differential ultracentrifugation at 110 000 g at 20°C in a Beckman rotor 60-Ti. The procedure for obtaining plasma lipoproteins has been previously described in detail[16]. The isolated fractions were dialyzed exhaustively against a buffer containing 0.2 M monobasic sodium phosphate, 0.2 M dibasic sodium phosphate and 0.16 sodium chloride, pH 7.4. The lipoproteins were stored al 2°C until used. The lipoprotein purity was checked by agarose gel electrophoresis.

Lipid analysis
Cholesterol and its esters, after separation by thin-layer chromatography, were measured by the procedure of Bowman and Wollf[17]. Percentage of damaged area in aorta After sacrificing the animals, the aorta extract was proceeding in its descendent segment up to the iliac artery bifurcation. The arteries were put into a preserving solution, which contained: Tris 5 mM, CLNA 0.15 M, sodium EDTA 0.5 mM, Thimerosal 0.1%, PMSF (p-methyl sulphonyl fluoride) 0.2 mM, E-aminocaproic acid 10 mM and copper sulphate 10 mM. Tunica adventitia was eliminated dissecting the tissue with scissors, and the arteries were put into the preserving solution at 4°C up to the moment of the analysis. All samples were randomly distributed for their subsequent analysis of the percentage of damage area, by lipids staining technique by the Willis method[18].

Gas-liquid Chromatography
The methyl esters of fatty acids of the different fractions were prepared by direct transesterification[19]. The cholesteryl esters were separated by thin-layer chromatography[20]. Methylation was performed with 3 vol. of 6% methanolic sulfonic acid (v/v) in stoppered tubes at 85 0C for 90 min; the phases were separated by addition of 3 vol. of distilled water. The methyl esters were extracted three times with 2 vol. of chloroform. The chloroform was collected, evaporated under N2, and the residue was redissolved in 50 mL of chloroform.

The fatty acids were chromatographed as methyl esters on a 180 cm fused silica column with an internal diameter of 2 mm. The column packed with 10% SILAR 10 C coated on 30-200 mesh Diatoport S. The analyses were performed on Varian 3 700 gas chromatograph equipped with a flame ionization detector and a digital Perkin Elmer integrator. Helium was used as carrier gas (1.9 mL/min at 80 0C) and nitrogen as make-up gas. The temperature was programmed from 145 0C to 245 0C at 4 0C/min. External fatty acid standards (Sigma-Aldrich Chemical Company) were used to identify components.

Statistical analysis
All data are presented as means ± standard deviations. Where applicable, Wilcoxon or Mann Whitney tests were used to determine statistical significance at $p \leq 0.05$[21].

RESULTS

Normal and hyperlipidemia progression period
In table 1, the total plasma levels of cholesterol after L-carnitine administration to normal and cholesterol-fed rabbits are shown. Two relevant aspects are observed in this table. One is that L-carnitine had no significant effect on plasma cholesterol levels of animals fed a normal diet (group 2 vs. 1). The other one is a decreased pattern in cholesterol plasma levels ($p \leq 0.01$) from animals fed a cholesterol diet plus L-carnitine (group 4), when compared with those animals fed a cholesterol diet without L-carnitine supplementation (group 3).

Table 1. Effect of L-carnitine supplementation on plasma total cholesterol content during normal and hypercholesterolemia progression periods.

Diet (group No.)	Day 0	Day 126
Normal diet (1)	0.71 ± 0.16	0.52 ± 0.09
Normal plus L-carnitine (2)	0.70 ± 0.22	0.54 ± 0.07
Cholesterol-fed (3)	0.54 ± 0.10	20.96 ± 4.46[a]
Cholesterol-fed plus L-carnitine (4)	0.64 ± 0.15	10.39 ± 2.07[ab]

Values (g/L) are means ± SD for six animals in each experimental group.
a) $p < 0.05$ when compared with day 0,
b) b) $p < 0.01$ when compared with group 3 at day 126.

The changes in fatty acid composition from cholesteryl esters of the different lipoprotein particles are presented in table 2.

Table 2. Fatty acid compositional changes in lipoproteins-cholesteryl esters at the end of the hyperlipidemia progression period.

Diet (group No.)	16:0[a]	18:0	18:1	18:2	Saturated/ Unsaturated
VLDL					
Normal (1)	ND	24.1 ± 0.5	25.2 ± 0.5	50.9 ± 0.8	0.3
Normal plus L-carnitine (2)	12.9 ± 0.4	38.0 ± 0.4	9.0 ± 0.2	40.0 ± 0.2	1.0
LDL					
Normal (1)	27.9 ± 0.6	43.0 ± 0.8	6.0 ± 0.5	23.0 ± 0.6	2.4
Normal plus L-carnitine (2)	27.0 ± 0.4	19.0 ± 0.6	13.2 ± 0.2	41.0 ± 0.5	0.9
HDL					
Normal (1)	ND	11.0 ± 0.6	48.0 ± 0.6	41.3 ± 0.4	0.1
Normal plus L-carnitine (2)	44.9 ± 0.2	24.7 ± 0.6	8.1 ± 0.5	22.9 ± 0.2	2.2
Cholesterol-fed(3)	87.0 ± 0.2	2.0 ± 0.1	11.0± 0.2	ND	8.1
Cholesterol-fed plus L-carnitine (4)	85.1 ± 0.4	8.1± 0.2	7.0 ± 0.2	ND	13.3
VLDL + LDL					
Cholesterol-fed (3)	23.9 ± 0.2	11.9 ± 0.3	33.2± 0.5	31.0 ± 0.2	0.6
Cholesterol-fed plus L-carnitine (4)	7.1 ± 0.3	12.1± 0.3	25.0 ± 0.3	56.0 ± 0.2	0.2

a) Number of carbon atom: number of double bonds. ND: not detectable.
The results were obtained in a pool of plasma from six experimental animals for each experimental group, and are expressed as percentages.

The C16 and C18 fatty acids constituted more than 70% of total fatty acids, the rest being a variable mixture of long-chain polyunsaturated acids. On VLDL particle, L-carnitine in normal fed animals induced an important increase in the levels of the saturated C16 and C18 and a decrease in the level of monounsaturated C18 (group 2 vs. 1); all these changes leading to 3 times increase in the saturated to unsaturated ratio. In contrast, L-carnitine administration produces a marked reduction of this ratio in LDL particle from the same animals (group 2 vs 1), due to reduction in the saturated C18 content and a rise in the diunsaturated C18 content. Fatty acid compositional changes mediated by L-carnitine in cholesteryl esters of HDL were observed in both normal and cholesterol-fed animals as we have previously reported (15). This substance led to a notable growth in the saturated C16 and C18, and an important decline in mono/diunsaturated C18 levels, in HDL fraction from normal-fed plus L-carnitine animals (group 2 vs. 1), given a prominent increment in the saturated to unsaturated ratio. In cholesterol-fed rabbits, the largest fraction of cholesterol and triglycerides of exogenous or endogenous origin is present in abnormal VLDL particle with electrophoretic mobility (ß-VLDL)[22], which is named by other as VLDL +

LDL particle (16). In our study, the fatty acid composition in cholesteryl esters of VLDL + LDL particle changes in favor of a decay in the content of saturated C16 and an enhancement in the level of diunsaturated C18 leading to a 3-fold reduction of the saturated to unsaturated ratio of those animals supplemented with L-carnitine (group 4 vs 3).

Hyperlipidemia regression period
L-carnitine-induced effects on plasma cholesterol level during the regression period of hypercholesterolemia are presented in table 3. Hypercholesterolemic animals without administration of L-carnitine (group 5) had a significant average reduction in plasma cholesterol (-11.99 g/L). Supplemented animals with L-carnitine (group 6) had a higher significant average plasma cholesterol reduction (-15.96 g/L) than rabbits of group 5. The decrease in group 6 was highly significant ($p \leq 0.01$), when compared with group 5.

Table 3. Total plasma cholesterol values from rabbits with and without L-carnitine suplementation during the hyperlipidemia regression period.

Diet (group No.)	Day 126	Day 195	Difference
Normal post 126 days cholesterol-fed (5)	16.42 ± 5.20	4.49 ± 1.36[a]	−11.99 ± 1,37
Normal plus L-carnitine post 126 days cholesterol-fed (6)	18.43 ± 6.77	2.49 ± 0.71[ab]	−15.98 ± 1.58

Values (g/L) are means ± SD for six animals in each experimental group.
(a) p < 0,01 when compared with day 126.
(b) p < 0,01 when compared with group 5.

Table 4 shows some changes in fatty acids composition from cholesteryl esters of lipoproteins during the regression period. In HDL, L-carnitine induced an increased level of the saturated fatty acid C16 leading to an increase in the saturated to unsaturated ratio of approximately 3 fold (group 6 vs. 5). However, in the abnormal VLDL + LDL fraction a remarkable reduction in the saturated fatty acids C16 and C18 and an increase in monounsaturated C18 occurred when animals were supplemented with L-carnitine (group 6). In this case the saturated to unsaturated ratio decreases 4 fold.

Table 4. Fatty acid compositional changes in lipoproteins-cholesteryl esters the final state of the hyperlipidemia regression period.

Diet (group No.)	16:0[a]	18:0	18:1	18:2	Saturated/ Unsaturated
HDL					
Normal post 126 days cholesterol-fed (5)	37.1 ± 0.7	39.4 ± 0.2	15.1 ± 0.2	9.5 ± 0.5	3.2
Normal plus L-carnitine post 126 days cholesterol-fed (6)	59.1 ± 0.5	31.4 ± 0.2	10.6 ± 0.1	ND	9.0
VLDL+LDL					
Normal post 126 days cholesterol-fed (5)	33.2 ± 0.6	20.3 ± 0.2	22.2 ± 0.2	24.5 ± 0.5	1.1
Normal plus L-carnitine post 126 days cholesterol-fed (6)	15.5 ± 0.5	8.4 ± 0.2	53.2 ± 0.5	23.1 ± 0.3	0.3

a) Number of carbon atom: number of double bonds. ND: not detectable.
The results were obtained in a pool of plasma from six experimental animals for each experimental group, and are expressed as percentages.

The relationship between fatty acid compositional changes in plasma and the regression of the damaged aorta luminal area was also analyzed. Figure 1 shows that those rabbits without the administration of L-carnitine (group 5) exhibited the 83.5% of their aortas with atherosclerotic plaques at the end of the regression period (day 195), while, the animals with L-carnitine in their diet (group 6) displayed only the 21% of injury in their aortas, equivalent to a significantly reduction of 75% ($p \leq 0.01$).

DISCUSSION

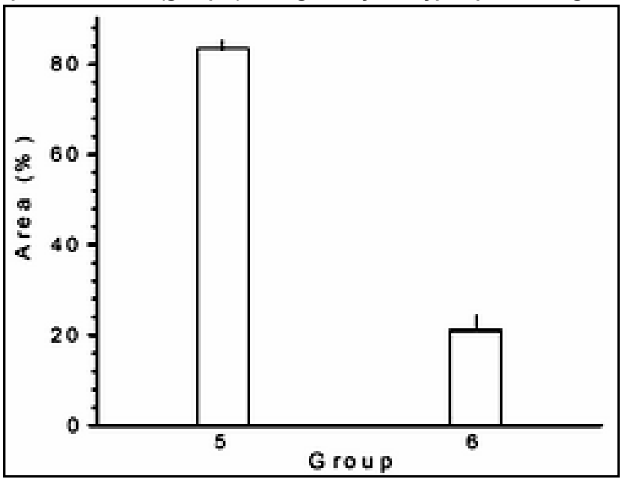
Lowering lipid effect of L-carnitine has been found using several concentrations of this substance. Secombe et

al. showed that administration of L-carnitine at a dose of 170 mg/kg to rabbits along with hypercholesterolemic diet, induced significant reduction in plasma VLDL-cholesterol, VLDL-triglycerides and increases the activity of hepatic acyl-CoA cholesterol acyl transferasa[23]. In humans, a as low dose of L-carnitine as approximately 43 mg/kg was effective in promoting lipid reduction in dyslipidemic patients[24, 25]. The dose of L-carnitine used in the present study (80 mg/kg) has been employed previously in humans, without adverse effects, for the treatment of different primary or secondary disturbances of the levels of this important metabolic component[26, 27].

In the hyperlipidemic progression period we found that L-carnitine induced remarkable diminution in the content of saturated acids in the abnormal VLDL + LDL fraction and increased this content in HDL particle. This behavior is consistent with an increase in the fatty acid b-oxidation and/or an enhancement in the metabolism between lipoproteins. We have previously postulated that these kinds of fatty acid compositional changes could be associated with a preferential stimulation by L-carnitine of saturated fatty acid breakdown in peripheral tissues due to the specificity of the transesterifying enzymes of mitochondrial outer membranes[15]. If this is the case, a mayor proportion in unsaturated fatty acid would be expected in VLDL and LDL de novo biosynthesis. On the other hand, a favorable change of unsaturated fatty acids in LDL lipoprotein has been postulated to increase the metabolism of this particle[28, 29]. The main changes in cholesterol load are in the esterified form of cholesterol from lipoproteins of hypercholesterolemic rabbits. The decrease of cholesteryl esters in the modified fraction VLDL + LDL caused by L-carnitine suggests changes in fatty acid composition that favor the catabolism of this fraction[15]. The fractional catabolic rate of LDL has been observed significantly higher from the polyunsaturated fatty acid diet than from saturated regimens[30]. We observed a remarkable increase in the content of linoleate (C18:2) in VLDL + LDL from L-carnitine cholesterol fed rabbits (table 2, group 4 vs. 3), mimicking the pattern observed in the polyunsaturated diet studies[30]. In those rabbits fed normal diet, differential changes in fatty acid composition were observed in VLDL, LDL and HDL lipoprotein fractions of those animals supplemented with L-carnitine (table 2, group 2 vs. 1). Whereas saturated to unsaturated fatty acid ratio in the cholesteryl esters from LDL and HDL diminished, in contrast, this ratio rose in VLDL particle. We have not yet explanation for the differential effect of L-carnitine on VLDL fraction in normal fed rabbits. Maybe, it could be related with the fact that hepatic acyl-CoA cholesterol acyl transferase must first be stimulated by exogenous cholesterol before a stimulatory effect by L-carnitine can take place[31, 32].

Evidence suggesting that supplementation of L-carnitine improved peripheral and hepatic fatty acid b-oxidation along with rise in lipoprotein metabolism can be drawn from the obtained results in the hyperlipidemia regression period. The significant reduction of cholesterol from L-carnitine fed rabbits (table 3, group 6 vs. 5) can be related with the fatty acid compositional changes in lipoprotein fractions (table 4, group 6 vs. 5). These changes were similar to those observed in the hyperlipidemia progression period. Thus, we can assume that L-carnitine effects were through the same mechanisms in both periods. However, we found a significant reduction of atherosclerotic lesions in the aortas from L-carnitine fed rabbits during the regression period (Fig. 1). This result suggests, among other things, that intensification in the cholesterol reverse transport has taken place. We have postulated (15) that increased breakdown of cholesterol esters from VLDL + LDL as a consequence of L-carnitine-induced catabolism of fatty acids, combined with transfer of cholesterol esters from VLDL + LDL to HDL, probably mediated by cholesteryl ester transfer protein[33, 34], leads to increased cholesterol reverse transport and excretion[35, 36]. This is one of the pathways by which plaque cholesterol can be eliminated.

Figure 1.- Percentage of damage aorta in rabbits fed normal diet alone (group 5) or normal diet plus L-carnitine (group 6) during 65 days of hyperlipidemia regression period.



In contrast, during the progression period we have not found significant reduction of atherosclerotic plaque[33]. We think that during the progression period L-carnitine-induced effect on atherosclerotic plaque is overlapped due to the prolonged time of high cholesterol regimen of these animals. Therefore, regression period was a good model to see the molecular effect of this substance related with the final antiatherogenic effect. This relationship strengthens the conclusion that L-carnitine, in this experimental model, induces the peripheral and hepatic metabolism of lipoprotein fatty acids leading at the same time to an improved lipoprotein metabolism.

ACKNOWLEDGMENTS: We thank Gonzalo Visbal for technical assistance.

ECONOMIC SUPPORT: Venezuelan Institute for Scientific Research. (IVIC) supported this work. Maritza Díaz was a United Nations University fellow.

REFERENCES

1. Mitchell EM. Carnitine metabolism in human. Subjects. I. Normal Metabolism. Am. J. Clin. Nutr. 1978 31:293-306.

2. Rebouche CJ. Sites and regulation of Carnitine biosynthesis in mammals. Fed. Proc. 1982 41:2848-52.

3. DiDonato S. Disorders of lipid metabolism effecting skeletal muscle: Carnitine deficiency syndromes, defects in the catabolic pathway. In: Engel AG, Franzini-Armstrong C, editors, Myology, 2nd ed, New York, McGraw Hill, 1994; 1587.

4. Murray MT. The many benefits of carnitine. Am. J. Natural Med. 1996 3:6-14.

5. Arenas J, Rubio JC, Martín MA, Campos Y. Biological roles of L-carnitine in perinatal metabolism. Early Human Development 1998 53:S43-50.

6. Noseda G, Lewis B, Paoletti R. Diet and drugs in atherosclerosis. Raven Press, New York, 1980; 15.

7. Mondola P, Belfiore A, Santagelo F, Santillo M. The effect of L-carnitine on the apolipoprotein pattern of rats fed a cholesterol-rich diet. Comp. Biochem. Physiol. 1989 00B:1-5.

8. Maccari F, Arseni A, Chiodi P, Ramacci M.T, Angelucci L, Hulsmann WC. L-carnitine effect on plasma lipoproteins of hiperlipidemic fat-loaded rats. Lipids 1987 22:1005-8.

9. Spagnoli LG, Orlandi A, Marino B, Mauriello A, De Angelis C, Ramacci MT. Propionyl-L-carnitine prevents the progression of atherosclerotic lesions in aged hyperlipidemic rabbits. Atherosclerosis 1995 114:29-44.

10. Maebashi M, Kawamura N, Sato M, Imamura A, Yoshinaga K. Lipid lowering effect of carnitine in-patients with type IV hyperlipoproteinemia. Lancet 1978 2:805-8.

11. Guarnieri GF, Ranieri F, Toigo G. Lipid-lowering effect of carnitine in chronically uremic patients treated with maintenance hemodialysis. Am. J. Cli. Nutr. 1980 33:1489-92.

12. Lacour B, Di Giulio S, Chanard J. Carnitine improves lipid anomalies in haemodialysis patients. Lancet 1980 2:763-64.

13. Bellinghieri G. Carnitine and hemodialysis. Am. J. Kidney Dis. 2003 41:S116-22.

14. James L, Bhuiyan AKMJ, Foster D, Secombe D. Effect of L-carnitine treatment on Very Low Density Lipoprotein kinetics in the hyperlipemic rabbits. Clin. Biochem. 1995 28:451-458.

15. Díaz M, López F, Hernández F, Urbina JA. L-carnitine effect on chemical composition of plasma lipoproteins of rabbits fed with normal and high cholesterol diets. Lipids 2000 35:627-32.

16. Camejo J, Bosch V, Arreaza C, Mendez HC. Early changes in plasma lipoprotein structure and biosynthesis in cholesterol fed rabbits. Journal of Lipid Research 1973 14:61-8.

17. Browman RE, Wolf RC. A rapid and specific ultramicro method for total serum cholesterol. Clin. Chem. 1962 8:302-9.

18. Willis AL. Antiatherosclerosis effects of nicardipine and nifedipine in cholesterol fed rabbits.

Arteriosclerosis 1985 5:250-8.

19. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. Journal of Lipid Research 1986 27:114-20.

20. Bitman J, Wood DL, Ruth JM. Two-stage one-dimensional thin-layer chromatographic method for separation of lipid classes. J. Liq. Chromatogr. 1981 4:1007-21.

21. Gad SC, Weil CS. Statistics for toxicologists. Principles and methods of toxicology. Raven Press, New York, 1982; p.1.

22. Mahley RW, Innerarity TL, Brown MS, Ho YK, Goldstein JL. Cholesteryl ester synthesis in macrophages: stimulation by b-very low density lipoproteins from cholesterol fed animals of several species. J. Lipid Res. 1980 21:970-76.

23. Secombe DW, James L, Hahn P, Jones E. L-carnitine treatment in hyperlipidemic rabbits. Metabolism 1987 36:1192-96.

24. Pola P, Savi L, Grilli M, Flore R, Serricchio M. Carnitine in the therapy of dyslipidemic patients. Current Ther.Res. 1980 27:208-16.

25. Stefanutti C, Vivenzio A, Cucani G. Effect of L-carnitine on plasma lipoprotein fatty acids pattern in patients with primary hiperlipoproteinemia. Clin. Ter. 1998 149:115-19.

26. Goa KL, Brogden RN. L-carnitine. A review of its characteristics and therapeutic use in cardiac ischemya and in primary and secondary deficits of carnitine, associated to fatty acid metabolism. Drugs 1987 34:1-10.

27. Pauly DF, Pepine CJ. The role of carnitine in myocardial dysfunction. Am. J. Kidney Dis. 2003 41:S35-S43.

28. Shepherd J, Packard CJ, Grundy SM, Yeshurum D, Gotto AM, Tauton OD. Effect of saturated and polyunsaturated fat diets on the chemical composition and metabolism of low density lipoproteins in man. J. Lipid. Res. 1980 21:91-9.

29. Talavera EM, Zafra MF, Gil-Villarino A, Pérez M.I, Alvarez JM, García-Pelegrin F. Changes in chemical composition and physicochemical properties of chick low and high density lipoproteins induced by supplementation of coconut oil to the diet. Biochimie, 1997 79:333-40.

30. Goodnight SH, Harris WS, Connor WE, Illingworth DR. Polyunsaturated fatty acids hyperlipidemia and thrombosis. Arterioclerosis 1982 2:87-113.

31. Bell FP. Arterial cholesterol esterification by acylCoA cholesterol acyltransferase: Its possible significance in atherogenesis and its inhibition by drugs. In: Fears R, Levy RL, Shepherd CJ, Packard JR, and Miller NE, editors, Pharmacology Control of Hyperlipidemia. Science Publisher, Barcelona, 1986; p. 409.

32. Bell FP, Vidmar TJ, Raymond TL. L-carnitine administration and withdrawal affect plasma and hepatic carnitine concentrations, plasma lipid and lipoprotein composition, and in vitro hepatic lipogenesis from labeled mevalonate and oleate in normal rabbits. J. Nutr. 1992 122:959-66.

33. Tall AR. Plasma cholesteryl ester protein. J. Lipid Res. 1993 34:1255-74.

34. Bruce C, Chavinord RA, Tall AR. Plasma lipid transfer proteins high density lipoproteins and reverse cholesterol transport. Annu. Rev. Nutr. 1998 18:297-330.

35. Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. J. Lipid Res. 1995 36:211-28.

36. Díaz M, Urbina JA, López F, Hernández F. L-carnitine en la disminución de la hipercolesterolemia y la regresión de la ateromatosis. Rev. CENIC Ciencias Biológicas, 2000 31:29-34.

Comment of the reviewer Angel San Miguel, MD. PhD Servcio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Rio Hortega. Valladolid. España

The aim of this work was to examine whether the hipocholesterolemic effect of L-carnitine supplementation is related with lipoprotein fatty acid metabolism. As methodology, the authors measured the fatty acid compositional and cholesterol content changes in lipoproteins of hipercholesterolemic and normal rabbits, before and after L-carnitine supplementation, by the procedure of Bowman and Wolf. (Previously, cholesterol and its ester were separated by thin-layer chromatography). As results, the authors have found fatty acid compositional changes in lipoprotein-cholesteryl ester in all groups of animals supplemented with L-carnitine. Also they have found that: (1) during the standard-fed period, the saturated and unsaturated fatty acid ratio was increased in VLDL and HDL particles whereas was decreased in LDL; (2) in the hyperlipidemia regression period, plasma cholesterol level was additionally reduced in a 33%; (3) the saturated to unsaturated fatty ratio had the same behaviour from that observed in the progression period for HDL and VLDL+LDL particles; and (4) a remarkable reduction of 75% of aorta atherosclerotic plaques in a group. From these results the authors concluded that L-carnitine induces an improved lipoprotein metabolism.

I think that both the experimental model proposed by the authors and the measures that they have carried out are accurate. Also, I believe that the aim of the work it was reached.

Comment of the reviewer Prof. Pilar Muñiz PhD. Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos. Burgos. Spain

The authors have carried out an interesting study that suggests the potential role of L-carnitine in the lipoprotein metabolism.

In this paper the authors studied the effect of L-carnitine on fatty acid lipoproteins during rabbit hyperlipidemia progression and regression periods. The authors observed that the supplementation with L-carnitine reduced significantly the progression of hypercholesterolemia and that this can be related with the changes observed in the composition of fatty acid of lipoproteins fractions.

Finally, they describe an important reduction of aorta atherosclerotic plaques in rabbits whose diet had been supplemented with L-carnitine during the hypelipidemia regression period.

*** Corresponding author:**
Dra. Maritza F. Díaz Gómez
Centro de Investigaciones del Ozono (CNIC)
Avenida 15 y calle 230, # 1313, Siboney, Playa,
Ciudad de La Habana, Cuba
E-mail: maritza.diaz @ cnic.edu.cu

Received: January 23, 2006.
Published: February 12, 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

A SIMPLE METHOD FOR ISOLATION OF SOME *BACILLUS* STRAINS WITH AN EXPRESSED ANTI-CANCER ACTIVITY

Sergey V. Malkov[1], Vladimir V. Markelov[2], Gleb Y. Polozov[1],
Boris I. Barabanschikov[1], Larisa I. Sobchuk[1], Alexandr Y. Kozhevnikov[3],
Francesco Marotta[4], Maxim V. Trushin[1,3]*

[1]Kazan State University, Department of Genetics. Kazan, Russia.
[2]Kazan Municipal Rehabilitation Medical Health Center "Sanatorium Krutushka". Kazan, Russia.
[3]Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics. Kazan, Russia.
[4]Hepato-Gastroenterology Department, S. Giuseppe Hospital. Milan, Italy

mtrushin @ mail.ru

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:42-46

Comment of the reviewer Prof. Francisco Abad Santos, MD. PhD Farmacología Clinica. Hospital La Princesa. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España

Comment of the reviewer Olaf Dominguez. College of Pharmacy, University of Southern California. JWCH Institute Inc. California. USA

ABSTRACT:
There is now increasing evidence that probiotic bacteria can provide health benefits to humans. In many areas of medicine (gastroenterology, urology, allergology, oncology and others), these sanative microorganisms may be considered as possible and viable alternatives applicable to patient care. Particularly, we have found that oral administration of *Bacillus oligonitrophilus* KU-1 cells can be used for treatment and prevention of some tumors. Here we present a simple method for isolation of bacteria with anticancer properties from soil.

Keywords: probiotics, cancer, *Bacillus oligonitrophilus*, soil.

RESUMEN:
Está aumentando la evidencia de que hay bacterias probióticas que pueden proporcionar beneficios saludables a los seres humanos. En muchas áreas de la medicina (gastroenterología, urología, alergología, oncología y otras), estos microorganismos pueden considerarse como alternativas posibles y viables aplicables al cuidado del paciente. Particularmente, nosotros hemos encontrado que la administración oral de células KU-1 *Bacillus oligonitrophilus* puede ser utilizada para el tratamiento y la prevención de algunos tumores. Aquí presentamos un método simple para aislamiento de suelos, de bacterias con características anticáncer.

Palabras Clave: Probióticos, cáncer, *Bacillus oligonitrophilus*, suelo.

INTRODUCTION

Health benefits of probiotics have been well documented[1, 2]. In the last decade, many investigators have studied the therapeutic and prophylactic effects of some probiotic bacteria and found that oral administration of such microorganisms might modulate pattern of cancer and other diseases[3-14]. Microorganisms most commonly used as probiotics are lactic bacteria (for example, lactobacilli and bifidobacteria). However, it has been showed lately that other non-dairy microorganisms might also be used as probiotics [15-18].

In 2005, we reported that soil bacterium *Bacillus oligonitrophilus* KU-1 was used successfully as a monotherapeutic drug in cancer patients[19]. The theoretic background for use of silicate-degrading bacteria like B. oligonitrophilus KU-1 in medicine in was reported previously by Voronkov and co-workers[20-22] and discussed in our recent publication[23].

Here we present a simple technique for isolation from soil of some Bacillus strains with anticancer activity.

MATERIALS AND METHODS

Media.
All chemicals are reagent grade unless otherwise noted. Contents of the used media are presented in Table 1. The mixtures are brought to 1,000 ml with distilled H2O and autoclaved.

Table 1. Content of microbiological media used for isolation and cultivation of soil *bacilli*

Medium	Ingredients (g/L) and pH
Giss medium	Peptone 3, 65; agar 4.11; mannitol – 2.85; Na_2HPO_4 0.77; NaCl 3.55; aqua blue 0.03; aurin 0.03; pH 7.4±0.2.
Ploscirewi medium	Peptone 16; agar 8.75; salts of bile acids 8.1; lactose 7.6; sodium hydrocitrate disubstituted 8.82; neutral red 0.04; brilliant green 0.02; Na_2HPO_4 2.25; sodium thiosulfate 6.86; metallic iodine (I_2) 0.12; Na_2CO_3 1.42; pH 7.1-7.3.
Alexandrov medium	Na_2HPO_4 10; $(NH_4)_2SO_4$ 2; $MgSO_4$ 0.5; SiO_2 0.15; $CaCO_3$ 0.05; orthoclase 0.5; pH 8.0.
Nutrient agar	Peptone 5; meat extract 3; agar 15; $MnSO_4xH_2O$ 0.01; pH 7.0.

Extraction from soil and identification of bacteria.
Bacteria are extracted from soil samples taken from Samara Luka (Samara Region, Russia) by placing 500 mg of soil into a sterile Erlenmeyer flask with 2 mL of sterile distilled water. The flask is shaken at 200 rpm for 5 minutes and 20 µL of the slurry is serially inoculated to various growth media (Giss, Ploscirewi, Alexandrov media).

After incubation in Giss medium with mannitol at 22 0C for 24 h, single dark blue bacterial colonies should be scrapped by using a microbiological loop and cells should be drifted to Giss media with various carbohydrate supplements. In Giss medium with glucose, bacilli with anticancer activity are permanently dark blue. In Giss media with saccharose and lactose, these bacteria are usually dark blue. In Giss medium with maltose, anticancer bacteria are rarely dark blue.

Then, the selected bacteria should be tested in Ploscirewi medium, which can be used for selection of Zn group (*Bacillus oligonitrophilus* KU-2) as well as other groups with possible anti-cancer activity. These groups are resistant to various disturbing factors (diverse salts, etc) in this medium.

Further, Alexandrov medium with glucose (at 22 0C for 24-48 h without aeration, pH=8.0) may be used for selection: anticancer bacteria shows suspension growth (after 1-2 days) with bubble formation. During bacterial growth, the acidity of the medium decreases usually to a pH value of 4.0-4.5.

Antimicrobial sensitivity.
Finally, typing with antibiotics on the nutrient agar can also be used for selection of anticancer bacteria.

Table 2. Typing with antibiotics in *Bacillus* strains on nutrient agar

Antibiotic (a dose is indicated in brackets)	Diameter of inhibition zone (mm)			
	Bacillus oligonitrophilus		*Bacillus mucilaginosus*	
	Z_n (KU-2)	K_x-53 (KU-1)	D-2 (KU-6)	D_a (KU-5)
Ampicillin (30 µg)	15	15	16	17
Doxycyline (10 µg)	11	12	10	11
Kanamycin (30 µg)	16	17	16	16
Carbenicillin (25 µg)	9	16	18	6
Chloramphenicol (30 µg)	20	23	20	18
Monomycin (30 µg)	0	0	0	0
Neomycin (30 µg)	16	16	15	17
Oleandomycin (15 µg)	0	0	0	0
Polymixin (300 IU)	12	12	11	13
Rifampicin (5 µg)	0	0	0	0
Rystomycin (30 µg)	0	0	0	0
Fuzidin (10 µg)	0	0	0	0
Streptomycin (30 µg)	12	13	14	6
Cefalexin (30 µg)	0	0	0	0
Erythromycin (15 µg)	6	7	9	6

Note: 0 – total tolerance, sensibility – diameter of inhibition zone more than 15 mm.

Table 2 presents data on typing with antibiotics.

RESULTS AND DISCUSSION

Using the above-mentioned techniques, we have isolated four bacterial strains: Zn (KU-2), Kx-53 (KU-1), D-2 (KU-6), Da (KU-5). The first two strains belong to B. oligonitrophilus while the second two are B. mucilaginosus (according to 24). Anticancer activity of B. oligonitrophilus KU-1 has been tested with success in cancer patients [19]. Broad clinical trials are warranted to test the other strains.

It should be noted here that the use Giss media reveals a maximal ability of these bacteria to synthesize organic acids. This is of great significance because organic acids (succinic acid, lactic acid, etc) may inhibit saprogenous bacteria in the gastrointestinal tract reducing formation of carcinogens[25-26].

The subsequent selection in Ploscirewi medium makes possible to identify bacteria (normal growth, weak growth or absence of growth) that are resistant to severe conditions. This medium is considered to be unsuitable for growth of many bacteria because it contains metallic iodine, which is toxic to the bacteria. Moreover, bacteria grown in Ploscirewi medium should be tolerant to bile acids. This is very important for survival of bacteria in the human gastrointestinal tract and for their prolonged and efficient action there. Growth in Alexandrov medium and antibiotic-resistance tests is the final stages of selection.

By our experience, bacteria with anticancer features may be isolated with increased probability from soils in regions where geotectonic ruptures take place. It is very likely to isolate these bacteria from Alpine areas of Pamir, Cordilleras and Andes. However, our suggestions should be checked experimentally.

We hope that the presented material can be used for isolation of bacilli with anticancer activity and for further human benefit maintaining the balance of the gut microflora and favoring the equipoise in healthy and diseased individuals.

REFERENCES

1 Fuller R. Probiotics in human medicine. Gut 1991; 32: 439-442.

2 Bourlioux P., Bouley C, Ashwell M. New aspects of the functionalities of probiotics. Forum Nutr 2003; 56: 355-356.

3 Reddy B, Rivenson A. Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary, and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo(4-5)quinoline, a food mutagen. Cancer Res 1993; 53: 3914-3918.

4 Aso Y, Akaza H, Kotake T, Tsukamoto T, Imai K, Naito S. Preventive effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial. The BLP Study Group. Eur Urol 1995; 27: 104-109.

5 Hosoda M, Hashimoto H, He F, Morita H, Hosono A. Effect of administration of milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* LA-2 on fecal mutagenicity and microflora in the human intestine. J Dairy Sci 1996; 79: 745-749.

6 Perdigon G, Valdez JC, Rachid M. Antitumour activity of yogurt: study of possible immune mechanisms. J Dairy Res 1998; 65: 129-138.

7 Brady LJ, Daniel G, Busta D. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. J Nutr 2000; 130: 410S-444S.

8 Rachid MM, Gobbato NM, Valdez JC. Effect of yogurt on the inhibition of an intestinal carcinoma by increasing cellular apoptosis. Int J Immunopathol Pharmacol 2002; 15; 209-216.

9 Philpott M, Ferguson LR. Immunonutrition and cancer. Mutation Res 2004; 551: 29-42.

10 Rowland I. Probiotics and colorectal cancer risk. Brit J Nutr 2004; 91: 805-807.

11 Vorob'ev AA, Gershanovich ML, Petrov LN. Prerequisites and perspectives for use of probiotics in complex therapy of cancer. Voprosy Onkologii 2004; 50: 361-365 (In Russian).

12 de Moreno de LeBlanc A, Perdigon G. Reduction of beta-glucuronidase and nitroreductase activity by yoghurt in a murine colon cancer model. Biocell 2005; 29: 15-24.

13 Maksimov IK, Kalinin AV, Rukavitsyn OA, Minushkin ON, Ardamskaia MD. The condition of intestinal microflora in patients with hematologic tumors receiving polychemotherapy. Klinitcheskaya Meditzina (Mosk) 2005; 83: 48-53. (In Russian).

14 Mego M, Ebringer L, Drgona L, Mardiak J, Trupl J, Greksak R, Nemova I, Oravcova E, Zajac V, Koza I. Prevention of febrile neutropenia in cancer patients by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74. Pilot study phase I. Neoplasma 2005; 52: 159-164.

15 Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. J Clin Gastroenterol 2004; 38(6 Suppl): S86-90.

16 Nista EC, Candelli M, Cremonini F, Cazzato IA, Zocco MA, Franceschi F, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. *Bacillus clausii* therapy to reduce side-effects of anti-Helicobacter pylori treatment: randomized, double-blind, placebo controlled trial. Aliment Pharmacol Ther 2004; 20: 1181-1188.

17 Brown AC, Shovic A, Ibrahim SA, Holck P, Huang A. A non-dairy probiotic's (poi) influence on changing the gastrointestinal tract's microflora environment. Altern Ther Health Med 2005; 11: 58-64.

18 Ciprandi G, Vizzaccaro A, Cirillo I, Tosca MA. Bacillus clausii exerts immuno-modulatory activity in allergic subjects: a pilot study. Allergy Immunol (Paris) 2005; 37: 129-134.

19 Malkov SV, Markelov VV, Polozov GY, Sobchuk LI, Zakharova NG, Barabanschikov BI, Kozhevnikov AY, Vaphin RA, Trushin MV. Antitumor features of *Bacillus oligonitrophilus* KU-1 strain. J Microbiol Immunol Infect 2005; 38: 96-104.

20 Voronkov MG, Grigalinovich GA, Zelchan GI. Inhibitor action of some silicon compounds on the growth of malignant tumor cells. Doklady Akademii Nauk SSSR 1971; 200: 967-969. (In Russian).

21 Voronkov MG, Skorobogatova VI, Vugmeister EK, Makarskii VV. Silicon in nucleic acids. Doklady Akademii Nauk SSSR 1975; 220: 723-725. (In Russian).

22 Voronkov MG, Kuznetzov IG. Silicon in living organism, Novosibirsk: Nauka, 1984. (In Russian).

23. Malkov SV, Markelov VV, Barabanschikov BI, Trushin MV, Marotta F. Genome rejuvenation and its practical applications. The Biomedical Scientist 2006; 50: 45-47.

24. Krasilnikov NA, eds. Opredelitel bakterii i actinomycetov (Manual for identification of bacteria and actinomycete). Moscow-Leningrad: USSR Academy of Sciences Press; 1949.

25 Reid G, McGroarty JA, Angotti R, Cook RL. Lactobacillus inhibitor production against *Escherichia coli* and coaggregation ability with uropathogens. Canad J Microbiol 1988; 34: 344-351.

26. Zhang XB, Ohta Y. Antimutagenicity and binding of lactic acid bacteria from Chinese cheese to mutagenic pyrolyzates. J Dairy Sci 1990; 73: 2702-2710.

Comment of the reviewer Prof. Francisco Abad Santos, MD. PhD Farmacología Clinica. Hospital La Princesa. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España

This paper reports a method for isolation of some *Bacillus* strains that might have probiotic properties. There are some publications showing that these bacterias might have anticancer activity. The reported method may be useful for obtaining large amounts of these bacteria that allow the realisation of controlled clinical trials to confirm if they are beneficial for treatment or prevention of cancer.

Comment of the reviewer Olaf Dominguez. College of Pharmacy, University of Southern California. JWCH Institute Inc. California. USA

Cancer is doubtlessly one of the most difficult diseases to treat. Multiple mechanisms of tumor expression and resistance to medications complicate the search for a cure. New alternatives are always welcomed.

In this article, the authors present a simple method for isolation of bacteria that have shown antitumor properties and have been studied in cancer patients. Further studies are needed, however, and the publication of the method of isolation may be an important first step in that direction.

*** Corresponding author: Dr. Maxim V Trushin,**
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, PO BOX 30, Kazan 420111, Russia
Mail: mtrushin @ mail.ru

Received, January 12, 2006. Revised, February 17, 2006
Published, February 22, 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

ACUTE RENAL FAILURE WITH NORMAL PLASMA UREA LEVEL SECONDARY TO ACUTE PYELONEPHITIS IN A SINGLE KIDNEY PATIENT

Musso CG[1, 2], Vilas M[1, 2], Fernandez Otero L[2], Jauregui R[2], Imperiali N[1], Algranati L[1]

[1] Nephrology Department[1] and Centro Medico Agustin Rocca[2]. Hospital Italiano. Buenos Aires. Argentina

carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:47-51

Comment of the Reviewer Jesús Garrido MD. Serviço de Nefrologia e Diálise, Hospital São Teotónio. Viseu. Portugal.

Comment of the Reviewer Jeyaraj Balasubramaniam, MD. PhD. Resident Director. Kidney Care Centre. Tirunelveli. Tamilnadu, India.

Spanish version

SUMMARY
Acute renal failure is a syndrome that usually runs with an increase in creatinine and urea plasma levels. However, there are clinical situations in which this syndrome may run with an increase in plasma creatinine keeping normal the urea one.

In this report we present a case of acute renal failure with normal plasma urea level secondary to an acute pyelonephritis in a single kidney patient. The patient had an increased fractional excretion of urea which could explain the normal plasma urea levels found despite of his reduced glomerular filtration. This increased urea excretion state was interpreted as a consequence of the nephrogenic diabetes insipidus and alteration of the intra-renal urea reciclying process that the acute pyelonephritis induced. In conclusion: Acute pyelonephritis in a single kidney patient can appear as a pattern of acute renal failure with normal plasma urea levels.

Key words: acute renal failure, normal uremia, acute pyelonephritis

RESUMEN:
La insuficiencia renal aguda es un sindrome que característicamente cursa con niveles plasmáticos elevados de urea y creatinina. Sin embargo, hay situaciones clínicas en las cuales este sindrome puede cursar con un incremento de la creatininemia sin presentar elevación de la uremia.

En este reporte presentamos un caso clínico de una insuficiencia renal aguda con uremia normal secundaria a una pielonefritis aguda en un paciente con riñón único. El paciente presentaba una elevada excreción fraccional de urea lo cual podía explicar su uremia normal pese a estar cursando una caída del filtrado gomerular. Dicha excreción de urea elevada fue interpretada como secundaria a una diabetes insipida nefrogénica y una alteración en el recirculado intra-renal de la urea ambos producto de la pielonefritis aguda. Concluimos que la pielonefritis aguda en un paciente mono-reno puede presentarse con un patrón de insuficiencia renal aguda con uremia normal.

Palabras Clave: insuficiencia renal aguda, uremia normal, pielonefritis aguda

INTRODUCTION

Acute renal failure is a syndrome that usually runs with an increase in creatinine and urea plasma levels since in both substances the glomerular filtration plays an important role in their excretion [1].

However, there are clinical situations in which an acute renal failure may run with an increase in plasma creatinine keeping normal the urea level. Examples of the afore mentioned clinical situations are those patients who suffer from acute renal failure in the context of low protein intake, hepatic insufficiency, or/and diabetes insipidus [2-4].

In the following report we present a case of acute renal failure with normal plasma urea level secondary to an acute pyelonephritis in a single kidney patient.

CASE REPORT

Male patient, sixty-two years old who suffered from the following diseases:

- **Diabetes mellitus (type II) treated with diet and 4 mg/day of glymepiride**
- **Right nephrectomy performed ten years before due to uropyonephrosis.**
- **Urolithiasis (in the past)**
- **Hypercholesterolemia treated with sinvastatin (10 mg/day) and ezetimibe (10 mg/day)**

He was admitted in our hospital presenting two day of evolution of a left lumbar pain, dysuria, and fever. Blood and urine laboratories were performed. Abundant leucocytes and pyocytes were documented in the urinalysis, while reduced creatinine clearance (35 ml/minute), normal plasma urea (29 mg/dl)and increased plasma creatinine (2,1 mg/dl) and fractional excretion of urea (80%) were detected.

The patient presented water polyuria (urine volume: 3000 cc with urine osmolality: 176 mOsm/l), slightly increased plasma glucose (130 mg/dl) and normal plasma sodium (135 mmol/l) levels. (Table 1)

The patient was not under any nephrotoxic drug and he had no clinical or laboratory evidence of rhabdomyolysis. He did not suffer from any disease that could reduce his plasma urea level such as malnutrition, hepatic disease or Fanconi syndrome.

The case was interpreted as an acute renal failure secondary to acute pyelonephritis in a single kidney patient. After blood and urine cultures were obtained intravenous ceftriaxone (2 gr/day) was initiated. Urine culture was positive to Escherichia coli sensitive to the prescribed antibiotic.

After the infection was cured the fractional excretion of urea (48%), plasma creatinine (1.3 mg/dl), creatinine clearance 110 ml/minute and plasma urea (39) levels reached their usual values.

TABLE 1: Laboratory values before and after the acute pyelonephritis treatment

	Al Ingreso	Post- tratamiento antibiótico	Rango Normal
Hto	45 %		40-53 %
Hb	15 g/dl		13-17 g/dl
WC	17,0000 / mm^3	8000 / mm^3	5,000 – 10,000 /mm^3
PU	29 mg/dl	39 mg/dl	20 – 50 mg/dl
PCr	2.1 mg/dl	1.3 mg/dl	0.5 – 1.3 mg/dl
Pna	135 mmol/l		135 – 145 mmol/l
PK	4.6 mmol/l		3.5 – 5.5 mmol/l
PG	140 mg/dl		70 – 110 mg/dl
GOT	16 UI /l		10 – 42 UI/L
GPT	14 UI/ l		10 – 40 UI/L
PCa	9 mg/dl		8.5 – 10.5 mg/dl
UO	176 mOsm/l		100 – 1400 mOsm/l
FEU	80%	48.00%	

Hto: hematocrit, Hb: hemoglobin, WC: white cells, PU: plasma urea, PCr: plasma creatinine, PNa: plasma sodium, PK: plasma potassium, PG: plasma glucosa, GOT: glutamic oxalacetic transaminases, GPT: glutamic piruvic transaminases, PCa: plasma calcium, UO: urine osmolality, FEU: fraccional excretion of urea.

DISCUSSION

Urea is the major end product of protein catabolism in mammals. It is synthesized in the liver and excreted mainly by the kidney. Under basal conditions, this substance has a glomerular filtration of 100% although its final excretion is around 50%. This lower excreted amount respect to the filtrated one is a consequence of its reabsorption in the proximal tubules and in the very late part of the collecting ducts, close to the papillary tip. Moreover, since urea is also secreted in the S3 segment of proximal tubules, this substance suffers an intra-renal recycling process which contributes to reduce its excretion [5, 6].

Acute renal failure syndrome usually runs with an increase in creatinine and urea plasma levels since in both substances glomerular filtration plays an important role in their excretion[1].

However, there are situations of acute renal failure with increased plasma creatinine levels but normal urea ones. This phenomenon can be justified mainly by two physio-pathologic mechanisms:

- **low body urea production, as is the case of malnutrition, hepatic insufficiency, etc**
- **Increased excretion of urea, as is the case of proximal tubular dysfunction (Fanconi syndrome), osmotic diuresis (glucosuria, etc), water diuresis (diabetes insipidus), urea tubular secretion (syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion), etc [6]**

Regarding acute pyelonephritis, this infection can induce nephrogenic diabetes insipidus since it generates an inflammation of the renal interstitium damaging the medullary tonicity[7]. Besides, acute pyelonephritis can alter the intra-renal urea reciclying process [8], and also induce an acute renal failure in a single kidney or chronic renal disease patient[2].

In our reported case it can delineate three syndromes:

- **A non-oliguric acute renal failure secondary to a pyelonephritic process. This situation could be justified since this infection took place in an aged single kidney patient.**
- **Nephrogenic diabetes insipidus (water diuresis) secondary to the renal interstitium alteration induced by the acute pyelonephritis.**
- **An elevated urea excretion secondary to a reduced water reabsorption capability and intra-**

renal urea reciclying process. Both disorders could be induced by the acute pyelonephritis. This increase in the fractional excretion of urea can justify the patient´s normal plasma urea levels despite of his reduced glomerular filtration rate.

CONCLUSION:
Acute pyelonephritis in a single kidney patient can appear as a pattern of acute renal failure with normal plasma urea levels.

REFERENCES:

1.- Tovar JL, Pascual J, Liaño F. Diagnóstico diferencial del fracaso renal agudo. In Liaño F, Pascual J. Fracaso renal agudo. Barcelona. Masson. 2000: 103-125

2.- Faber M, Kupin W, Krishna, Narins R. The differential diagnosis of acute renal failure. In Lazarus JM, Brenner BM. Acute renal failure. New York. Churchil Livingstone. 1993: 133-192

3.- Bataller R, Arroyo V. Fracaso renal agudo asociado a enfermedades hepáticas. Síndrome hepatorenal. In Liaño F, Pascual J. Fracaso renal agudo. Barcelona. Masson. 2000: 103-125:313-326

4.- Musso CG, Giordani C, Stonski E, Peralta M, Bonetto A, Jauregui R, Algranati L. Acute renal failure with normal plasma urea levels: a marker proximal tubular disfunction with diabetes insipidus.biomed.uninet.edu: 2004

5.- Bankir L, Trinh-Trang-Tan M. Urea and the kidney. In Brenner B, The Kidney. Philadelphia. W.B. Saunders. 2000: 637-679

6.- Robertson G, Berl T. Pathophysiology of water metabolism. In Brenner B, The Kidney. Philadelphia. W.B. Saunders. 2000: 1996: 873-928

7.- Andriole V. Urinary tract infections and pyelonephritis. In Wyngaarden J, Smith LL, Bennett JC. (Eds). Cecil Textbook of Medicine. W. B. Saunders. 1995: 593-598.

8.- Gilbert RM, Weber H, Turchin L, Fine LG, Bourgoignie JJ, Bricker NS. A study of the intrarenal recycling of urea in the rat with chronic experimental pyelonephritis. Clin Invest. 1976 58(6): 1348-1357.

Comment of the reviewer Jesús Garrido MD. Serviço de Nefrologia e Diálise, Hospital São Teotónio. Viseu. Portugal.

Musso et al. present a clinical case, in which the interest relies not only in the fact of being a normo-uremic renal failure but also in the mechanisms that are used to explain it. Since 1956, when Ullrich and Jarausch[1] published the role of urea as principal factor of medullary tonicity, there have been many works that have help to understand the concentration and dilution mechanisms. However, it is interesting to see how the aggressions against this media can produce, not only tubular-interstitial damage with renal failure, but also medullary disequilibrium (urea concentration, recycling tubular urea pathways, vasopressin sensibility.) that produce a normal uremia because of an increasing of compensatory excretion. It is known that urea, usually used as a renal function marker, it is not a reliable indicator[2]. Its variability in production, reabsortion and excretion depending on different factors (dietay, hepathopathy, cardiopathy, drugs.) affects plasmatic levels through a different way then the glomerulary filtration rate. This work indicates perfectly one of these situations, showing one more example of this variability.

References

1. Ullrich KJ, Jarausch KH: Untersuchungen zum Problem der Harnkonzentrierung und Harnverdunnung. Pflugers Arch 262:S108-115, 1968.
2. Rickers H, Brochner-Mortensen J, Rodbro P: The diagnosis value of plasma urea for assessment of renal function. Scand J Urol Nephrol. 12:39-44, 1978.

Comment of the reviewer Jeyaraj Balasubramaniam, MD. PhD. Resident Director. Kidney Care Centre. Tirunelveli. Tamilnadu, India.

Dr.Muso, by intuitive observation of single case study , has brought to our notice more than one phenomenon.
1. Interstitial nephritis due to sepsis can cause proximal tubulopathy and so can present with features of tubular dysfunction.
2. Normal blood urea in the face of elevated creatinine is a marker of tubulopathy.
3. Fractional Excretion of Urea (FEUrea) is a useful index in diagnosing and assessing Acute Renal Failure.

Though these are not new, the way this simple presentation drives home these phenomena to a reader is greatly commendable. It is notable that Dr.Musso has already presented an illustrative case to show that tubulotoxic drugs can cause similar phenomena(Electron J Biomed 2004;2:1-78)

Received February 17, 2006. Received reviewed March 16, 2006
Published March 27, 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

INSUFICIENCIA RENAL AGUDA CON UREMIA NORMAL EN PACIENTE MONO-RENO SECUNDARIA A PIELONEFRITIS AGUDA

Musso CG[1, 2], Vilas M[1, 2], Fernandez Otero L[2], Jauregui R[2], Imperiali N[1] Algranati L[1]

[1] Servicio de Nefrología[1] y Centro Medico Agustin Rocca[2]. Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina

carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:52-56

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

Comentario del Revisor Jeyaraj Balasubramaniam, MD. PhD. Resident Director. Kidney Care Centre. Tirunelveli. Tamilnadu, India.

English version

RESUMEN:
La insuficiencia renal aguda es un sindrome que característicamente cursa con niveles plasmáticos elevados de urea y creatinina. Sin embargo, hay situaciones clínicas en las cuales este sindrome puede cursar con un incremento de la creatininemia sin presentar elevación de la uremia.

En este reporte presentamos un caso clínico de una insuficiencia renal aguda con uremia normal secundaria a una pielonefritis aguda en un paciente con riñón único. El paciente presentaba una elevada excreción fraccional de urea lo cual podía explicar su uremia normal pese a estar cursando una caída del filtrado gomerular. Dicha excreción de urea elevada fue interpretada como secundaria a una diabetes insipida nefrogénica y una alteración en el recirculado intra-renal de la urea ambos producto de la pielonefritis aguda. Concluimos que la pielonefritis aguda en un paciente mono-reno puede presentarse con un patrón de insuficiencia renal aguda con uremia normal.

Palabras Clave: insuficiencia renal aguda, uremia normal, pielonefritis aguda

---

SUMMARY
Acute renal failure is a syndrome that usually runs with an increase in creatinine and urea plasma levels. However, there are clinical situations in which this syndrome may run with an increase in plasma creatinine keeping normal the urea one.

In this report we present a case of acute renal failure with normal plasma urea level secondary to an acute pyelonephritis in a single kidney patient. The patient had an increased fractional excretion of urea which could explain the normal plasma urea levels found despite of his reduced glomerular filtration. This increased urea excretion state was interpreted as a consequence of the nephrogenic diabetes insipidus and alteration of the intra-renal urea reciclying process that the acute pyelonephritis induced. In conclusion: Acute pyelonephritis in a single kidney patient can appear as a pattern of acute renal failure with normal plasma urea levels.

Key words: acute renal failure, normal uremia, acute pyelonephritis

INTRODUCCIÓN

La insuficiencia renal aguda es un síndrome que habitualmente cursa con aumento de los niveles plasmáticos de urea y creatinina, pues la filtración glomerular juega un rol central en la excreción de estas sustancias[1].

Sin embargo, existen situaciones clínicas en las cuales la insuficiencia renal aguda puede cursar con niveles elevados de creatininemia pero sin mostrar incremento en los de urea. Dicho patrón de insuficiencia renal puede observarse en pacientes que poseen una dieta pobre en proteínas, una insuficiencia hepática y / o una diabetes insípida[2-4].

En el siguiente reporte presentamos el caso de un paciente mono-reno que desarrolló una insuficiencia renal aguda con uremia normal secundaria a un cuadro de pielonefritis aguda.

CASO CLÍNICO

Paciente de sexo masculino, 62 años de edad, portador de:

- Diabetes mellitus (tipo II) en tratamiento con glimepirida 4 mg/día.
- Litiasis renal (en el pasado)
- Nefrectomía derecha practicada 10 años atrás debido a una uropionefrosis.
- Hipercolesterolemia tratada con sinvastatina 10 mg/día y ezetimibe 10 mg/día

El paciente fue internado en nuestro hospital a raíz de presentar un cuadro de dolor lumbar izquierdo, disuria y fiebre de dos días de evolución. Se le efectuaron análisis de sangre y orina, hallándose como únicos datos positivos: abundantes piocitos y leucocitos en el sedimento urinario, un aclaramiento de creatinina bajo (35 ml/minuto), una uremia normal (29 mg/dl) y una creatininemia (2,1 mg/dl), y excreción fraccional de urea elevadas (80%).

El paciente que estaba normo-natrémico y ligeramente hiperglucémico: 130 mg/dl, cursaba una insuficiencia renal on poliuria acuosa: volumen urinario 3000 cc y osmolalidad urinaria 176 mOsm/l mg/dl (Tabla 1)

TABLA 1: Datos analíticos antes y después de resuelta la pielonefritis aguda

	Al Ingreso	Post- tratamiento antibiótico	Rango Normal
Hto	45 %		40-53 %
Hb	15 g/dl		13-17 g/dl
GB	17,0000 / mm^3	8000 / mm^3	5,000 – 10,000 /mm^3
UP	29 mg/dl	39 mg/dl	20 – 50 mg/dl
CrP	2.1 mg/dl	1.3 mg/dl	0.5 – 1.3 mg/dl
NaP	135 mmol/l		135 – 145 mmol/l
KP	4.6 mmol/l		3.5 – 5.5 mmol/l
GP	140 mg/dl		70 – 110 mg/dl
GOT	16 UI /l		10 – 42 UI/L
GPT	14 UI/ l		10 – 40 UI/L
CaP	9 mg/dl		8.5 – 10.5 mg/dl
OU	176 mOsm/l		100 – 1400 mOsm/l
EFU	80%	48.00%	

Hto: hematocrito, Hb: hemoglobina, GB: glóbulos blancos, UP: uremia, CrP:creatininemia, NaP: natremia, KP: kalemia, GP: glucemia, GOT: transaminasa glutámico oxalacético, GPT: transaminasa glutámico pirúvica CaP: calcemia, OU: osmolalidad urinaria, EFU: excreción fraccional de urea.

El paciente no estaba medicado con drogas nefrotóxicas ni tenía evidencia clínica ni bioquímica de rabdomiólisis. No estaba cursando enfermedades potencialmente reductoras de los niveles séricos de urea, tales como la malnutrición, la hepatopatía o el síndrome de Fanconi.

El caso fue interpretado como una insuficiencia renal aguda en un paciente con riñón único inducida por una pielonefritis aguda.

Una vez efectuados uro y hemocultivos, comenzó a ser tratado con ceftriaxona endovenosa (2 g/día). Luego el urocultivo desarrolló una Escherichia Coli sensible al esquema antibiótico iniciado.

Tras resolver el cuadro infeccioso, los valores de uremia (39mg/dl), creatininemia (1.3 mg/dl), aclaramiento de creatinina (110 ml/minuto), así como la excreción fraccional de urea (48%) retornaron a sus rangos habituales.

DISCUSIÓN

La urea es el principal producto final del catabolismo proteico en los mamíferos. Su síntesis se realiza en el hígado y su excreción es llevada a cabo principalmente por los riñones. Bajo condiciones basales, esta sustancia es filtrada un 100% a nivel glomerular, aunque su excreción urinaria final es del 50%. Esta diferencia entre la cantidad de urea filtrada y aquella excretada se debe a su reabsorción a nivel de los túbulos proximales y en los sectores más distales de los túmulos colectores, próximos al extremo de los sectores papilares.

Además , dado que la urea también se secreta en el segmento S3 de los túbulos proximales, termina sufriendo un proceso de recirculado intra-renal que contribuye a la reducción de su excreción[5, 6].

La insuficiencia renal usualmente cursa con un incremento en los niveles séricos de urea y creatinina, pues en ambas sustancias la filtración glomerular juega un rol central en su excreción[1].

Sin embargo, hay situaciones clínicas en las cuales una insuficiencia renal aguda puede cursar con elevados niveles de creatininemia pero con niveles normales de uremia. Este fenómeno puede ser explicado principalmente por dos mecanismos fisio-patológicos:

- **Una baja producción de urea, como sucede en la desnutrición, insuficiencia hepática, etc**

- Un aumento en la excreción urinaria de urea (pese a la existencia de caída del filtrado glomerular), como ocurre durante la disfunción tubular renal proximal (síndrome de Fanconi), diuresis osmótica (glucosuria, etc), diuresis acuosa (diabetes insípida), secreción tubular de urea (síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética), etc[6]

En cuanto a la pielonefritis aguda, esta infección puede inducir diabetes insipida nefrogénica a raiz de generar una inflamación del intersticio renal, con la consiguiente alteración de la tonicidad medular[7]. Por otra parte, la pielonefritis aguda puede también perturbar el proceso de recirculación intra-renal de la urea[8], así como desencadenar una insuficiencia renal aguda en paciente mono-reno o portador de nefropatía crónica[2].

En el caso que reportamos pueden ser delineados tres síndromes:

- Una insuficiencia renal aguda no-oligoanúrica secundaria a pielonefritis aguda. Situación que podría justificarse por haberse desarrollado dicha infección en un paciente anciano y mono-reno.
- Una diabetes insipida nefrogénica (diuresis acuosa) secundaria al compromiso intersticial renal producto de la pielonefritis aguda.
- Una elevada excreción de urea secundaria a una menor capacidad reabsortiva de agua y recirculación intra-renal de la urea. Ambos desórdenes atribuibles a la pielonefritis. Los mecanismos antes mencionados podrían explicar el aumento de la excreción fraccional de urea generandole al paciente la posibilidad de mantener uremias normales pese a la existencia de caída del filtrado glomerular.

CONCLUSIÓN:
La pielonefritis aguda en pacientes con riñón único puede presentarse como una insuficiencia renal aguda con uremia normal.

REFERENCIAS:

1.- Tovar JL, Pascual J, Liaño F. Diagnóstico diferencial del fracaso renal agudo. In Liaño F, Pascual J. Fracaso renal agudo. Barcelona. Masson. 2000: 103-125

2.- Faber M, Kupin W, Krishna, Narins R. The differential diagnosis of acute renal failure. In Lazarus JM, Brenner BM. Acute renal failure. New York. Churchil Livingstone. 1993: 133-192

3.- Bataller R, Arroyo V. Fracaso renal agudo asociado a enfermedades hepáticas. Síndrome hepatorenal. In Liaño F, Pascual J. Fracaso renal agudo. Barcelona. Masson. 2000: 103-125:313-326

4.- Musso CG, Giordani C, Stonski E, Peralta M, Bonetto A, Jauregui R, Algranati L. Acute renal failure with normal plasma urea levels: a marker proximal tubular disfunction with diabetes insipidus.biomed.uninet.edu: 2004

5.- Bankir L, Trinh-Trang-Tan M. Urea and the kidney. In Brenner B, The Kidney. Philadelphia. W.B. Saunders. 2000: 637-679

6.- Robertson G, Berl T. Pathophysiology of water metabolism. In Brenner B, The Kidney. Philadelphia. W.B. Saunders. 2000: 1996: 873-928

7.- Andriole V. Urinary tract infections and pyelonephritis. In Wyngaarden J, Smith LL, Bennett JC. (Eds). Cecil Textbook of Medicine. W. B. Saunders. 1995: 593-598.

8.- Gilbert RM, Weber H, Turchin L, Fine LG, Bourgoignie JJ, Bricker NS. A study of the intrarenal recycling of urea in the rat with chronic experimental pyelonephritis. Clin Invest. 1976 58(6): 1348-1357.

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

Musso y cols. presentan un caso clínico cuyo interés reside en la particularidad de ser un fracaso renal agudo normourémico y en los mecanismos que utilizan para explicarlo. Desde la publicación en 1956 por Ullrich y Jarausch[1], del papel de la urea como factor fundamental de la tonicidad medular, han sido muchos los trabajos que han ayudado entender los mecanismos de concentración y dilución urinaria. No obstante es interesante ver como agresiones a este medio pueden causar, además de la lesión tubulo-intersticial con insuficiencia renal, una alteración del equilibrio medular (concentración de urea, mecanismos de reciclaje tubular de la urea, sensibilidad a la vasopresina.) que determina una uremia normal por el aumento compensador de la excreción. Se sabe que la urea, utilizada habitualmente en la clínica como marcador de función renal, no es un indicador fiable[2]. La variabilidad en su producción, reabsorción y excreción en función de diferentes factores (dieta, hepatopatía, cardiopatía, fármacos.) hace que sus niveles plasmáticos se vean afectados por otros motivos independientes del filtrado glomerular. Este trabajo ilustra perfectamente una de esas situaciones, mostrando un ejemplo mas de esa variabilidad.

Referencias

1. Ullrich KJ, Jarausch KH: Untersuchungen zum Problem der Harnkonzentrierung und Harnverdunnung. Pflugers Arch 262:S108-115, 1968.
2. Rickers H, Brochner-Mortensen J, Rodbro P: The diagnosis value of plasma urea for assessment of renal function. Scand J Urol Nephrol. 12:39-44, 1978.

Comentario del Revisor Jeyaraj Balasubramaniam, MD. PhD. Resident Director. Kidney Care Centre. Tirunelveli. Tamilnadu, India.

Dr.Muso, by intuitive observation of single case study , has brought to our notice more than one phenomenon.
1. Interstitial nephritis due to sepsis can cause proximal tubulopathy and so can present with features of tubular dysfunction.
2. Normal blood urea in the face of elevated creatinine is a marker of tubulopathy.
3. Fractional Excretion of Urea (FEUrea) is a useful index in diagnosing and assessing Acute Renal Failure.

Though these are not new, the way this simple presentation drives home these phenomena to a reader is greatly commendable. It is notable that Dr.Musso has already presented an illustrative case to show that tubulotoxic drugs can cause similar phenomena(Electron J Biomed 2004;2:1-78)

Recibido 17 de febrero de 2006. Revisado 16 de Marzo de 2006
Publicado 27 de Marzo de 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA SECUNDARIA A ANEURISMA AÓRTICO DIAGNOSTICADA TRAS EXTRACCIÓN DENTAL.

Beatriz Cuevas Ruiz, Blanca de la Nogal Fernández*,
Mª Victoria Cuevas Ruiz

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Servicio de Farmacia*.
Hospital General Yagüe. Burgos. España

bcuevas @ hgy.es

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:57-62

Comentario del Revisor Ramón Díaz-Alersi MD. Medicina Intensiva. Hospital Puerto Real. Cádiz. España

Comentario del Revisor Comentario del Revisor Fidel Rivero Fernández, MD. Jefe de Servcio de Angiologia y Cirugia Vascular. Hospital Provincial Manuel Ascunce Domenech. Camagüey. Cuba.

RESUMEN:
Las manifestaciones de la coagulación intravascular diseminada (CID) están determinadas por la causa subyacente; sin embargo, en los casos de CID compensada el diagnóstico se basa en las pruebas de laboratorio.

Presentamos el caso de un varón de 81 años al que se diagnostico de una coagulación intravascular diseminada secundaria a un aneurisma gigante de ambas ilíacas tras una extracción dentaria.

Palabras Clave: Coagulación intravascular diseminada, aneurisma, extracción dental

---

SUMMARY
The clinical presentation of disseminated intravascular coagulopathy (DIC) is determined by the underlying disease. However, in patients with chronic DIC the diagnostic is based in laboratory tests.

We report a case of an 81-year-old male who was diagnosed disseminated intravascular coagulopathy secondary to gigant iliac aneurysm after a dental extraction

Key words: disseminated intravascular coagulopathy, aneurysm, dental extraction

INTRODUCCIÓN

La coagulación intravascular diseminada (CID) se define como la generación extensa de trombina en sangre con el consiguiente consumo de factores de coagulación y plaquetas, lo que puede provocar una obstrucción de la microcirculación así como una activación secundaria de la fibrinolisis. El consumo de plaquetas y factores de coagulación conduce a la aparición de hemorragias, y las trombosis obstructivas de la microcirculación a necrosis y disfunciones orgánicas[1].

La enfermedad subyacente que dispara la CID determina usualmente la presentación clínica. La principal manifestación es la hemorragia pudiendo ésta afectar a distintos órganos y a los lugares de punción. Sin embargo, en pacientes con CID crónica dominan los síntomas y signos subclínicos y, la coagulopatía sólo puede ser identificada mediante pruebas de laboratorio. En esta forma compensada (descrita en neoplasias y vasculitis), la exposición de escasa intensidad a los factores desencadenantes, va a permitir la reposición de los factores de coagulación por el hígado, el adecuado aclaramiento de los productos de la degradación de la fibrina por el sistema reticuloendotelial así como el incremento de la producción de plaquetas, lo cual previene la fibrinolisis secundaria y los signos de sangrado[2].

El aneurisma aórtico puede complicarse con un cuadro de CID y en ocasiones el diagnóstico de CID permite el hallazgo de un aneurisma como causa de la coagulopatía de consumo. En la revisión de la bibliografía solamente hemos encontrado un caso en el que se describe el hallazgo de un aneurisma aórtico tras el diagnóstico de CID en un paciente sometido a una extracción dentaria[2].

CASO CLÍNICO

Paciente varón de 81 años con antecedentes de hipertensión arterial, infarto agudo de miocardio en 1978, angor en 1979 y hematoma subdural subagudo en hemisferio izquierdo en marzo de 2001; no era bebedor y seguía tratamiento con Lormetazepam, Nifedipino y Omeprazol. Acudió por sangrado abundante tras una extracción dentaria 24 horas antes del ingreso y a pesar de los 2 puntos de sutura. No refería sangrado a otros niveles y la exploración física no reveló hematomas ni petequias; en la palpación abdominal se objetivó una masa pulsátil en fosa iliaca derecha e hipogastrio.

El hemograma evidenció los siguientes valores: Hb 96 g/l, VCM 88 fl, leucocitos 8,8 x 109/l, plaquetas 98 x 109/l con una morfología de sangre periférica sin esquistocitos; la coagulación reveló un tiempo de protrombina del 33 %, un tiempo de tromboplastina parcial activado de 44 segundos (control 33 segundos), fibrinógeno 30 mg/dl y Dímeros-D > 20 ng/dl (01-03).

El TAC efectuado mostró la existencia de una tortuosidad e importante dilatación aneurismática abdominal en bifurcación de ilíaca y en ambas ilíacas alcanzando un diámetro máximo en arteria ilíaca derecha de aproximadamente 10 cm e izquierda de 8 cm. Así mismo, existía una importante trombosis a nivel de ambas ilíacas con luz vascular desdibujada con probables ulceraciones en las mismas. Los trombos se mostraban espontáneamente hiperdensos en TAC sin contraste y con captación del mismo en estudio postcontraste, lo que sugería hemorragia activa en trombosis mural previa. Se observaban importantes calcificaciones vasculares arteriales y una discreta hidronefrosis derecha probablemente secundaria a compresión de aneurisma de ilíaca. (Imágenes 1-3)

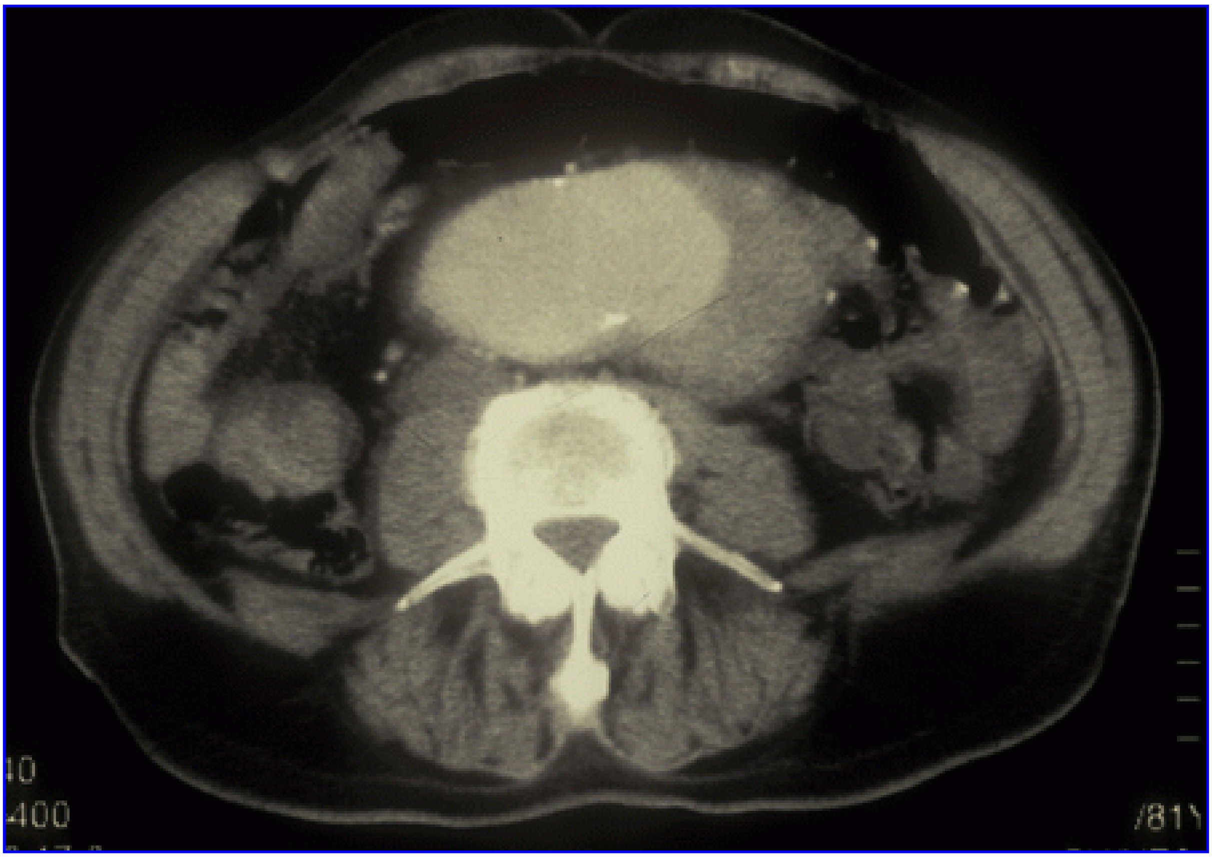


Imagen 1: Aneurisma en aorta

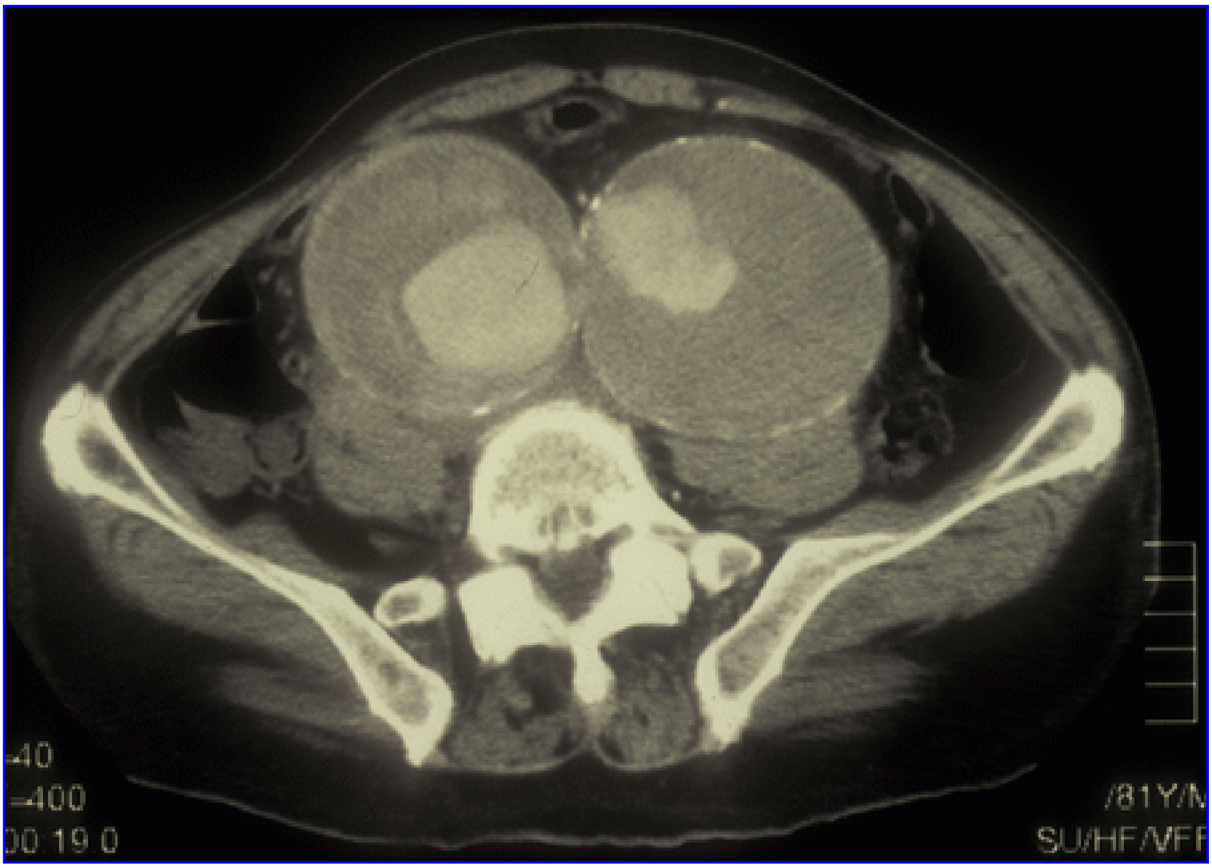


Imagen 2: Aneurismas en ilíacas

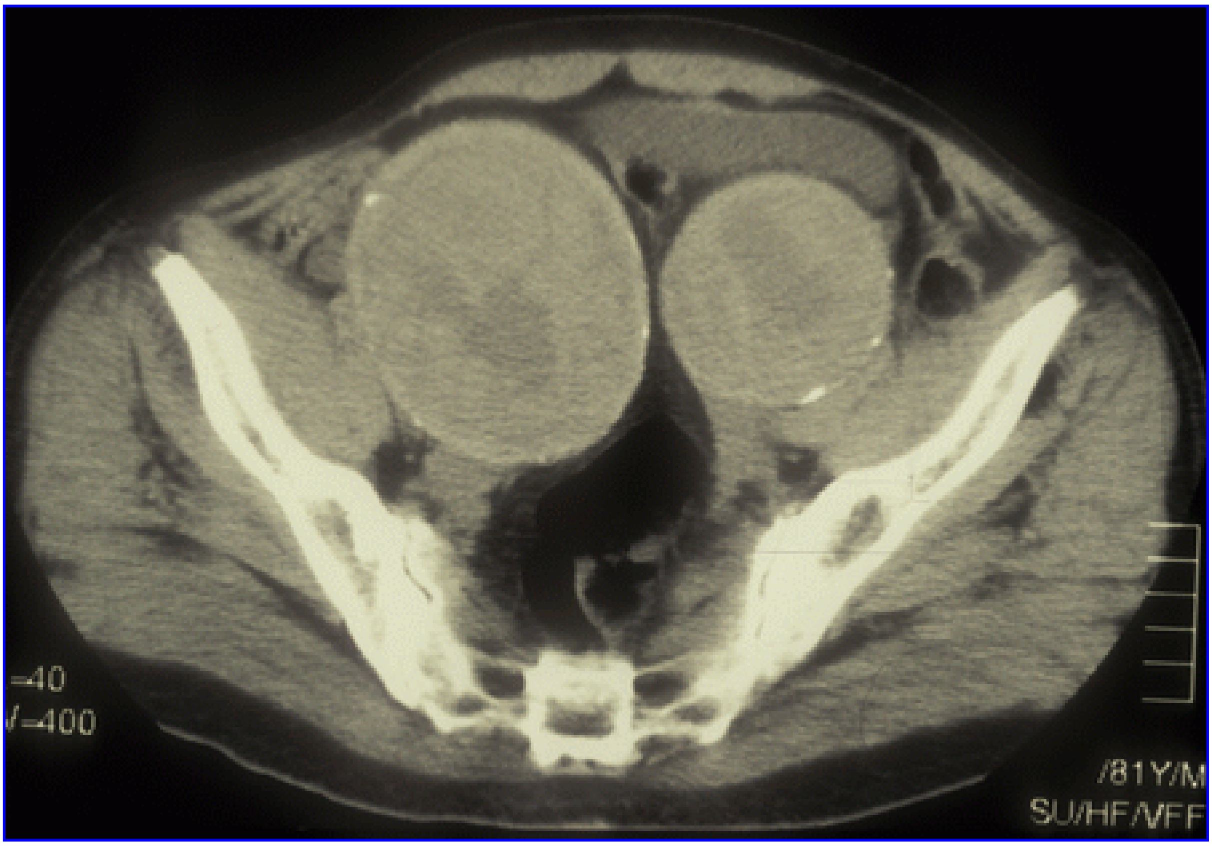


Imagen 3: Aneurismas en ilíacas

Con el diagnóstico de coagulación intravascular diseminada (CID) secundaria a aneurisma abdominal, el paciente recibió tratamiento con 2 unidades de plasma fresco congelado, 7 unidades de crioprecipitado y 2 concentrados de hematíes previamente a la intervención quirúrgica. Se intentó la colocación de una endoprótesis aortoilíaca pero esta maniobra fue desestimada por la imposibilidad de progresión del dispositivo.

Finalmente, se realizó la resección del aneurisma de aorta abdominal y de los aneurismas gigantes ilíacos, con ligadura de ilíacas y colocación de bypass aortobifemoral. Durante la intervención precisó por sangrado activo, 4 unidades de plasma fresco congelado, 9 unidades de concentrado de hematíes y una aféresis de plaquetas. El cuadro de CID se resolvió tras la intervención quirúrgica. Como complicación postoperatoria a las 48 horas de la intervención presentó fiebre elevada y un aumento de la cifra de bilirrubina de 3,7 mg/dl (a expensas de bilirrubina directa) que se incrementó en los días posteriores hasta 7,2 mg/dl; en la ecografía abdominal realizada se observó un gran hematoma subcapsular hepático (17 x 5,5 cm); se inició tratamiento endovenoso con cefotaxima 2gr/8 y amikacina 1 gr/24 horas que se mantuvieron hasta la desaparición de la fiebre. En los controles ecográficos posteriores se observó una progresiva disminución de la colección líquida subcapsular hepática.

Han pasado 4 meses desde entonces, y el paciente se encuentra bien, asintomático

DISCUSIÓN

La CID es una forma de presentación rara de un aneurisma aórtico. La mayoría de los casos de CID son asintomáticos puesto que la coagulopatía está compensada y esta complicación se diagnostica durante el período perioperatorio; sin embargo, en una minoría de casos los síntomas y signos de la CID conducen al diagnóstico de las alteraciones vasculares.

El tratamiento quirúrgico es el de elección pero en pacientes inoperables o con una CID que no se resuelve tras la cirugía, deben implantarse otro tipo de medidas encaminadas a la corrección de la coagulopatía.

El tratamiento hemoterápico sustitutivo debe ser individualizado según la situación clínica del paciente y debe acompañarse de una estrecha monitorización de los test de coagulación[3].

El uso de heparina tanto no fraccionada como de bajo peso molecular ha sido utilizada para el adecuado control de la activación de la coagulación y durante un largo período de tiempo con escasos efectos secundarios. La heparina generalmente se asocia al tratamiento con antifibrinolíticos[4, 5].

Otros fármacos como el danaparoide también permiten el control de las manifestaciones de la coagulopatía. Los antifibrinolíticos como el gabexate, ácido tranexámico, y el ácido epsilon-aminocaproico (EACA) estarían indicados en el caso de hemorragias masivas[6].

REFERENCIAS:

1.- Castilo R y Escolar G. Hipocoagulabilidades adquiridas. Síndrome de la coagulación intravascular diseminada. (CID). Deficiencias complejas de la hemostasia. En :Sans-Sabrafen J, Besses Raebel C, Vives Corrons JL, eds. Hematología clínica 4ª.Madrid, España 2001, p. 659-674.

2.- Peters KA, Triolo PT, Darden DL. Disseminated intravascular coagulopathy: manifestations after a routine dental extraction. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;99:419-423.

3.- Fernández-Bustamante A, Jimeno A. Disseminated intravascular coagulopathy in aortic aneurysms. Eur J Intern Med. 2005;16:551-560.

4.- Majumdar G. Long-term management of chronic DIC associated with inoperable aortic aneurysm with low molecular weight heparin. Hematol J. 2004;5:447-448.

5.- García Fernández JR, López Berenguel F, Ais C. Long-term treatment with low molecular weight heparin, of chronic disseminated intravascular coagulation] An Med Interna. 2003;20:191-194.

6.- Ontachi Y, Asakura H, Arahata M, Kadohira Y, Maekawa M, Hayashi T, Yamazaki M, Morishita E, Saito M, Minami S, Nakao S. Effect of combined therapy of danaparoid sodium and tranexamic acid on chronic disseminated intravascular coagulation associated with abdominal aortic aneurysm. Circ J. 2005;69:1150-1153.

Comentario del Revisor Ramón Díaz-Alersi MD. Medicina Intensiva. Hospital Puerto Real. Cádiz. España

La frecuencia de los aneurisma de aorta abdominal asintomáticos varía dependiendo de los países, oscilando en varones entre el 8,8% de Italia y el 4,2 de Dinamarca. La frecuencia en mujeres es mucho más baja, entre el 0,6% y el 1,4%. La frecuencia de ruptura oscila entre los 13 casos por 1000 del Reino Unido y los 4,8 por 1000 de Finlandia. Se trata por tanto de un importante problema de salud.

Incluso los aneurisma de aorta abdominal asintomáticos deben ser reparados quirúrgicamente, ya que la tasa de mortalidad en el tiempo es del 100% debido a ruptura. Además, estos pacientes están expuestos a embolias graves en los miembros inferiores. La mortalidad operatoria oscila entre el 1 y el 8,5%, si se opera electivamente, y el 50% si se opera tras ruptura. No obstante, el pronóstico a largo plazo es bueno, salvo en el caso de que el paciente padezca de EPOC, que es un predictor independiente de mortalidad. Así, la supervivencia en pacientes operados con éxito es semejante a la de la población de la misma edad.

La coagulación intravascular diseminada es un síndrome que puede ser muy grave y amenazante para la vida cuando se presenta de manera aguda. Cuando es subaguda o crónica, como en este caso, el tratamiento farmacológico suele ser suficiente para compensarlo hasta la resolución de la causa etiológica. La eliminación de esta conduce normalmente a la curación total del paciente, tanto si la coagulación intravascular diseminada es aguda como crónica, siempre que el tratamiento se instaure antes de que haya habido lesión irreversible de órganos (por infartos o isquemia de miembros; o por fallo renal, suprarrenal o pulmonar).

Este caso resulta especialmente interesante por mostrar una causa rara de coagulación intravascular diseminada y haber sido la desencadenante del diagnóstico de una grave afección que podría haber acabado con la vida del paciente antes de ser diagnosticada. Además, se trata de un reto quirúrgico en el que el paciente hubo de ser sometido a una intervención que provoca pérdidas sanguíneas elevadas y aumenta los trastornos de la coagulación.

Comentario del Revisor Fidel Rivero Fernández, MD. Jefe de Servcio de Angiologia y Cirugia Vascular. Hospital Provincial Manuel Ascunce Domenech. Camagüey. Cuba.

Se trata de un caso con imágenes de Angiotomografia Axial computada del sector aorto iliaco que muestran un aneurisma del sector aorto iliaco con trombos en su pared a nivel de la aorta abdominal y signos que sugieren la complicacion de este aneurisma por compresion de estructuras vecinas o ruptura del mismo.

Los aneurismas de la aorta son resultado de una complicación de la aterosclerosis por debilitamiento de la pared arterial y depósito de sustancias en su pared que, de acuerdo con nuestra experiencia cada dia, se hace mas frecuente y cuya mayor incidencia se presenta en la hipertension arterial, siendo la aorta un organo diana afectado por dicha hipertension arterial, así como otros factores de riesgo de reconocida importancia. En la actualidad esta patologia puede y debe de ser tratada quirúrgicamente siempre que se establezca la indicación de acuerdo a las dimensiones y las condiciones generales lo permitan. La cirugía endovascular de los aneurisma es hoy en día un opción en el tratamiento quirúrgico de los aneurismas.

Pienso que lo novedoso de este caso esta en el tamaño del aneurisma, el comprometimiento de las arterias iliacas y otros elementos como la evolucion y solucion quirurgica de acuerdo con la tecnica empledada. Hay que destacar lo extremadamente infrecuente de la aparicion de CID como complicacion de un Aneurisma Aortico Abdominal, y que consideramos que este caso fue manejado excelentemente por los colegas a cargo de su atencion, con una valoracion integral del mismo.

Recibido 25 de marzo de 2006.
Publicado 3 de Abril de 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

ACTUACIÓN DOMICILIARIA EN EL SINDROME DE APNEAS/HIPOPNEAS DURANTE EL SUEÑO (SAHS): DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Alonso Álvarez ML, Terán Santos J, Cordero Guevara J[1], Coma del Corral MJ[1], Ordax Carbajo E.

Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño. [1]Unidad de Investigación. Hospital General Yagüe. Burgos. España

mlalonso @ hgy.es

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:63-75

Comentario del Revisor Ramon Diaz Alersi MD. Hospital Puerto Real. Cádiz. España

Comentario del Revisor Jorge Rey de Castro, MD. Clínica Anglo Americana. Profesor Principal Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Perú.

English version

RESUMEN:
Estudios recientes, relacionan el SAHS con mayor morbimortalidad cardiovascular y por otro lado, sabemos que aún hoy en día, el SAHS sigue estando infradiagnosticado. Este infradiagnóstico supone, por un lado, un déficit o perdida de salud y por otro lado, un aumento de costes, ya que está demostrado que los pacientes con SAHS no diagnosticados ni tratados, son mayores consumidores de los servicios de salud y presentan mayor absentismo laboral, mientras que estos costes se reducen en los pacientes con SAHS tratados con CPAP. Por tanto, nos encontramos ante la necesidad de diagnosticar y tratar adecuadamente al mayor número posible de pacientes que padezcan un SAHS.

El método diagnóstico de elección, sigue siendo la PSG nocturna vigilada en el laboratorio de sueño, sin embargo, el futuro del diagnóstico del SAHS pasa indefectiblemente por el empleo de sistemas simplificados con alta sensibilidad y especificidad. En este sentido, la Poligrafía Respiratoria, representa una alternativa útil para el diagnóstico del SAHS, pudiendo ser realizada en el domicilio del paciente, al igual que los sistemas Auto-CPAP. De esta forma, el abordaje actual del SAHS ha cambiado y así, un paciente con alta probabilidad de padecer un SAHS, se le puede realizar una PR domiciliaria que diagnostique el SAHS y posteriormente para ajustar el nivel de presión óptima de CPAP, se le podría hacer un registro domiciliario de Auto-CPAP.

Con este nuevo abordaje del SAHS, se podrán disminuir las listas de espera y por tanto disminuir el infradiagnóstico. Todo ello conlleva implícitamente un ahorro de recursos. El lugar del diagnóstico, será fundamentalmente el domicilio, y en este sentido, el desarrollo de aplicaciones telemáticas contribuirá de forma importante a la modificación de las estrategias diagnósticas.

El éxito de esta forma de abordaje del SAHS, vendrá marcado por una adecuada selección de los pacientes subsidiarios de diagnóstico y ajuste de tratamiento domiciliario, por lo cual, cada unidad de sueño debe establecer su propia estrategia diagnóstico-terapeútica que resulte más costo-efectiva.

Palabras Clave: Poligrafía respiratoria. Síndrome de apnea del sueño. AutoCPAP

SUMMARY
The recent studies relate the Sleep Apnea/Hipopnea Syndrome (SAHS) with cardiovascular morbidity and mortality, and today, we know it is an underdiagnosed disease. This underdiagnostic implies unhealthy and it increases of health care utilization because the patients with SAHS neither diagnostic nor treatment, they are increase health care utilization and they are more absentees work, whereas the Continuous Positive Airway Pressure (CPAP) treatment significantly reduces health care utilization. So, we must diagnose and we must treat the patients with SAHS.

The nocturnal polysomnography (PSG) is still the diagnosis technique considered as "Gold Standard", although in the future, the diagnosis of SAHS will be to do it with simplifies systems with highly sensitivity and with highly specificity. The Respiratory Polygraphy (RP) is a useful option for diagnosis of SAHS and the Respiratory Polygraphy and the auto-CPAP system could be makes at home. In this moment, when we find a patient with highly probability to have SAHS, we could make a Respiratory Polygraphy at home for diagnosis of SAHS and then, we could make auto-CPAP for titration the optimum level of CPAP pressure.

With this approach, we will reduce the underdiagnostic and the waiting list, and then saving resources. The place of diagnosis will be at home and then the telematic development will aid to modify the diagnostic approach.

This approach's success for diagnose of SAHS will be determinate for the patients´s suitable selection, so every sleep unit must set up its diagnostic-treatment approach that results more cost-effective

Key words: Respiratory Polygraphy. Sleep Apnea Syndrome. AutoCPAP

1.- INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Apneas/Hipopneas durante el sueño (SAHS) se caracteriza por un cuadro de somnolencia diurna, trastornos neuropsiquiátricos y cardiorrespiratorios secundarios a episodios repetidos de obstrucción de la vía aérea superior (VAS) durante el sueño, que provocan desaturaciones de la hemoglobina y despertares transitorios (arousals) dando lugar a un sueño no reparador[1].

El diagnóstico de sospecha del SAHS, se realizará a partir de una historia clínica compatible, con presencia de síntomas de excesiva somnolencia diurna, sueño no reparador, cefaleas matutinas, deterioro cognitivo, depresión, nicturia etc, además de ronquido nocturno y episodios apneícos nocturnos relatados por el compañero/a de cama[2]

El diagnóstico de certeza del SAHS, se realizará mediante polisomnografía (PSG) nocturna completa[3, 4] en el laboratorio de sueño y de forma vigilada. La PSG consiste en el registro continuo y supervisado del estado de vigilia y de sueño espontáneo, incluyendo el registro de variables neurofisiológicas y cardiorrespiratorias que nos permiten evaluar la cantidad y calidad del sueño, así como la identificación de los diferentes eventos respiratorios y su repercusión cardiorrespiratoria y neurofisiológica.

En la práctica diaria el número de pacientes diagnosticados de SAHS depende de la disponibilidad de medios técnicos adecuados, del número de laboratorios de sueño y de la accesibilidad a los mismos[5, 6, 7]. El SAHS está infra-diagnosticado[8]. Los estudios realizados en España estiman que cerca del 25% de la población general adulta en edades medias de la vida tienen un índice de Apneas / Hipopneas (IAH) por hora de sueño anormal y que como mínimo un millón doscientas mil personas padecen un SAHS clínicamente relevante susceptible de tratamiento con presión positiva continua en la vía aérea superior (CPAP)[9,10].

La elevada prevalencia del SAHS, así como la escasez de medios disponibles han motivado la aparición de largas listas de espera, lo cual irremediablemente conlleva la necesidad de búsqueda de técnicas diagnósticas alternativas o complementarias a la PSG eficaces y menos costosas, que permitan establecer un adecuado diagnóstico y tratamiento del SAHS.

2.- DIAGNOSTICO DOMICILIARIO DEL SAHS

A.-ESTADO ACTUAL DEL DIAGNOSTICO DOMICILIARIO DEL SAHS

En 1994, la American Sleep Disorders Association (ASDA), establece cuatro niveles diagnósticos para la evaluación de los Trastornos Respiratorios del Sueño (Tabla 1)[11], (Figura 1)

En 1998, la Agencia para la Salud Pública y la investigación de EEUU (AHCPR)[12, 13], realiza un meta-análisis de los procedimientos utilizados para el diagnósticodel SAHS, revisando la literatura desde 1980 a 1997. En la valoración de equipos portátiles presumiblemente útiles para el diagnóstico domiciliario, se incluyeron 25 estudios válidos, la mayoría de ellos analizaban sus resultados en el laboratorio de sueño y sus sensibilidades y especificidades variaban entre el 33-100%. Esta variabilidad de los resultados no permitió extraer conclusiones.

Más recientemente, se ha realizado una nueva revisión sistemática de la literatura[14], en la cual tres sociedades científicas, la American College of Chest Physicians (ACCP), The American Thoracic Society (ATS), y The American Academy of Sleep Medicine (AASM), tratan de establecer unas pautas para la utilización de los sistemas portátiles para el diagnóstico del SAHS[15]:

1.- Nivel II, PSG no vigilada: No hay datos disponibles para recomendar su utilización en la práctica clínica diaria, existiendo escaso número de estudios publicados.

2.- Nivel III, Sistemas portátiles de apnea del sueño o Poligrafía Respiratoria: Existen evidencias para aceptar su utilización en el laboratorio de sueño, tanto para confirmar como para descartar SAHS.

3.- Nivel IV, Registro continúo de uno o dos bioparámetros: No son recomendables para su utilización rutinaria ni en laboratorios de sueño ni en medios no vigilados.

Los cuatro niveles de monitorización diagnóstica quedan recogidos en la Tabla 1.

TABLA 1: NIVELES DIAGNÓSTICOS DE LA ASDA

NIVEL	Parámetros	Posición	Movimientos piernas	Intervención
I: PSG Estándar	Mínimo 7: EEG,EOG,EMG, ECG, Esfuerzo Resp. Flujo aéreo, Sat O_2	Documentada	Deseable opcional	POSIBLE
II: PSG Portátil	Mínimo 7	Puede ser medida	Deseable Opcional	NO POSIBLE
III: Sistemas Portátiles de Apnea del Sueño	Mínimo 4: 2 Ventilación ECG, Sat O_2	Puede ser medida	Puede ser Registrada	NO POSIBLE
IV: Registro de uno ó dos bioparámetros	Mínimo 1	No Medido	No Registrada	NO POSIBLE

EEG: Electroencefalograma; EOG: Electrooculograma, EMG: Electromiograma; ECG: Electrocardiograma; Sat O_2: Saturación de la oxihemoglobina.

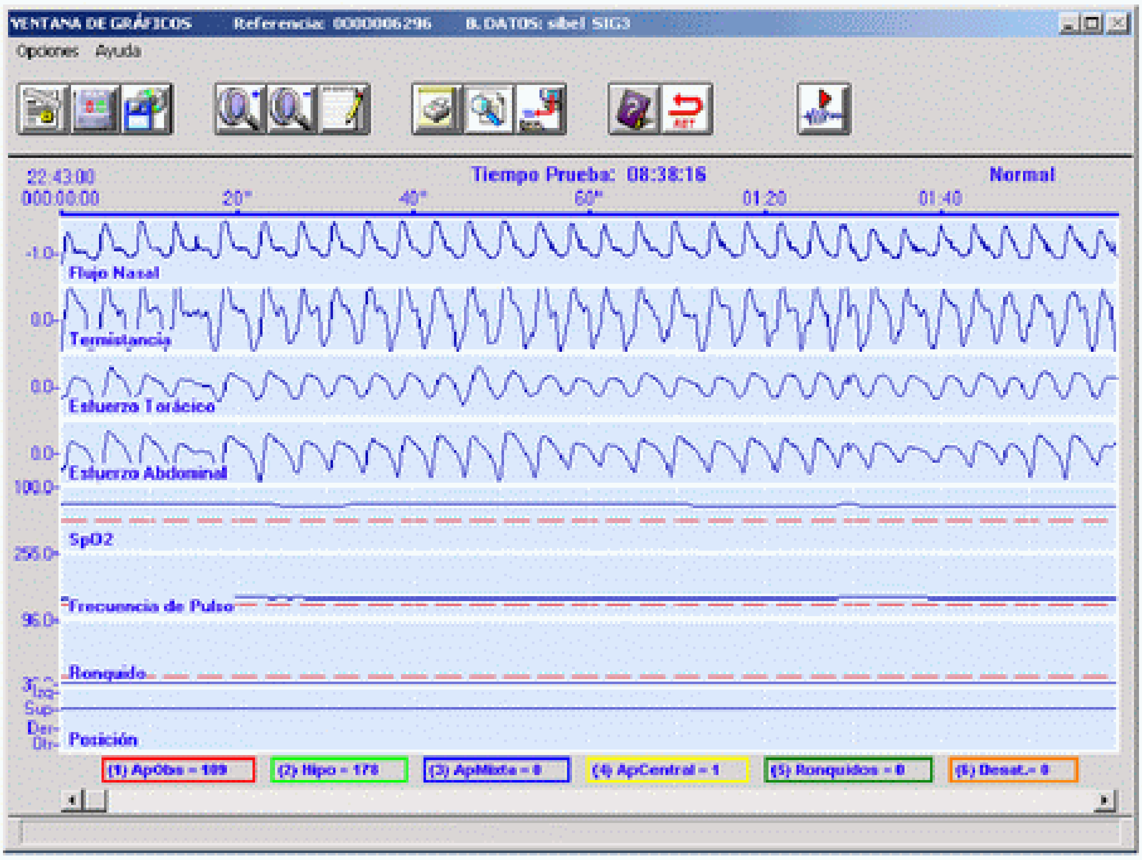


Figura 1a

Figura 1b

Figura 1.- Poligrafía Respiratoria NIVEL III. Sistema de Poligrafía Respiratoria, nivel III, Sibelhome®. De arriba abajo, flujo aéreo por cánula nasal y por termístor, esfuerzo torácico, esfuerzo abdominal, saturación de oxígeno, frecuencia de pulso, ronquido y posición. La figura 1a, corresponde a 2 minutos de registro normal y en la 1b, presencia de apneas con cese de flujo tanto en cánula como en termístor.

B.- ESTRATEGIA DE DIAGNOSTICO DOMICILIARIO DEL SAHS

Una serie de preguntas son claves a la hora de abordar el diagnóstico del SAHS: ¿qué prueba utilizar?, ¿cómo y que implicaciones tendrían los resultados de la prueba sobre los riesgos y secuelas clínicas importantes del SAHS?, ¿qué hacer en caso de un resultado negativo?, ¿qué hacer en pacientes diagnosticados de SAHS mediante PR e iniciado tratamiento con CPAP, que presenten mala respuesta al tratamiento?

Por las investigaciones realizadas hasta el momento, lo que si parece claro y existe acuerdo, en cuanto al diagnóstico domiciliario del SAHS es:

1.- No se recomienda la utilización de sistemas de Nivel IV ni de Nivel II.
2.- En los sistemas de Nivel III, es dónde se centra el diagnóstico domiciliario

B.1.- VENTAJAS DE LA POLIGRAFIA RESPIRATORIA:

1.- Son sistemas más sencillos que la PSG, y por tanto, podrían aumentar la accesibilidad al diagnóstico.
2.- Los polígrafos en general, son más baratos que los polisomnógrafos
3.- Podría ser utilizada en el domicilio, evitándose así un ambiente extraño como es el hospital y fuera de su entorno habitual.

B.2.- LIMITACIONES DE LA POLIGRAFIA RESPIRATORIA:

1.- Los estudios de validación de PR, están mayoritariamente realizados en laboratorios de sueño, y no en el domicilio del paciente.

2.- Heterogeneidad de los sistemas disponibles: Los equipos de poligrafía disponibles utilizan diferentes sistemas de medición. Por tanto, sería necesario un consenso en cuanto a los parámetros a medir, canales necesarios y métodos de medición.

3.- Estos sistemas no permiten el registro de sueño.

4.- En la PR, es necesario tener en cuenta que el RDI (índice de disturbios respiratorios), se calcula en función del tiempo total de estudio y no del tiempo total de sueño, pudiéndose producir una infraestimación del SAHS.

5.- Si un paciente presenta clínica altamente sugestiva de SAHS y el estudio con PR es negativo o no concluyente, será necesario realizar PSG.

B.3.- ESTUDIOS DOMICILIARIOS:

Son pocos los estudios de validación de PR realizados en el domicilio (PRD), la mayoría de ellos con escaso número de pacientes y con sistemas de nivel IV, como se muestra en la revisión realizada por ATS, ACCP y AASM[14]. En este sentido, nuestro grupo realizó un estudio de validación de un sistema de PR comparado con la PSG[16], cuyo objetivo fue valorar la utilidad diagnóstica de la PR realizada en el domicilio, así como los costes derivados de ello. Se estudiaron 45 pacientes con sospecha de SAHS. La correlación entre el RDI (Índice de eventos respiratorios en PR) y el IAH (Índice de apnea/Hipopnea en PSG) fue de r= 0,727 y los valores de sensibilidad y especificidad de la PR para el diagnóstico de SAHS se muestran (en la tabla 2).

TABLA 2: PUNTOS SELECCIONADOS EN LA CURVA ROC

	Punto de corte	RDI	Eficiencia (%)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
IAH ≥ 10	Eficiente FP=FN=1	11,6	82,2	71,4	91,7	88,2	78,6
	Sensible FP=FN=1	7,2	71,1	90,5	54,2	63,3	86,7
	Específico FP=FN=1	13,70	80	61,9	95,8	92,9	74,2
	Eficiente FP=2; FN=1	13,70	80	61,9	95,8	92,9	74,2
IAH ≥ 10 + Epworth≥10	Eficiente FP=FN=1	13,70	79,5	60	95,8	92,3	74,2

IAH: Índice de apnea/Hipopnea por hora de sueño en polisomnografía
RDI: Índice de eventos respiratorios por hora de estudio en poligrafía respiratoria domiciliaria
VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo
FP: Falso Positivo; FN: Falso Negativo

Con los valores de RDI obtenidos en la curva ROC, se calcularon las probabilidades pre-test y post-test, siendo la probabilidad post-test de un resultado negativo (RDI< 7,2), de 13,60% y la probabilidad post-test de un resultado positivo (RDI ≥ 13,70) de 92,86%. En nuestro medio, la realización de una PR domiciliaria en un paciente con sospecha de SAHS, supone un ahorro de 32,34□con respecto a la realización de PSG, incluso cuando haya que realizar PSG a las PR domiciliarias (PRD) dudosas, repetir PRD no validas y asumiendo gasto adicional de falsos positivos tratados con CPAP. Por tanto, actualmente se puede considerar la PR como técnica de diagnóstico del SAHS en domicilio[17], teniendo en cuenta una serie de consideraciones[18]:

1.- El empleo de la PR en domicilio (PRD) deberá ser individualizado por cada Unidad de Sueño[19].
2.- Es necesario una cuidadosa selección de pacientes.
3.- Los resultados de PRD dudosos o negativos, en pacientes con alta sospecha de SAHS, requieren la realización de PSG.
4.- La PRD no supone un aumento de costes y su realización de forma protocolizada, supone un ahorro respecto a la realización de PSG a todos los pacientes con sospecha de SAHS.
5.- La PR realizada en el domicilio de los pacientes, permitirá mejorar la accesibilidad al diagnóstico y por tanto, disminuir las listas de espera.
6.- Dado que es una técnica no vigilada y que no permite el registro de variables neurofisiológicas, es recomendable que el paciente rellene una agenda de sueño, en la cual indique, la hora aproximada a la que se durmió y se despertó, percepción subjetiva de cantidad y calidad de sueño.
7.- Para aquellos centros que sólo dispongan de PR, es necesario establecer un nivel de coordinación adecuado con unidades que dispongan de PSG.

Población subsidiaria de estudios domiciliarios:

1.- Pacientes con baja probabilidad de SAHS y sin factores de riesgo cardiovascular, en los cuales una PRD negativa, permita descartar la existencia de SAHS.
2.- Pacientes con alta probabilidad de SAHS, en los que una PRD positiva permita confirmar la existencia de SAHS e instaurar el tratamiento adecuado.
En la figura 2, se muestra un algoritmo de diagnóstico domiciliario del SAHS.

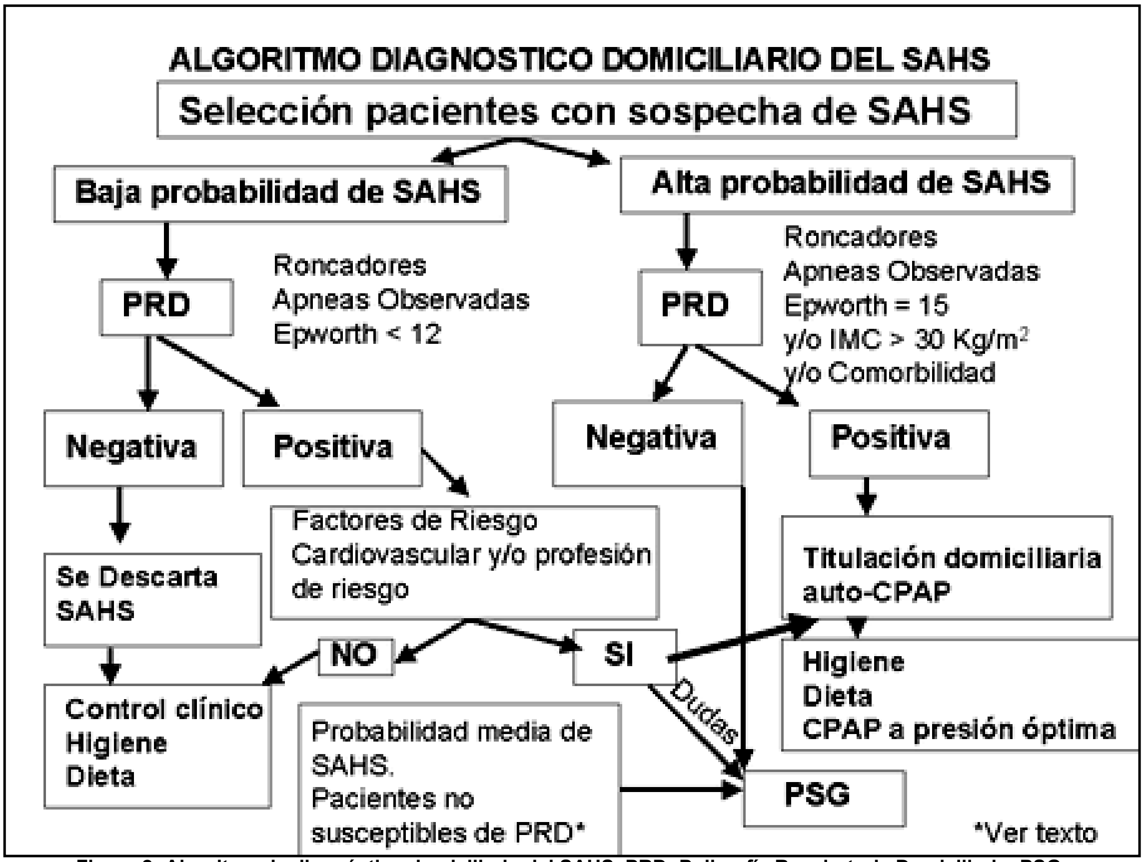


Figura 2: Algoritmo de diagnóstico domiciliario del SAHS. PRD: Poligrafía Respiratoria Domiciliaria; PSG: Polisomnografía nocturna; IMC: Índice de masa corporal; CPAP: Presión Positiva Continua sobre la Vía aérea superior

Población no subsidiaria de estudios domiciliarios:

1.- Pacientes con sintomatología sugestiva de otros trastornos de sueño no SAHS.
2.- Pacientes con insomnio.
3.- Trabajadores a turnos
4.- Pacientes con síndrome ansioso - depresivo
5.- Pacientes con comorbilidad importante
6.- Pacientes con probabilidad clínica media de padecer SAHS, en los cuales una PRD podría ser dudosa y sería necesario la realización de PSG.

3.- TRATAMIENTO DOMICILIARIO DEL SAHS

3.1.- RECOMENDACION DE TRATAMIENTO DEL SAHS La Sociedad Española de Patología Respiratoria (SEPAR), en 1998 publica unas recomendaciones para el tratamiento del SAHS[20], (Figura 3):

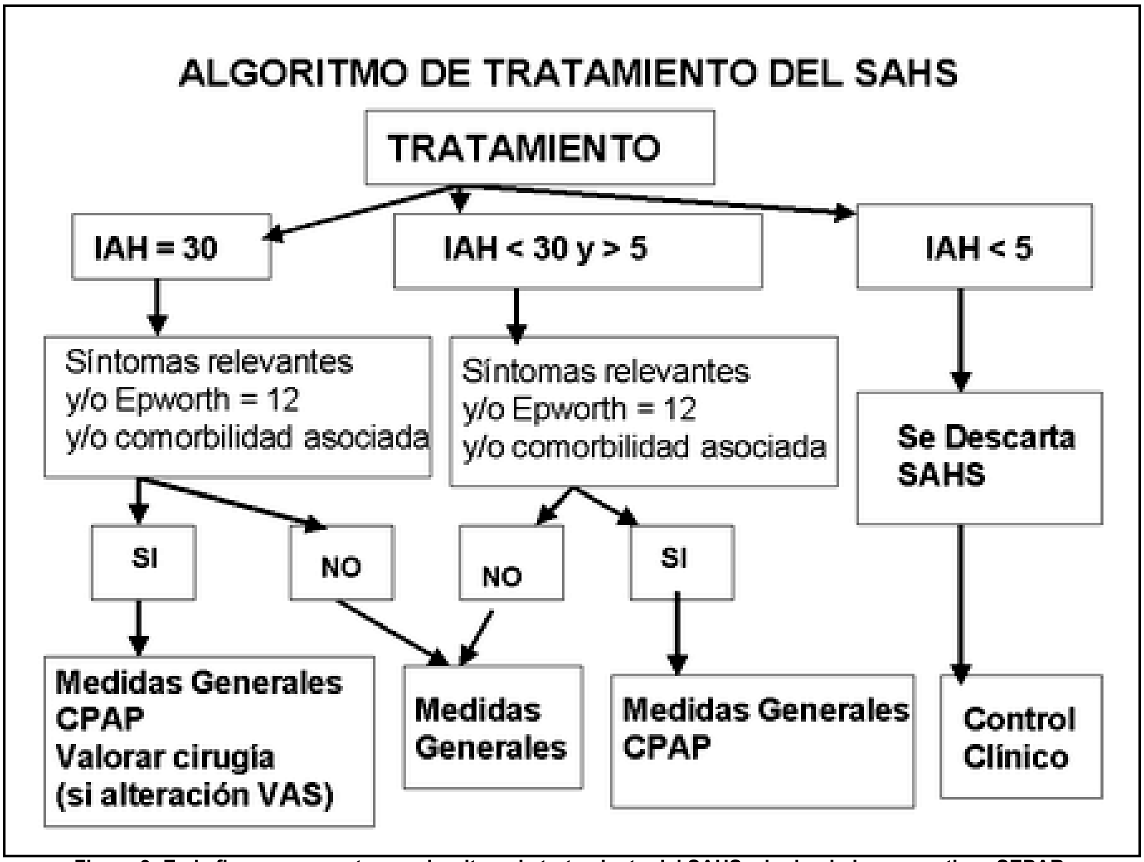


Figura 3: En la figura se muestra un algoritmo de tratamiento del SAHS, siguiendo las normativas SEPAR.

3.2.- TIPOS DE TRATAMIENTO

El objetivo del tratamiento del SAHS, es la mejoría o desaparición de la sintomatología clínica y la corrección de las alteraciones fisiopatológicas, es decir, la desaparición de las apneas y de las hipopneas, siendo eficaces aquellos tratamientos que permitan la permeabilidad de la vía aérea superior. La aproximación al tratamiento del SAHS deberá ser multidisciplinar y se puede dividir en los siguientes apartados:

1.- MEDIDAS GENERALES

El objetivo del tratamiento con medidas generales sería la eliminación de los factores que predispongan, desencadenen o empeoren la malfunción de la VAS, durante el sueño[21]: Evitar la obesidad, el alcohol, la posición decúbito supino[22] durante el sueño, los fármacos que potencien la malfunción de la VAS, como las benzodiacepinas[23] y narcóticos y mantener una adecuada higiene de sueño.

2.- TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO:

Se han ensayado más de 100 medicamentos para el tratamiento del SAHS con escasos resultados[24], por lo que hasta el momento actual no constituyen una alternativa terapéutica eficaz.

3.- DISPOSITIVOS DE AVANCE MANDIBULAR (DAM):

El objetivo del tratamiento con dispositivos intraorales, sería la mejoría del ronquido, del SAHS o de ambos, mediante la actuación de uno o más de los siguientes mecanismos[25]: Modificación de la posición de las estructuras de la VAS, aumento de la VAS y/o Reducción de la colapsabilidad de la VAS.

La ASDA, los considera como alternativa valida[25], de primera elección en roncadores simples, pacientes con SAHS leve, pacientes con SAHS leve-moderado con bajo índice de masa corporal y pacientes con Síndrome de Aumento de la Resistencia de la Vía Aérea Superior(SARVAS).

Siendo una alternativa de segunda elección en:
a.- Pacientes que no responden o rechazan la CPAP
b.- Pacientes con riesgo quirúrgico elevado
c.- Pacientes con deficiente respuesta al tratamiento quirúrgico.

4.- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

Las técnicas quirúrgicas que se aplican en la actualidad pueden resumirse en:

4.1.- Cirugía reductora del contenido: cirugía nasal, cirugía palatofaríngea y cirugía lingual

4.2.- Cirugía de ensanchamiento del continente: Cirugía maxilofacial. Son técnicas quirúrgicas agresivas y en general reservadas a fracasos del tratamiento con CPAP o bien a pacientes que lo rechazan de entrada

4.3.- Traqueotomía: Se reserva para situaciones de urgencia en pacientes con SAHS severo y como tratamiento previo en pacientes de riesgo que van a ser sometidos a otros tratamientos quirúrgicos con el fin de disminuir los riesgos perioperatorios.

5.- PRESION POSITIVA CONTINUA SOBRE LA VIA AEREA SUPERIOR (CPAP):

La utilización de Presión positiva continua sobre la vía aérea superior, CPAP, es el tratamiento de elección del SAHS. Fue desarrollada por Sullivan en 1981 y consiste en una turbina que trasmite una presión predeterminada a través de una mascarilla nasal adaptada a la cara del paciente, fijada con un arnés. El sistema genera constantemente un flujo y trasmite una presión a la vía aérea superior, evitando su colapso tanto estático (apneas),como dinámico (hipopneas) durante el sueño. Por tanto se trata de un tratamiento mecánico.

La CPAP corrige las apneas obstructivas, mixtas y en ocasiones las centrales, elimina las hipopneas y suprime el ronquido. Evita la desaturación de oxígeno, los despertares electroencefalográficos (arousal) secundarios a los eventos respiratorios y normaliza la arquitectura del sueño. La CPAP remite los síntomas del SAHS, disminuye o elimina la somnolencia diurna patológica, produce recuperación de la capacidad de atención y mejoría de la calidad de vida. Además el tratamiento con CPAP reduce el riesgo de accidentes de tráfico en pacientes con SAHS y parece que normaliza las cifras de tensión arterial en un porcentaje elevado de sujetos hipertensos con SAHS e incluso se le atribuye cierto papel en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca[17].

La CPAP no es un tratamiento curativo, lo cual implica que su aplicación debe ser continuada.

5.A.- Efectos secundarios de la CPAP:

La aparición de efectos secundarios es frecuente durante las primeras semanas de uso de la CPAP. En general, son leves, transitorios y con buena respuesta a medidas locales. Los más frecuentes son: congestión y/o obstrucción nasal, irritación cutánea, sequedad faríngea, ruido, conjuntivitis, cefalea, epistaxis, frío, insomnio, aerofagia, claustrofobia.

5.B.- Ajuste del nivel óptimo de presión de CPAP o Titulación de CPAP: Cada paciente precisa una presión determinada de CPAP que debe ser adecuada de forma individualizada. Existen varios sistemas para adecuar el nivel de CPAP a cada sujeto:

1.- Ajuste del nivel de CPAP mediante PSG convencional, en laboratorio:Se requiere la realización de dos estudios, uno de diagnóstico y otro para ajuste de presión de CPAP.

2.- Ajuste del nivel de CPAP mediante Split-night o noche partida. En el método Split-Night, el diagnóstico de SAHS se debe realizar en la primera mitad de la noche y el ajuste de presión de CPAP en la segunda mitad de la noche, por tanto supone el ahorro de un estudio de sueño26.

3.- Ajuste de Presión óptima de CPAP mediante sistemas Auto-CPAP: Existen varios sistemas de auto-CPAP, los más aceptados son los que modifican la presión en función de

la medición de la onda de flujo inspiratorio. Proporcionan una presión individualizada, que se adapta a las necesidades del paciente con el fin de suprimir los eventos respiratorios. Disponen en su interior de un neumotacógrafo y un transductor de presión que permite registrar la presión, flujo, volúmenes y fugas del sistema. Otros sistemas de auto-CPAP, responden a la presencia de ronquido mediante algoritmos basados en la frecuencia del mismo.

Las evidencias más importantes con las auto-CPAP, son que estos sistemas pueden ser empleados para ajustar el nivel de CPAP óptima en el domicilio del paciente. Masa y col. [27] realizan un ensayo multicéntrico, aleatorizado de grupos paralelos en 360 pacientes con SAHS con un IAH medio de 60, candidatos a tratamiento con CPAP. En este estudio los resultados del ajuste de nivel de presión de CPAP mediante PSG, sistema automático auto-CPAP o con una fórmula matemática no fueron estadísticamente diferentes.

4.- Ajuste de presión óptima de CPAP mediante poligrafía Respiratoria: la Academia Americana del Sueño desaconseja esta opción y desde la introducción de la auto-CPAP prácticamente se ha descartado esta opción para ajuste del nivel de CPAP.

6.- TRATAMIENTO DEL SAHS CON AUTOCPAP

Teniendo en cuenta que los sistemas de CPAP convencional aportan presión fija durante toda la noche y todas las noches, estos sistemas pretenden adaptarse a las necesidades de cada noche. Sin embargo en un meta-análisis publicado recientemente[28] cuyo objetivo era comparar la efectividad de las auto-CPAP con respecto a la CPAP, tan sólo se objetivo una reducción de la presión media en 2,2 cm de H_2O. La adherencia al tratamiento, la mejoría de la somnolencia diurna y la eliminación de los eventos respiratorios era similar con CPAP fija y con auto-CPAP, por tanto hoy en día no se puede considerar que el tratamiento continuo de un paciente con SAHS se realice con auto-CPAP, salvo en cierto subgrupo de pacientes que no toleren la CPAP a presión fija.

AGRADECIMIENTOS: Trabajo parcialmente realizado con ayuda Fondo de Investigación Sanitaria, (FIS 00/0110), cofinanciado por la Union Europea (FEDER)

REFERENCIAS:

1.- Guilleminault C, Dement WC. Sleep apnea syndromes. KROC Foundation Series, Nueva York: Alan R Liss Inc; 1978: 11

2.- Strollo PJ, Rogers RM. Obstructive Sleep Apnea. N Engl J Med 1996; 334: 99 – 104.

3.- Andrew L, Chesson JR, Richard A et al. American Sleep Disorders Association Review. The indications for Polysomnography and Related Procedures. Sleep 1997; 20(6): 423 – 487. Medline

4.- The report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep Related Breathing Disorders in adults: Recommendations for Syndrome Definition and Measurement Techniques in Clinical Research. Sleep 1999; 22(5): 667 – 689. Medline

5.- Phillipson EA. Sleep Apnea. A major public health problem. N Engl J Med 1993; 328: (17): 1271 – 1273. Texto completo

6.- Ohayon MM, Guilleminault C, Priest RG et al.Snoring and breathing pauses during sleep: Telephone interview survey of a United Kingdom population sample. BMJ 1997; 314: 860 – 863. Texto completo

7.- Terán Santos J, Fernández García C, Cordero Guevara J. Situación en España de los recursos diagnósticos y de los tratamientos con presión positiva continua sobre la vía aérea en el Síndrome de Apneas – Hipopneas obstructivas del sueño. Arch Bronconeumol 2000; 36: 494 – 499. Texto completo

8.- Young T, Evans L, Finn L et al. Estimation of the clinically diagnosed proportion of Sleep Apnea Syndrome in Middle-aged men and women. Sleep 1997; 20(9): 705 – 706. Medline

9.- Durán-Cantolla J, Mar J, De la Torre G et al. El síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño (SAHS) en España. Disponibilidad de recursos para su diagnóstico y tratamiento en los hospitales del estado español. Arch Bronconeumol 2004; 40: 259 – 267.

10.- Durán J, Amilibia J, Barbe F et al. Disponibilidad de recursos técnicos para el diagnóstico y tratamiento del síndrome de apnea obstructiva del sueño en los hospitales de la red pública del estado. Arch Bronconeumol 1995; 31: 463 – 469.

11.- Ferber R, Millman R, Coppola M et al. Portable recording in the assessment of obstructive sleep apnea. Sleep 1994; 17(4): 378 -392. Texto completo (Reprinted in Practice Parameter)

12.- Ross SD, Allen IE, Harrison KJ, et al. Systematic review of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea: evidence report/technology assessment. AHRQ Evidence Reports, Numbers 1. Agency for Health Care Policy and Research. Rockville, MD. February 1999. Texto completo

13.- Ross SD, Sheinhait IA, Harrison KJ, et al. Systematic review and meta-analysis of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea. Sleep 2000; 23: 519 -532. Medline

14.- Flemons WW, Littner MR, Rowley JA, et al. Home Diagnosis of Sleep Apnea: A systematic review of the literature. Chest 2003; 124: 1543 – 1579. Texto completo

15.- ATS/ACCP/AASM Taskforce Steering Committee. Executive summary on the systematic review and practice parameters for portable monitoring in the investigation of suspected sleep apnea in adults. Am J Respir Crit Care Med 2004;169:1160-1163. Texto completo

16.- Alonso Álvarez ML. Evaluación de la Utilidad diagnóstica de la Poligrafía Cardiorrespiratoria Domiciliaria en el Diagnóstico del Síndrome de Apneas/Hipopneas del sueño. Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid, 2002.

17.- Duran Cantolla J (coordinador) y Grupo Español de Sueño (GES). Documento de Consenso Nacional sobre el Síndrome de apneas-hipopneas del sueño. Arch Bronconeumol 2005; 41 (Extr 4): 30 -80. Texto completo

18.- Douglas NJ. Home diagnosis of the obstructive sleep apnoea/Hypopnoea syndrome. Sleep Medicine Reviews 2003;7(1):53-59. Texto completo

19.- Terán Santos J, Alonso Álvarez ML, Rodríguez Pascual L et al. Organización y utilidad de una estrategia diagnóstica en el síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS). Papel de los estudios domiciliarios. Arch Bronconeumol 2000; 36 (3): 54 – 57

20.- Montserrat JM, Amilibia J, Barbé F, et al. Recomendaciones SEPAR: tratamiento del síndrome de las apneas-hipopneas durante el sueño. Arch Bronconeumol 1998; 34: 204 – 206 Medline

21.- Montserrat JM, Ballester E, Hernandez L, et al. Overview of management options for snoring and sleep apnoea. Eur Respir Mon 1998; 10: 144 – 178

22.- Cartwright R, Ristanovic R, Diaz F, et al. A comparative study of treatments for positional sleep apnea. Sleep 1991; 14: 546 – 552. Medline

23.- Dolly FR, Block AJ. Effects of flurazepam on sleep-disordered breathing and nocturnal oxygen desaturation in asymptomatic subjects. Am J Med 1982; 73: 239-243. Medline

24.- Grunstein RR, Hedner J, Grote L. Treatment options for sleep apnea. Drugs 2001; 61: 237-251.

Medline

25.- American Sleep Disorders Association. Practice Parameters for the treatment of snoring and obstructive sleep apnea with oral appliances. Sleep 1995; 18:511-513. Medline

26.- Alonso Álvarez ML, Fernández Martínez de Septiem C, Alonso Mediavilla C, et al. Validación de estudios polisomnográficos de mitad de noche en el Síndrome de Apneas/Hipopneas durante el sueño. Arch Bronconeumol 2000; 36: 180-185. Texto completo

27.- Masa JF, Jiménez A, Durán J, et al.Alternative Methods of titrating continuous positive airway pressure. A large multicenter study. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 1218-1224. Texto completo

28.- Ayas NT, Patel SR, Malhotra A, et al. Auto-Titrating versus Standard continuous positive airway pressure for the treatment of obstructive sleep apnea: Results of a Meta-analysis. Sleep 2004; 27:249-253. Medline

29.- Marín JM, Carrizo SJ, Vicente E, et al. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational Study. Lancet 2005; 365:1046-53. Medline

30.- Gami AS, Howard DE, Olson EJ, et al. Day-Night pattern of sudden death in obstructive sleep apnea. N Engl J Med 2005; 352:1206-14 Texto completo

Todas las direcciones electrónicas, han sido vistas el 29 de diciembre de 2005

Comentario del Revisor Ramon Diaz Alersi MD. Hospital Puerto Real. Cádiz. España

El SAHOS es un problema de salud pública. Su prevalencia en España se calcula que es del 4-6% en los varones y del 1-2 % de las mujeres. Dentro de loa trastornos del sueño es el mayor morbimortalidad. Su característica más llamativa es una exagerada somnolencia diurna, pero también da lugar a alteraciones cognitivas y falta de memoria, problemas sociales y cambios de humor, todo lo cual en conjunto puede causar problemas sociales y de empleo a la persona afectada. Además, la somnolencia excesiva afecta frecuentemente a la conducción, haciendo que estos pacientes se vean envueltos en accidentes de circulación con una frecuencia tres veces mayor de la población normal.

Por otro lado, cada vez se encuentra más relación el SAHS y otras patologías, predominantemente la cardiovascular. El SAHS se asocia frecuentemente con hipertensión (aunque también con obesidad, por lo que establecer una relación de causa efecto no es fácil), pero también con un aumento del riesgo de ictus, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca derecha e hipertensión pulmonar. También puede empeorar una insuficiencia cardiaca izquierda. Por otro lado, últimamente se le relacionado con la diabetes tipo 2 y con resistencia a la insulina. El SAHOS también se relaciona con un peor control medicamentoso de la hipertensión arterial.

Por todo ello, es preciso conseguir un mejor diagnóstico y tratamiento de este síndrome que actualmente está todavía infradiagnosticado e infratratado. Este artículo revisa las diferentes modalidades diagnósticas, con especial atención a las tecnológicamente más sencillas, que son aquellas que podrían ser aplicadas al mayor número de pacientes. También se revisa el tratam iento, en continua evolución en los últimos años, en especial el quirúrgico y el de apoyo ventilatorio. El primero es cada vez más accesible gracias a las técnicas mínimamente invasivas y ambulatorias. El segundo se está beneficiando de una retroalimentación constante con los aparatos diseñados para ventilación mecánica no invasiva, destinados a otras patologías respiratorias, y cada vez son más sofisticados y personalizables.

Comentario del Revisor Jorge Rey de Castro, MD. Clínica Anglo Americana. Profesor Principal Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Perú.

Las necesidades prácticas, el avance tecnológico y el control de costes en el diagnóstico y tratamiento del Síndrome de Apneas Hipopneas del Sueño (SAHS) en los últimos años han llevado inevitablemente a simplificar los procedimientos ortodoxos con miras a lograr una mayor cobertura sin sacrificar calidad de trabajo. En tal sentido el concepto de simplificar una prueba considerada como estándar dorado en la medicina del sueño ha sido crucial en los últimos años. A todas luces la polisomnografía convencional se ha ganado ese sitial aún a costa de ser una prueba compleja y de alto coste.

En relación al tema y desde nuestro punto de vista existen dos escuelas médicas bien definidas. Por un lado la rígida posición anglo sajona expresamente representada por la Academia Americana de Medicina del Sueño (AASM) en las referencias bibliográficas del 11 al 15 presentadas por Alonso Alvarez y col. en el artículo que aquí se comenta. En este caso la polisomnografía constituye en la práctica el procedimiento de elección para establecer un adecuado diagnóstico subestimando abiertamente las pruebas del Nivel III, también llamadas de tamizaje. De otro lado la escuela española representada específicamente por neumólogos y la SEPAR interesados en la validación de equipos simplificados de diagnóstico y su implementación según algoritmos como el propuesto en el artículo del grupo de investigadores del Hospital General de Yagüe en Burgos. Las escuelas en mención se han desarrollado en contextos totalmente distintos. Nos referimos específicamente a presupuestos de salud y coberturas de seguros con realidades sustantivamente diferentes. Esto hace la diferencia. Para el caso de países en vías de desarrollo - como en el que laboro - en que las restricciones de orden presupuestal son aún mayores la elección de una tecnología económica es crucial. En ese sentido es poco sensato pretender seguir una secuencia diagnóstica de tecnología onerosa si no se dispone de medios económicos para implementarlo o si de otro lado es posible establecer con rigurosidad la naturaleza de la enfermedad de un paciente por medio de instrumentos y procedimientos mas baratos.

La publicación del grupo de Burgos tiene ese mérito. Se plantea un algoritmo que de manera secuencial establece o rechaza el diagnóstico empleando un equipo de poligrafía respiratoria implementada en domicilio. Queda claramente establecido que el grupo en cuestión tiene experiencia en el tema, selecciona adecuadamente al paciente a partir de aspectos de orden clínico y finalmente tiene cuantificado por medio de validación contra polisomnografía el rendimiento del equipo utilizado en pacientes tanto con alta así como baja posibilidad de tener SAHS.

Para emplear equipos simplificados de diagnóstico en SAHS, cada centro de sueño debería idealmente hacer sus propias mediciones con su población objetivo, esto perfecciona el sistema y protege al paciente de errores diagnósticos. La publicación del Alonso Alvarez y col. es en ese sentido una importante contribución en el área de los trastornos respiratorios del sueño.

*** Autor para la correspondencia:**
Dra. María Luz Alonso Álvarez
Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño
Hospital General Yagüe
Avda. del Cid 96
09005 Burgos. España
Email: mlalonso @ hgy.es

Recibido 18 de enero de 2006.
Publicado 2 de febrero de 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

SLEEP APNEA/HIPOPNEA SYNDROME (SAHS): HOME DIAGNOSIS AND TREATMENT

Alonso Álvarez ML, Terán Santos J, Cordero Guevara J[1], Coma del Corral MJ[1], Ordax Carbajo E.

Sleep Disorders Breathing Unit. [1]Investigation Unit,
Hospital General Yagüe. Burgos. España

mlalonso @ hgy.es

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:76-87

Comment of the Reviewer Ramon Diaz Alersi MD. Hospital Puerto Real. Cádiz. España

Comment of the Reviewer Jorge Rey de Castro, MD. Clínica Anglo Americana. Profesor Principal Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Perú.

Spanish version

SUMMARY

Recent studies associate SAHS with higher cardiovascular morbidity-mortality and we know that even today SAHS continues to be under-diagnosed. This under-diagnosis, signifies, on the one hand, a lowering or loss of health, and on the other, an increase in costs, since it has been demonstrated that patients with undiagnosed or untreated SAHS are higher consumers of health service resources and have higher work absenteeism, while these costs are reduced in SAHS patients treated with CPAP. Therefore, we find ourselves faced with the need to diagnose and suitably treat the largest possible number of patients who suffer from SAHS.

The diagnostic method of choice continues to be supervised nocturnal PSG in the sleep laboratory, however, the future of SAHS diagnosis is inevitably moving towards the use of simplified systems with a high sensitivity and specificity. In this sense, the Respiratory Polygraphy represents an alternative tool for the diagnosis of SAHS, being able to be carried out in the home of the patient, just like the Auto-CPAP systems. Thus, the current approach to SAHS has changed and therefore, a patient with a high probability of suffering from SAHS, is able to have a RP carried out at home which might diagnose SAHS and later to have the CPAP adjusted to the optimum pressure level, as a recording using Auto-CPAP, could be carried out at home.

With this new approach to SAHS, waiting lists could be reduced and thus reduce the under-diagnosis. All this brings about an implicit saving of resources. The place of diagnosis will basically be the home, and in this sense, the development of telematic applications will contribute significantly to the modification of diagnostic strategies.

The success of this form of approach to SAHS, will be established with a suitable selection of subsidiary diagnosed patients and adjustment of home treatment, therefore, each sleep unit must set up its own diagnostic-therapeutic strategy which may be more cost effective.

Key words: Respiratory Polygraphy. Sleep Apnea Syndrome. AutoCPAP

RESUMEN:
Estudios recientes, relacionan el SAHS con mayor morbimortalidad cardiovascular y por otro lado, sabemos que aún hoy en día, el SAHS sigue estando infradiagnosticado. Este infradiagnóstico supone, por un lado, un déficit o perdida de salud y por otro lado, un aumento de costes, ya que está demostrado que los pacientes con SAHS no diagnosticados ni tratados, son mayores consumidores de los servicios de salud y presentan mayor absentismo laboral, mientras que estos costes se reducen en los pacientes con SAHS tratados con CPAP. Por tanto, nos encontramos ante la necesidad de diagnosticar y tratar adecuadamente al mayor número posible de pacientes que padezcan un SAHS.

El método diagnóstico de elección, sigue siendo la PSG nocturna vigilada en el laboratorio de sueño, sin embargo, el futuro del diagnóstico del SAHS pasa indefectiblemente por el empleo de sistemas simplificados con alta sensibilidad y especificidad. En este sentido, la Poligrafía Respiratoria, representa una alternativa útil para el diagnóstico del SAHS, pudiendo ser realizada en el domicilio del paciente, al igual que los sistemas Auto-CPAP. De esta forma, el abordaje actual del SAHS ha cambiado y así, un paciente con alta probabilidad de padecer un SAHS, se le puede realizar una PR domiciliaria que diagnostique el SAHS y posteriormente para ajustar el nivel de presión óptima de CPAP, se le podría hacer un registro domiciliario de Auto-CPAP.

Con este nuevo abordaje del SAHS, se podrán disminuir las listas de espera y por tanto disminuir el infradiagnóstico. Todo ello conlleva implícitamente un ahorro de recursos. El lugar del diagnóstico, será fundamentalmente el domicilio, y en este sentido, el desarrollo de aplicaciones telemáticas contribuirá de forma importante a la modificación de las estrategias diagnósticas.

El éxito de esta forma de abordaje del SAHS, vendrá marcado por una adecuada selección de los pacientes subsidiarios de diagnóstico y ajuste de tratamiento domiciliario, por lo cual, cada unidad de sueño debe establecer su propia estrategia diagnóstico-terapeútica que resulte más costo-efectiva.

Palabras Clave: Poligrafía respiratoria. Síndrome de apnea del sueño. AutoCPAP

1.- INTRODUCTION

Sleep Apnoea/Hypopnoea Syndrome (SAHS) is characterised by symptoms of daytime sleepiness, neuropsychiatric and cardio-respiratory disorders secondary to repeated episodes of upper airway obstructions during sleep, which cause oxygen desaturation and arousals resulting in unrefreshing sleep[1].

The diagnosis of suspected SAHS, should be carried out from clinical history, including the presence of symptoms of excessive daytime sleepiness, unrefreshing sleep, morning headaches, cognitive deterioration, depression, nocturnal micturition etc., as well as nocturnal snoring and nocturnal apnoea episodes, as related by bed companions [2]

To diagnose SAHS with certainty, a complete and supervised nocturnal polysomnography (PSG) should be carried out [3, 4] in the sleep laboratory. The PSG consists of the continuous recording and supervision of the state of wakefulness and spontaneous sleep, including recording of neurophysiological and cardiorespiratory parameters which will allow the quantity and quality of the sleep to be evaluated, as well as identifying the different respiratory events and their cardiorespiratory and neurophysiological repercussions.

The number of patients with SAHS, diagnosed in daily practice, depends on the availability of suitable technical resources, the number of sleep laboratories and accessibility to them[5, 6, 7]. SAHS is under-diagnosed [8]. Studies carried out in Spain estimate that around 25% of the general middle-aged adult population have an abnormal Apnoea/hypopnoea index per hour of sleep (AHI) and at least 1.2 million people suffer from a clinically relevant SAHS, treatable with continuous positive airway pressure (CPAP) [910].

The increased prevalence of SAHS, as well as the limited resources available has brought about long waiting lists, which inevitably leads to the need to look for more effective and less costly diagnostic techniques, alternative to or complementary to PSG, which might enable SAHS to be suitably diagnosed and treated.

2.- HOME DIAGNOSIS OF SAHS

A.-CURRENT STATE OF THE HOME DIAGNOSIS OF SAHS

In 1994, the American Sleep Disorders Association (ASDA), established four diagnostic levels for the evaluation of Sleep Breathing Disorders (Table 1)[11], (Figure 1)

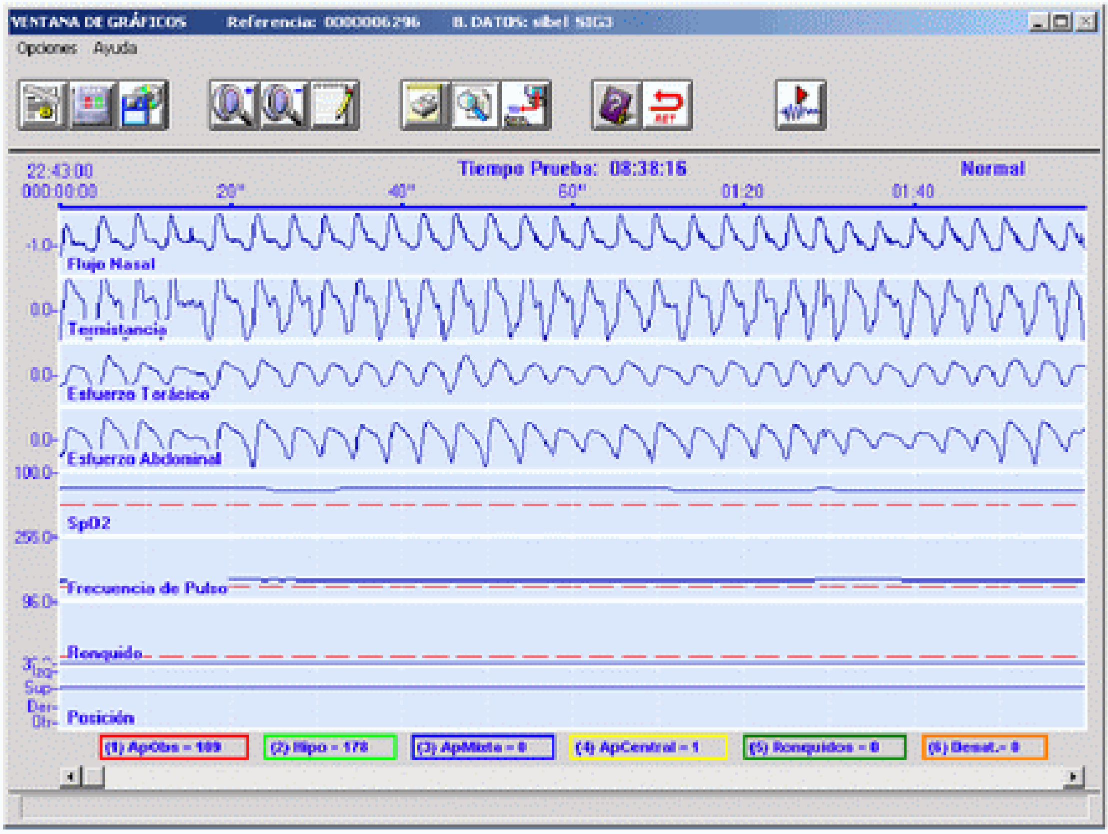


Figure 1a

Figure 1b

Figure 1.- Respiratory Polygraphy System, level III, Sibelhome®. From top to bottom, air flow by nasal cannula and by thermistor, thoracic strength, abdominal strength, oxygen saturation, pulse rate, snoring and position. Figure 1, corresponds to 2 minutes of normal recording and in 1b, presence of apnoeas with cessation of flow in the cannula as well as the thermistor.

TABLE 1: DIAGNOSTIC LEVELS OF ASDA

NIVEL	Parameters	Position	Leg movements	Intervention
I: Standard PSG	Minimum: 7 EEG,EOG,EMG, ECG, Resp. Strength Air flow Sat. O_2	Documented	Desirable Optional	Possible
II: Portable PSG	Minimum: 7	Can be measured	Desirable Optional	NOT POSSIBLE
III: Portable Systems for Sleep Apnoea	Minimum: 4 2 Ventilation ECG, Sat O_2	Can be measured	Can be Recorded	NOT POSSIBLE
IV: Recording of one or two Bio-parameters	Minimum of one	Not Measured	Not Recorded	NOT POSSIBLE

EEG: Electroencephalogram; EOG: Electro-oculogram, EMG: Electromyogram; ECG: Electrocardiogram; Sat O_2: Oxygen Saturation.

In 1998, the Agency for Health Care Policy and Research in the United States (AHCPR)[12, 13], carried out a meta-analysis of the procedures used for the diagnosis of SAHS, by reviewing the literature from 1980 to 1997. In an evaluation of portable equipment potentially useful for home diagnosis, 25 validated studies were included, the majority of them analysed their results in sleep laboratories and their sensitivities and specificities varied between 33%-100%. This variability of results did not allow conclusions to be drawn.

More recently, a new systematic review of the literature was carried out [14], in which three scientific societies, the American College of Chest Physicians (ACCP), The American Thoracic Society (ATS), and The American Academy of Sleep Medicine (AASM), tried to establish guidelines for the use of portable systems for the diagnosis of SAHS [15]:

1.- Level II, Unsupervised PSG: There is no data available to recommend the its use in daily clinical practice, there being a limited number of published studies.

2.-Level III, Portable sleep apnoea systems or Respiratory Polygraphy: There is evidence to accept its use in the sleep laboratory, both to confirm and rule out SAHS.

3.- Level IV, Continuous recording of one or two bio-parameters: They are not recommended for routine use in sleep laboratories or in unsupervised situations.

The four levels of diagnostic monitorization are showed in Table 1.

B.- HOME DIAGNOSIS OF SAHS STRATEGY

A series of questions are essential at the time of approaching the diagnosis of SAHS: Which test to use?, What implications will the results of the test have on the risks and clinically important consequences of SAHS?, What to do in the case of a negative result?, What to do in the case of patients diagnosed with SAHS using RP and starting treatment with CPAP, which might have a poor response to treatment?

From the studies carried out to date, what does seem clear and there is agreement as regards the home diagnosis of SAHS, is:

1.-The use of Level II and Level IV systems is not recommended
2.- Home diagnosis is centred on Level III systems.

B.1.- ADVANTAGES OF RESPIRATORY POLYGRAPHY:

1.- The systems are more straightforward than PSG, and therefore, they could increase accessibility to diagnosis.
2.- The polygraphs are, in general, cheaper than polysomnographs.
3.- They could be used in the home, thus avoiding a strange environment such as hospital and being away from their normal surroundings.

B.2.- LIMITATIONS OF RESPIRATORY POLYGRAPHY

1.- Validation studies of RP have largely been carried out in sleep laboratories, and not in the patient's home.

2.- Heterogeneity of the systems available: The polygraph systems available use different measuring systems. Therefore, a consensus would be needed as regards the parameters to measure, channels necessary, and measurement methods.

3.- These systems do not allow the recording of sleep.

4.- With RP, the RDI (the respiratory disturbance index) is calculated depending on the total time of the study and not the total sleep time, as this can underestimate SAHS.

5.- If a patient has a clinical picture highly suggestive of SAHS and the RP study is negative or inconclusive, a PSG will have to be carried out.

B.3.- HOME STUDIES:
There are few validation studies of RP carried out in the home (HRP), the majority having a limited number of patients and with level IV systems, as shown in the review carried out by ATS, ACCP and AASM[14]. In this respect, our group carried out a validation study of a RP system compared with PSG[16], whose aim was to evaluate the diagnostic usefulness of RP carried out in the home, as well as the costs derived from it. Forty five patients suspected of having SAHS were studied. The correlation between the RDI (respiratory disturbance index in RP) and the AHI (Apnoea/Hypopnoea index in PSG) was r= 0.727 and the sensitivity and specificity values for the diagnosis of SAHS are shown in Table 2.

TABLE 2: POINTS SELECTED ON THE ROC CURVE

	Cut-off point	RDI	Effectiveness (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	VPP (%)	VPN (%)
AHI ≥ 10	Effective FP=FN=1	11.6	82.2	71.4	91.7	88.2	78.6
	Sensitive FP=FN=1	7.2	71.1	90.5	54.2	63.3	86.7
	Specific FP=FN=1	13.70	80	61.9	95.8	92.9	74.2
	Effective FP=2; FN=1	13.70	80	61.9	95.8	92.9	74.2
AHI ≥ 10 + Epworth ≥10	Effective FP=FN=1	13.70	79.5	60.0	95.8	92.3	74.2

AHI: Apnoea/Hypopnoea index per hour of sleep on polysomnograph.
RDI: Respiratory disturbance index, events per hour of study in a home respiratory polygraphy.
PPV: Positive Predictive Value; NPV: Negative Predictive Value
FP: False Positive; FN: False Negative

With values of RDI obtained in the ROC curve, the pre-test and post-test probabilities were calculated, the post-test probability of a negative result being (RDI < 7.2), 13.60% and the post-test probability of a positive result (RDI ≥ 13,70) 92,86%. In our area, the performing of a home PR in a patient suspected of having SAHS, assumes a saving of 32.34□compared with carrying out a PSG, even when a PSG may have to carried out on doubtful home RP (HRP), repeating non-valid HRP and assuming the additional costs of false positives treated with CPAP. Therefore, RP can currently be considered as a technique for the diagnosis of SAHS in the home[17], taking into account the following set of considerations[18]:

1.- The use of RP in the home (HRP) should be individualised to the needs of each Sleep Unit[19].
2.- Careful selection of patients is required.
3.- Doubtful or negative HRP in patients highly suspected of SAHS require the carrying out of a PSG.
4.- HRP does not increase costs and using it as a routine protocol, can be cheaper than performing PSG on all patients suspected of having SAHS.
5.- RP carried out in the patient's home will improve access to a diagnosis and thus decrease waiting lists.
6.- Given that it is a non-supervised technique and does not allow the recording of neurophysiological variables, it is recommended that the patients fill in a sleep diary, in which it should indicate, the approximate hour they went to sleep and woke up, and the subjective perception of the quantity and quality of the sleep.
7.- For those centres who might only have RP available, they should establish a suitable level of coordination with units who have PSG available.

Population suitable for home studies:

1.- Patients with a low probability of SAHS and without cardiovascular risk factors, in those with a negative HRP as it enables ruling out the existence of SAHS.
2.- Patients with a high probability of SAHS, in those with a positive HRP it enables confirming the existence of SAHS and the establishing of suitable treatment.
Figure 2 shows an algorithm for the home diagnosis of SAHS.

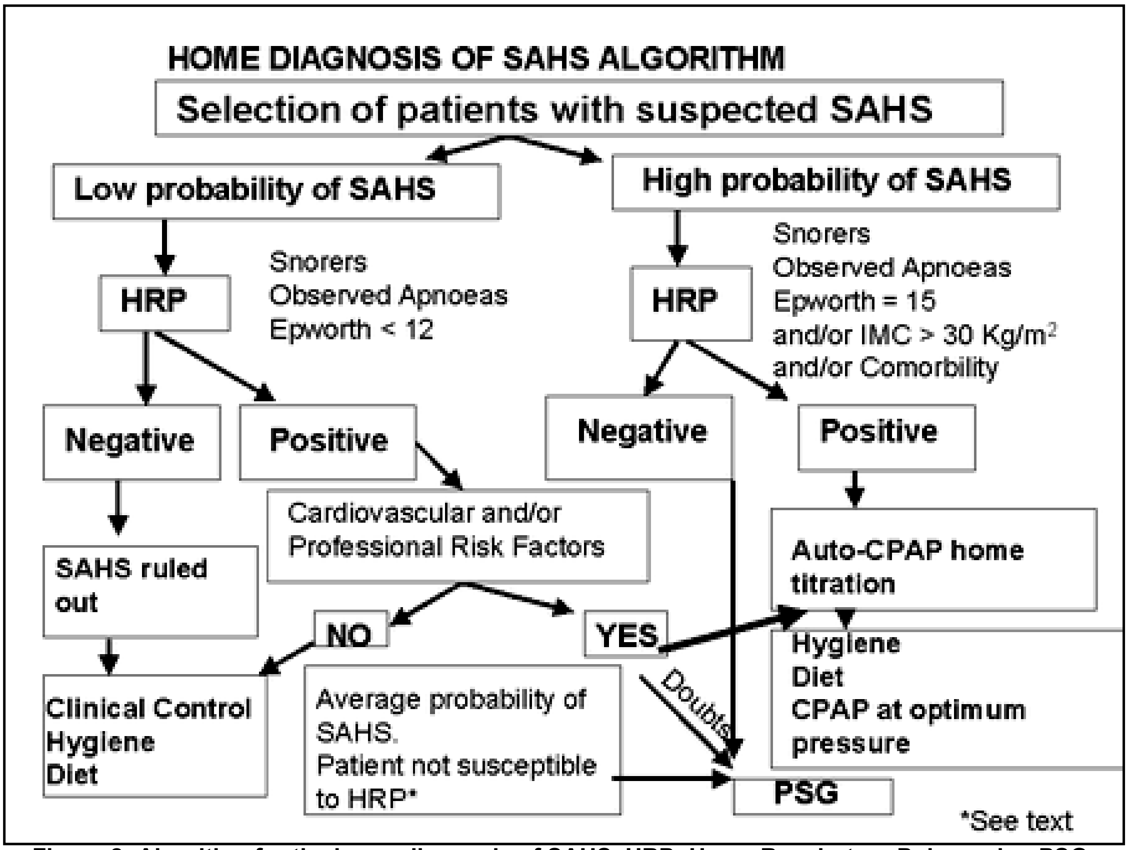


Figure 2: Algorithm for the home diagnosis of SAHS. HRP: Home Respiratory Polygraphy; PSG: Nocturnal Polysomnograph; BMI; Body mass index; CPAP: Continuous Positive Airway Pressure.

Population not suitable for home studies:

1.- Patients with symptoms suggestive of other, non-SAHS, sleep disorders.
2.- Patients with insomnia.
3.- Shift workers.
4.- Patients with anxiety-depressive syndromes.
5.- Patients with significant comorbility.

6.- Patients with an intermediate probability of suffering from SAHS, in whom a HRP could be doubtful and a PSG would need to be carried out.

3.- HOME TREATMENT OF SAHS

3.1.- RECOMMENDATIONS FOR THE TREATMENT OF SAHS In 1998 the Spanish Respiratory Disease Society (SEPAR) published some recommendations for the treatment of SAHS [20], (Figure 3):

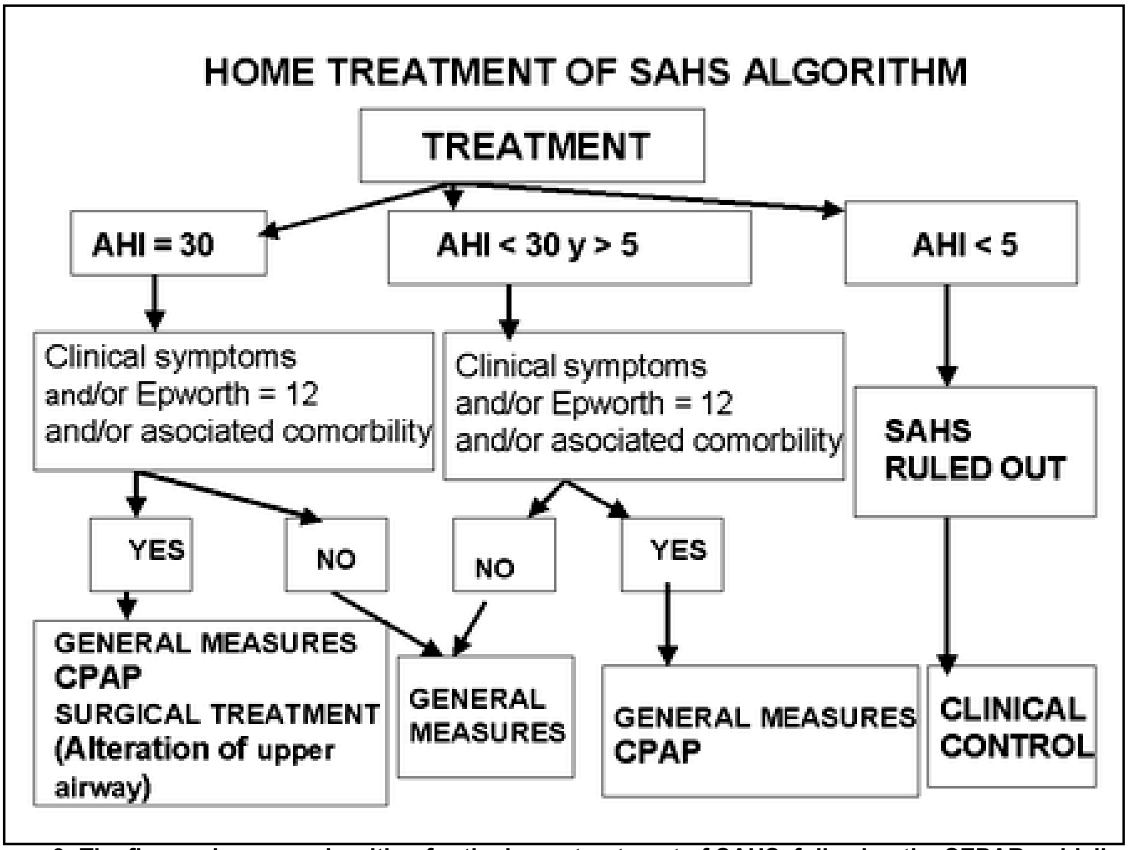


Figure 3: The figure shows an algorithm for the home treatment of SAHS, following the SEPAR guidelines.

3.2.- TYPES OF TREATMENT

The aim of SAHS treatment is the improvement or disappearance of the clinical symptoms and the correction of the physiopathological changes, that is to say, the disappearance of apnoeas and hypopnoeas; effective treatments being those which improve the permeability of the upper airways. There should be a multidisciplinary approach to the treatment of SAHS and this can be divided into the following sections:

1.- GENERAL MEASURES

The aim of treatment with general measures would be the elimination of the predisposing factors which trigger off or worsen the malfunction of the upper airway during sleep[21]: Avoid obesity, alcohol, the decubitus supine position [22] whilst sleeping, drugs which might increase upper airway malfunction, such as benzodiazepines[23] and narcotics, and maintain a reasonably healthy sleep routine.

2.- PHARMACOLOGICAL TREATMENT:

More than 100 drugs for the treatment of SAHS have been studied, with limited results[24], therefore up to this moment they do not constitute an effective therapeutic alternative.

3.- MANDIBULAR ADVANCEMENT DEVICES (MAD):

The aim of treatment with intra-oral devices should be the improvement of the snoring of SAHS or otherwise, by means of performing one or more of the following functions [25]: Modifying the position of the upper airway structures, widening the upper airway and/or helping to prevent the upper airway from collapsing.

The ASDA consider them as a valid alternative[25], first choice in: Simple snoring, patients with mild SAHS, patients with mild-moderate SAHS with a low body mass index and patients with Upper Airway Resistance Syndrome (UARS).

Being an alternative second choice in:
a.- Patients who do not respond to or refuse CPAP.
b.- Patients with a high surgical risk.
c.- Patients with a low response to surgical treatment.

4.- SURGICAL TREATMENT

The surgical techniques currently applied can be summarised as:

4.1.- Content reduction surgery: Nasal surgery, palate-pharyngeal surgery and tongue surgery.

4.2.- Widening of contents surgery: Maxillofacial surgery
They are aggressive surgical techniques and are generally reserved for failures of treatment with CPAP or patients who refuse it from the start.

4.3.- Tracheostomy: Is reserved for emergency situations in patients with severe SAHS and as preventive treatment in patients at risk who are going to be subjected to other surgical treatments, with the aim of decreasing peri-operative risks.

5.- CONTINUOUS POSITIVE AIRWAY PRESSURE (CPAP):

The use of continuous positive pressure on the upper airway, CPAP, is the treatment of choice for SAHS. It was developed by Sullivan in 1981 and consists of a pump which applies a predetermined pressure through a nasal mask fitted with a harness and adapted to the patient's face. The system generates a constant flow and applies a pressure to the upper airway, preventing its static (apnoea) as well as its dynamic (hypopnoea) collapse during sleep. For this reason it is seen as a mechanical action.

CPAP corrects obstructive, mixed, and occasionally central apnoeas, eliminates hypopnoea and suppresses snoring. It prevents oxygen desaturation, secondary electroencephalographic awakenings (arousal) and normalises the architecture of sleep. CPAP brings about a remission of the symptoms of SAHS, decreases or eliminates pathological daytime sleepiness, causes a recovery in the attention capacity and improves the quality of life. Treatment with CPAP also reduces the risk of traffic accidents in patients with SAHS and it appears to lower the blood pressure in a high percentage of hypertensive patients with SAHS, and it is even attributed to playing a certain role in the treatment of cardiac failure[17].

CPAP is not a curative treatment, which implies that its application has to be continuous.

5.A.- Secondary effects of CPAP:

The appearance of secondary effects is common during the first weeks of CPAP use. They are generally mild, transient and with a good response to local measures. The most frequent are: nasal congestion and/or obstruction, skin irritation, pharyngeal dryness, noise, conjunctivitis, headaches, epistaxis, cold, insomnia, aerophagia, claustrophobia.

5.B.- Adjustment to the optimum CPAP pressure or CPAP titration: Each patient requires a determined CPAP pressure which must be adjusted to the needs of the individual. There are several ways of adjusting the level of CPAP for each patient:

1.- Adjustment of CPAP level by means of conventional PSG in the laboratory: Two studies need to be carried out, one diagnostic and the other for the CPAP pressure titration.

2.- Adjustment of CPAP level by means of the Split-Night procedure. In the Split-Night method, the diagnosis has to be made in the first part of the night and the adjustment of the CPAP pressure in the second part, thus there is a saving of one sleep study 26.

3.- Adjustment to optimum CPAP pressure by means of Auto-CPAP systems: There are several auto-CPAP systems, the most accepted being those which modify the pressure depending on the inspiratory flow wave. They provide an individualised pressure, which is adapted to the needs of the patient, with the aim of suppressing respiratory events. They contain a pneumotachograph and a pressure transducer which enables the pressure, flow, volumes and system leaks to be recorded. Other auto-CPAP systems respond to the presence of snoring using algorithms based on its frequency.

The most significant characteristic of auto-CPAPs, is that these systems can be used for the adjustment of the CPAP pressure to optimum level in the patient's home. Masa et al[27] carried out a multicentre, randomised parallel group study in 360 patients with SAHS, candidates for treatment with CPAP, with a mean AHI of 60. In this study the results on the adjustment to the optimum CPAP pressure using PSG, an automatic auto-CPAP system or with a mathematical formula were not statistically significant.

4.- Adjustment to optimum CPAP pressure by means of Respiratory Polygraphy: The American Academy of Sleep Medicine does not advise this option and with the introduction of auto-CPAP has practically ruled it out for adjusting the CPAP level.

6.- TREATMENT OF SAHS WITH AUTO-CPAP

Taking into account that conventional CPAP systems supply a fixed pressure all night and every night, these systems attempt to adapt to the needs of each night. However, in a recently published meta-analysis,[28]) whose aim was to compare the effectiveness of auto-CPAP with CPAP, it only showed a reduction in mean pressure of 2.2 cm of H_2O.The compliance to treatment, the improvement in daytime sleepiness and the elimination of respiratory events were similar in fixed CPAP and auto-CPAP, therefore, it cannot be considered that continuous treatment of a patient with SAHS should be carried out with auto-CPAP, except in a particular sub-group who do not tolerate CPAP at a fixed pressure.

ACKNOWLEDGEMENTS: This work was partially financed by grant FIS 00/0110 (Fondo de Investigación Sanitaria – Ministerio de Sanidad) and cofinanced by the European Union (FEDER funds).

REFERENCES:

1.- Guilleminault C, Dement WC. Sleep apnea syndromes. KROC Foundation Series, Nueva York: Alan R Liss Inc; 1978: 11

2.- Strollo PJ, Rogers RM. Obstructive Sleep Apnea. N Engl J Med 1996; 334: 99 – 104.

3.- Andrew L, Chesson JR, Richard A et al. American Sleep Disorders Association Review. The indications for Polysomnography and Related Procedures. Sleep 1997; 20(6): 423 – 487. Medline

4.- The report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep Related Breathing Disorders in adults: Recommendations for Syndrome Definition and Measurement Techniques in Clinical Research. Sleep 1999; 22(5): 667 – 689. Medline

5.- Phillipson EA. Sleep Apnea. A major public health problem. N Engl J Med 1993; 328: (17): 1271 – 1273. Texto completo

6.- Ohayon MM, Guilleminault C, Priest RG et al.Snoring and breathing pauses during sleep: Telephone interview survey of a United Kingdom population sample. BMJ 1997; 314: 860 – 863. Texto completo

7.- Terán Santos J, Fernández García C, Cordero Guevara J. Situación en España de los recursos diagnósticos y de los tratamientos con presión positiva continua sobre la vía aérea en el Síndrome de Apneas – Hipopneas obstructivas del sueño. Arch Bronconeumol 2000; 36: 494 – 499. Texto completo

8.- Young T, Evans L, Finn L et al. Estimation of the clinically diagnosed proportion of Sleep Apnea Syndrome in Middle-aged men and women. Sleep 1997; 20(9): 705 – 706. Medline

9.- Durán-Cantolla J, Mar J, De la Torre G et al. El síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño (SAHS) en España. Disponibilidad de recursos para su diagnóstico y tratamiento en los hospitales del estado español. Arch Bronconeumol 2004; 40: 259 – 267.

10.- Durán J, Amilibia J, Barbe F et al. Disponibilidad de recursos técnicos para el diagnóstico y tratamiento del síndrome de apnea obstructiva del sueño en los hospitales de la red pública del estado. Arch Bronconeumol 1995; 31: 463 – 469.

11.- Ferber R, Millman R, Coppola M et al. Portable recording in the assessment of obstructive sleep apnea. Sleep 1994; 17(4): 378 -392. Texto completo (Reprinted in Practice Parameter)

12.- Ross SD, Allen IE, Harrison KJ, et al. Systematic review of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea: evidence report/technology assessment. AHRQ Evidence Reports, Numbers 1. Agency for Health Care Policy and Research. Rockville, MD. February 1999. Texto completo

13.- Ross SD, Sheinhait IA, Harrison KJ, et al. Systematic review and meta-analysis of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea. Sleep 2000; 23: 519 -532. Medline

14.- Flemons WW, Littner MR, Rowley JA, et al. Home Diagnosis of Sleep Apnea: A systematic review of the literature. Chest 2003; 124: 1543 – 1579. Texto completo

15.- ATS/ACCP/AASM Taskforce Steering Committee. Executive summary on the systematic review and practice parameters for portable monitoring in the investigation of suspected sleep apnea in adults. Am J Respir Crit Care Med 2004;169:1160-1163. Texto completo

16.- Alonso Álvarez ML. Evaluación de la Utilidad diagnóstica de la Poligrafía Cardiorrespiratoria Domiciliaria en el Diagnóstico del Síndrome de Apneas/Hipopneas del sueño. Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid, 2002.

17.- Duran Cantolla J (coordinador) y Grupo Español de Sueño (GES). Documento de Consenso Nacional sobre el Síndrome de apneas-hipopneas del sueño. Arch Bronconeumol 2005; 41 (Extr 4): 30 - 80. Texto completo

18.- Douglas NJ. Home diagnosis of the obstructive sleep apnoea/Hypopnoea syndrome. Sleep Medicine Reviews 2003;7(1):53-59. Texto completo

19.- Terán Santos J, Alonso Álvarez ML, Rodríguez Pascual L et al. Organización y utilidad de una estrategia diagnóstica en el síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS). Papel de los estudios domiciliarios. Arch Bronconeumol 2000; 36 (3): 54 – 57

20.- Montserrat JM, Amilibia J, Barbé F, et al. Recomendaciones SEPAR: tratamiento del síndrome de las apneas-hipopneas durante el sueño. Arch Bronconeumol 1998; 34: 204 – 206 Medline

21.- Montserrat JM, Ballester E, Hernandez L, et al. Overview of management options for snoring and sleep apnoea. Eur Respir Mon 1998; 10: 144 – 178

22.- Cartwright R, Ristanovic R, Diaz F, et al. A comparative study of treatments for positional sleep apnea. Sleep 1991; 14: 546 – 552. Medline

23.- Dolly FR, Block AJ. Effects of flurazepam on sleep-disordered breathing and nocturnal oxygen desaturation in asymptomatic subjects. Am J Med 1982; 73: 239-243. Medline

24.- Grunstein RR, Hedner J, Grote L. Treatment options for sleep apnea. Drugs 2001; 61: 237-251. Medline

25.- American Sleep Disorders Association. Practice Parameters for the treatment of snoring and obstructive sleep apnea with oral appliances. Sleep 1995; 18:511-513. Medline

26.- Alonso Álvarez ML, Fernández Martínez de Septiem C, Alonso Mediavilla C, et al. Validación de estudios polisomnográficos de mitad de noche en el Síndrome de Apneas/Hipopneas durante el sueño. Arch Bronconeumol 2000; 36: 180-185. Texto completo

27.- Masa JF, Jiménez A, Durán J, et al.Alternative Methods of titrating continuous positive airway pressure. A large multicenter study. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 1218-1224. Texto completo

28.- Ayas NT, Patel SR, Malhotra A, et al. Auto-Titrating versus Standard continuous positive airway pressure for the treatment of obstructive sleep apnea: Results of a Meta-analysis. Sleep 2004; 27:249-253. Medline

29.- Marín JM, Carrizo SJ, Vicente E, et al. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational Study. Lancet 2005; 365:1046-53. Medline

30.- Gami AS, Howard DE, Olson EJ, et al. Day-Night pattern of sudden death in obstructive sleep apnea. N Engl J Med 2005; 352:1206-14 Texto completo

Todas las direcciones electrónicas, han sido vistas el 29 de diciembre de 2005

Comment of the Reviewer Ramon Diaz Alersi MD. Hospital Puerto Real. Cádiz. España

OSAHS is a public health problem. Its prevalence in Spain is estimated to be from 4-6% in men and from 1-2% in women. It has the highest morbidity-mortality among all sleep disorders. Its most noticeable characteristic is extreme daytime sleepiness, but it also gives rise to cognitive changes and memory loss, social problems and mood changes, which together can cause social and work problems for the person affected. Also excessive sleepiness frequently causes problems with driving, leading to these patients being involved in road traffic accidents three times more often than the normal population.

SAHS is also becoming increasingly related to other diseases, particularly cardiovascular. SAHS is often associated with hypertension, (although also with obesity, therefore it is not easy to establish a cause-effect relationship), an increased risk of stroke, ischaemic heart disease, right heart failure and pulmonary hypertension. It can also cause a deterioration in left heart failure. Lately, it has also been associated with type 2 diabetes and insulin resistance. OSAHS has also been related with poor medication control of high blood pressure.

For these reasons, improved diagnosis and treatment of this syndrome is required, as it is still currently under-diagnosed and under-treated. This article reviews the different diagnostic methods, paying special attention to the most straightforward technologies, which are those which can applied to the greatest number of patients. Treatment is also reviewed, in constant change in the last few years, particularly in surgery and ventilator support. The former is becoming more accessible owing to minimally invasive techniques and outpatient surgery. The latter is benefiting from a constant feedback of equipment designed for non-invasive mechanical ventilation, destined for other respiratory diseases, and which are increasingly more sophisticated and personalised.

Comment of the Reviewer Jorge Rey de Castro, MD. Clínica Anglo Americana. Profesor Principal Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Perú.

.- The practical needs, the advances in technology and control of costs in the diagnosis of Sleep Apnoea/Hypopnoea Syndrome (SAHS) in recent years has inevitably led to simplifying orthodox procedures with the aim of achieving higher output without sacrificing work quality. In this sense, the concept of simplifying a test considered as the gold standard in sleep medicine has been crucial in the last few years. However, conventional polysomnography has gained this honoured position despite being a complex and expensive test.

As regards this subject, and from our point of view, there are two well defined clinical schools of thought. On the one hand the inflexible Anglo-Saxon position expressly represented by the American Academy of Sleep Medicine, cited in the literature references 11 to 15 by Alonso Alvarez et al in the article which is been commented on here. In this case polysomnography represents the procedure of choice in clinical practice for establishing a suitable diagnosis, clearly underestimating the Level III, also called screening, tests. On the other hand, the Spanish school, specifically represented by pneumonolgists and the Spanish Society of Pneumonology and Thoracic Surgery (SEPAR), who are interested in the validation of simplified diagnostic equipment and their implementation following algorithms as proposed in the article by the group of investigators from the Yagüe General Hospital in Burgos. These schools of thought have been developed under totally different contexts. We specifically look at health budgets and safety cover with substantially different realities. This makes the difference.

In the case of the less developed countries- where I work- where the budgetary restrictions are even greater than the choice of an economic technology, it is crucial. In that sense, there is little point in trying to follow a diagnostic sequence with burdensome technology if the economic means are not available to implement it, when, on the other hand, it is possible to establish with thoroughness, the nature of the disease in a patient using cheaper instruments and procedures.

The publication by the Burgos group has that merit. An algorithm is set out which sequentially establishes or rejects the diagnosis using respiratory polygraph equipment set up in the home. There is no doubt that the group in question have experience in the subject, they suitably select the patient according to the clinical aspects and finally they have quantified, through validation comparing polysomnography, the performance of the equipment used on patients with a high and low possibility of having SAHS.

To use simplified equipment for the diagnosis of SAHS, each sleep centre, ideally, should make their own measurements with their target population, this improves the system and protects the patient from diagnostic errors. The publication by Alonso Alvarez et al, in that sense is an important contribution in the area of sleep breathing disorders. _

*** Correspondence:**
Dra. María Luz Alonso Álvarez
Unidad de Trastornos Respiratorios del Sueño
Hospital General Yagüe
Avda. del Cid 96
09005 Burgos. España
Email: mlalonso @ hgy.es

Received January 18, 2006.
Published in Spanish February 2, 2006.
Published in English February 18, 2006

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific Committee

Normas para los autores
Instruction to Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:

ESTUDIO DE MARCADORES BIOLOGICOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

A. San Miguel, M.J. Rodríguez-Barbero, R. San Miguel, N. Alonso, B. Calvo, FJ Martín-Gil.

Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Rio Hortega. Valladolid. España

asanmiguel @ hispavista.com

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:88-99

Comentario del Revisor José María Trejo Gabriel y Galán MD. PhD.. Jefe de S. de Neurología. Hospital General Yagüe. Burgos. España

Comentario del Revisor Pilar Calmarza Calmarza. PhD. Bioquímica. Miguel Servet. Zaragoza. España.

SUMMARY: STUDY OF BIOCHEMICAL MARKERS OF ALZHEIMER'S DISEASE.
Alzheimer´ disease (AD) affects in the World up to 25 million people and it is the most common form of dementia among older people in the Western countries. The disease usually begins after age 60, and risk goes up with age. AD can be classified as of early beginning, if it appears before the 60-65 years and of late beginning, if it appears later.

In this report, the main biological parameters in Alzheimer´disease are studied to try to differentiate it from other degenerative diseases, since its early diagnosis is of great importance.

The gene Apo E is located in the human chromosome 19 and it contains 4 exons that codes for the 299-amino acid protein named Apolipoprotein (apo) E, that is genetically polymorphic. There are three common codominant alleles, designated E2 (with a protective effect against AD), E3 (the more prevalent isoform) and E4 (which constitutes a major risk factor for AD) whose genetic basis lies within codons 112 and 158 of the gene. The three common apo E alleles lead to six common phenotypes, three homozigotes (apo E2/2, E3/3 and E4/4) and three heterozigotes (apo E3/2, E4/3 and E4/2), all originally disclosed by isoelectric focusing and immunoblotting.

As the tau it is a protein intracelular, low CSF levels can be expected. Nevertheless and by the reasons given in above paragraph, tau levels were increased in AD patients in comparison with healthy controls, especially in those having one or two Apo E4 alleles. Therefore, the test based on the quantitative determination of tau proteins in the CSF is of great help in the diagnosis of AD.

At the present time, phospho-tau is the best marker. However, it is not sensitive and specific enough to detect all the cases of AD. Therefore, the combination of Ab-42, phospho-tau and tau levels in CSF can be used as a help to confirm or exclude AD.

Key words: Alzheimer´s disease, biological markers, apolipoprotein E, apo E4, beta-amiloide, *tau*-protein

RESUMEN:
La enfermedad de Alzheimer afecta en el mundo a unas 25 millones de personas, siendo la causa mas frecuente de demencia en los paises occidentales. Su prevalencia va en aumento, debido al envejecimiento de la población. Por la edad de aparición la EA se puede clasificar en presenil ó de inicio temprano si aparece antes de los 60-65 años y senil o de inicio tardio si aparece después.

En esta revisión se estudian los principales parámetros biológicos a utilizar en la enfermedad de Alzheimer e intentar diferenciarla de otras patologías degenerativas, ya que el diagnostico precoz de la EA es de gran importancia.

El gen Apo E esta localizado en el cromosoma humano 19 y contiene 4 exones que codifica la apolipoproteina E de 299 aminoácidos. Las tres isoenzimas de la Apo E son la Apo E2, E3 y E4 y son productos de los tres alelos de cada locus génico. Tres fenotipos homozigoticos (apo E2/2, E3/3 y E4/4) y tres heterizigóticos (apo E3/2, E4/3 y E4/2) resultan de la expresión de cada uno de los tres alelos. La sustitución de los aminoácidos en los codones 112 y 158 conllevan a las diferencias entre apo E2, E3 y E4.

Como la *tau* se trata de una proteína intracelular el nivel hallado en LCR es bajo. El desarrollo de una elevada afinidad por los anticuerpos monoclonales altamente específicos para la tau ha conducido al desarrollo de test para la detección de la tau en LCR y un número elevado de pacientes con Alhzeimer y controles han mostrado una elevada expresión de la tau en las células neuronales afectadas. Además los test basados en la determinación cuantitativa de la proteína tau en el LCR puede ser de gran ayuda en el diagnóstico de la EA.

En la actualidad, el marcador en LCR que muestra mayor especificidad es fosfo-tau. No obstante la determinación conjunta de los tres marcadores tau, fosfo-tau y AB42 en LCR, aumenta la especificidad y sensibilidad respecto a su utilización individual.

Palabras Clave: Enfermedad de Alzheimer, demencia, marcadores biológicos, apolipoproteína E, apo E4, beta-amiloide, proteína tau.

INTRODUCCION

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa del SNC, asociada con una perdida de memoria progresiva que resulta en la demencia. Las dos características patológicas se observan en pacientes con EA en la autopsia: placas extracelulares y ovillos intracelulares en el hipocampo, cortex cerebral y otras áreas del cerebro esenciales para la función cognitiva.

La enfermedad de Alzheimer (EA) afecta en el mundo a unos 25 millones de personas, siendo la causa mas frecuente de demencia en los países occidentales. Su prevalencia va en aumento, debido al envejecimiento de la población, alcanzando en la actualidad cifras del 47% en personas de edad superior a los 85 años[1].

Constituye la tercera enfermedad en casos económicos y sociales, sólo precedida por la cardiopatía isquémica y el cáncer. Es la cuarta causa de muerte en los países desarrollados tan sólo precedida por la cardiopatía, tumores e infarto cerebral[2].

Atendiendo a la edad de aparición la EA se puede clasificar en presenil ó de inicio temprano si aparece antes de los 60-65 años y senil o de inicio tardio si aparece después. De acuerdo a si existen ó no antecedentes familiares de la enfermedad se clasifica en EA familiar ó esporádica[3].

El curso natural de la enfermedad es paralelo a los procesos neuropatológicos de perdida de neuronas y sinapsis, angiopatía amiloidea, placa senil, cambio neurofibrilar de Alzheimer, etc, los cuales suceden antes de que se muestre el deterioro cognitivo de la enfermedad[4]. El retraso en el reconocimiento de los síntomas iniciales, unido al hecho de confusión diagnóstica con síntomas de envejecimiento, hace que el diagnostico precoz de la EA adquiera gran importancia. Para la aplicación de estrategias terapéuticas enfocadas a la prevención y al retraso de la evolución de EA, la búsqueda de marcadores biológicos potenciales para el diagnóstico precoz es fundamental.

Las placas están formadas mayoritariamente de la deposición de amiloide beta (AB) un péptido derivado de una proteína precursora amiloide (APP). Los ovillos filamentosos estan formados de filamentos helicoides apareados compuestos de neurofilamentos y proteína tau hiperfosforilada, una proteína asociada al microtúbulo. No está claro, sin embargo, si estos dos cambios patológicos son los marcadores o las causas de la EA. La EA esporádica de aparición tardía tiene una patología idéntica virtualmente a la EA familiar de aparición tempranas (FAD), lo cual sugiere por tanto un camino patológico común en ambas formas de la EA. En los estudios genéticos se han revelado 3 genes que pueden estar relacionados con formas autosómicas dominantes o EA de aparición temprana familiar (FAD). Estos genes incluyen: proteína precursora amiloide (APP), presenilina 1 (PS1), presenilina 2 (PS2) y apolipoproteína E (Apo E), pues la Apo E no origina EA por transmisión mendeliana dominante sino que aumenta la susceptibilidad y anticipa la edad de aparición. Todas las mutaciones asociadas con proteínas APP y PS pueden conducir a un aumento en la producción de péptidos AB, específicamente las formas más amiloidogenas, AB42. Además de los factores genéticos que influyen en la formación de la placa amiloide y de los ovillos intracelulares, los factores ambientales (por ejemplo citoquinas, neurotoxinas, etc) pueden también jugar importantes papeles en el desarrollo y progresión de la EA (Figura 1).

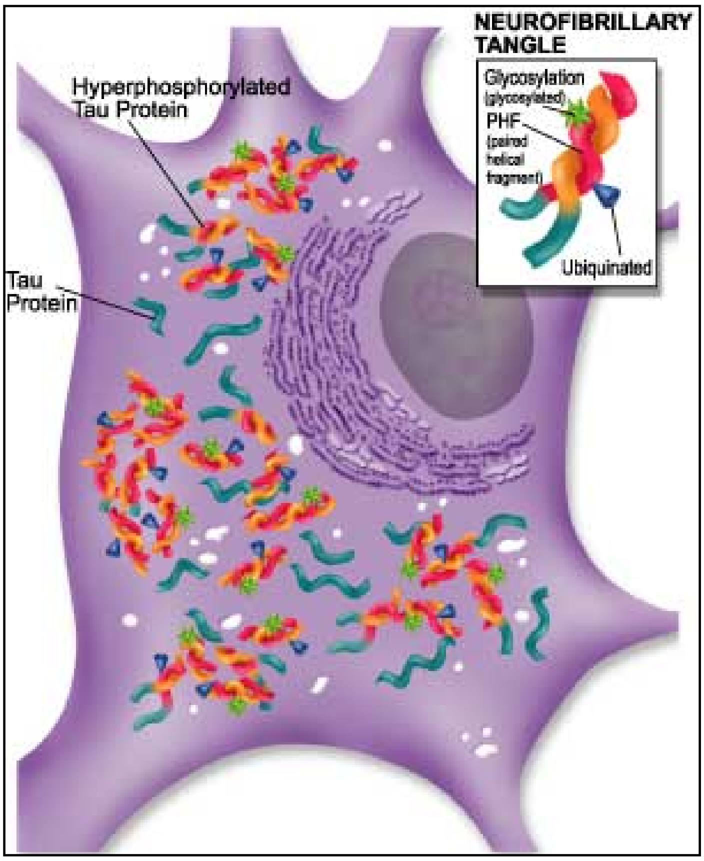


Fig 1.- Ovillos intracelulares encontrados dentro de neuronas del cerebro de las regiones esenciales para la función cognitiva son una de las caracteristicas patológicas asociadas a EA. (www.rndsystem.com). (Los ovillos filamentosos se forman de fragmentos helicoidales apareados (PHF) compuestos de neurofilamento y proteína tau hiperfosforilada. La polimerización de proteína tau hiperfosforilada conduce a la formación de PHF. El PHF puede también ser modificado por la glicosilación y ubiquitación).

MARCADORES GENETICOS. GENES ASOCIADOS O IMPLICADOS EN EA

A pesar de que la EA se desarrolla mayoritariamente en personas mayores de 60 años y de forma esporádica, también existen manifestaciones precoces de la enfermedad y patrón de herencia mendeliano autosómico dominante[5].

El inicio temprano de la enfermedad se relaciona con tres genes: el precursor de la proteína amiloide (APP) en el cromosoma 21, el gen presenelina-1 (Ps-1) en el cromosoma 14 y el gen presenilina 2 (PS-2) en el cromosoma 1[6].

No existen estudios epidemiológicos al respecto, pero mutaciones en estos genes sólo parecen explicar la mitad de las EA de inicio temprano. Es probable que existan más genes implicados. Pruebas predictivas y de diagnóstico con estos genes en EA temprana podrían ser útiles en el diagnóstico y en el consejo genético a los familiares.

El inicio tardio de la enfermedad, se asocia mayoritariamente con el gen de la apolipoproteina E (apo E) en el cromosoma 19, el cual tiene tres alelos E2, E3 y E4[6]. La frecuencia de la variante E4 está aumentada en la EA de comienzo tardio tanto en sus forma esporádica como familiar[7]. La frecuencia de la variante E2 está disminuida[8, 9]. Como cada persona tiene dos alelos del gen pueden darse seis genotipos distintos E2/E2, E2/E3, E3/E3, E2/E4, E3/E4 y E4/E4. La presencia de apo E4 constituye un factor de riesgo para desarrollar la enfermedad y la presencia de apo E2 un factor protector. Sin embargo, existen muchas personas con EA que no tienen apo E4 y por el contrario personas con EA que con apoE4 no desarrollan la enfermedad.

La presencia del alelo E4/E4 se asocia con un comienzo más precóz de la enfermedad[10, 11]. La asociación entre EA y apo E4 se ha confirmado en diversos grupos étnicos[12]. Nos obstante, debido a que el gen apo E no es un gen determinístico sino un gen de susceptibilidad o factor de riesgo, su papel en la práctica clínica aún no está claramente determinado. Podría ser de interés la utilización como complementario a otras pruebas en el diagnostico de EA, pero no se aconseja para determinar si el indivíduo es un portador presintomático de la EA.

Estudios de ligamiento genético, apoyan la posible implicación de otros genes con EA, pero no existen confirmaciones claras. Entre ellos se puede señalar el gen de alfa-2 macroglobulina (A2M) que se relaciona con la EA a través de la degradación del amiloide beta (AB) que se deposita en las placas seniles[12, 13].

PROTEINA PRECURSORA AMILOIDE (APP)

La APP es una proteína de membrana integral, que ocurre en diferentes isoformas. Las isoformas comunes contienen 695 (APP695) 751(APP751) y 771 (APP771) aminoácidos respectivamente. Entre estas isoformas, APP695 es la principal isoforma y se expresa exclusivamente en neuronas. En contraste, APP 571 y APP770 se expresan en ambas células neuronales. La estructura primaria de APP, tiene una secuencia señal, una region N-terminal extramembranosa grande, un dominio transmembrana simple y una cola C-terminal citoplasmática de residuo de 47 aminoácidos. Las proteínas APP maduran en el reticulo endoplasmático y en el aparato de Golgi y exhiben modificaciones post-translacionales incluyendo fosforilación, glicosilación y sulfatación.

El clivaje proteolítico de APP resulta en la generación de péptidos AB de varias longitudes. Los péptidos AB son monómeros normalmente solubles que circulan a bajos niveles en el fluido cerebroespinal y sangre. En los cerebros de pacientes con EA, la formación de placas fibrilares insolubles se facilita por un aumento y acúmulo de péptidos AB. La forma predominante de péptidos AB encontrada dentro de medio de cultivo celular condicionado y fluido cerebroespinal es el péptido AB40 más corto. AB42, sin embargo, es la forma de péptido AB inicialmente depositado dentro de las placas extracelulares del paciente con EA. Esto puede ser explicado por lo siguiente. Todas las mutaciones relacionadas identificadas dentro de APP conduce a la producción aumentada de AB42. Adicionalmente, AB42 tiende a agregarse a una velocidad más rápida y a unas concentraciones más bajas que la forma AB40.

Tres proteasas, alfa-beta y gamma secretasas estan relacionadas con el clivaje. En la superficie celular, APP sufre proteolisis por una alfa-secretasa que cliva entre Lys687 y Leu688, por tanto dando lugar a un gran ectodominio (alfa-APP). El fragmento C-terminal (83 aa, aproximadamente de 10 KDa) es retenido dentro de la membrana celular. Este fragmento puede después ser clivado por una gamma-secretasa a residuos de aminoácidos 711 o 713 dentro del dominio transmembrana dando lugar al péptido p3. Alternativamente, la superficie celular no clivada APP puede ser internalizada por las vesículas recubiertas vía endocitosis en el dominio citoplasmático distal. El APP de longitud completa puede entonces ser conducido a los lisosomas y endosomas más tardios para degradación o transferidos a endosomas prematuros para la generación de péptidos AB. En los endosomas prematuros, APP es clivado por beta-secretasa después de Met 671, creando un fragmento C-terminal retenido en una membrana (99 aminoácidos, aproximadamente de 12 KDa). El clivaje por beta-secretasa exhibe secuencia de aminoácidos primaria relativamente rígida (por ejemplo entre Met 671 y Asp 672 de APP. En la superficie de la membrana el fragmento C-terminal de 12KDa puede después ser clivado por gamma secretasa dentro del dominio de la transmembrana hidrofóbica en Va711 ó Leu713, por tanto dando lugar a un péptido AB (por ejemplo AB40 y AB42).

La identificación y caracterización de las beta y gamma-secretasas han sido áreas importantes de foco en la investigación de la EA. Aunque varios candidatos a secretasa se han sugerido la beta-secretasa BACE es la única identificada y posee actividad beta-secretasa completa. El clonaje y expresión de la enzima revela que la secretasa beta de cerebro humano BACE es una proteinasa aspártica unida a una membrana. La gamma-secretasa no ha sido definitivamente identificada trodavía. Numerosos estudios, sin embargo, han relacionado gamma-secretasa y PS1 como la misma molécula enzimática o cofactores dentro del mismo complejo.

PRESENILINA-1 (PS1) Y PRESENILINA-2 (PS-2)

La PS1 y PS2 son proteínas de membrana integrales que contienen dominios transmembrana múltiples. La PS1 y PS2 tienen una estructura predefinida similar y comparten identidad de 67% de aminoácidos. Ambas proteínas son localizadas predominantemente dentro del reticulo endoplasmático (RE) y el aparato de Golgi temprano. Son expresadas principalmente en neuronas y se expresan ubicuamente dentro del cerebro. Las proteínas PS1 y PS2 endógenas son clivadas proteoliticamente para generar 2 polipéptidos. La proteína PS1 de 46 KDa es clivada para construir un fragmento N-terminal de 28 Kda (NTF) y un fragmento C-terminal de 18 KDa (CTF), mientras la proteína PS2 de 55 KDa es clivada para construir un NTF de 35 KDa y un CTF de 20 KDa. Las especies predominantes de ambas PS1 y PS2 observadas en ambas células de mamíferos cultivadas y cerebro son los fragmentos procesados. La PS1 de longitud completa se encuentra sólo en células transfectadas y el ratón transgenico que sobreexpresa PS1.

Las funciones exactas asociadas con PS no han sido totalmente caracterizadas hoy en día. El PS1 es requerido para la formación más propia del esqueleto axial y está implicada en la neurogénesis normal y supervivencia de células progenitoras y neuronas en regiones del cerebro específicas. Las proteínas PS también se han propuesto que funcionen en el control de la apoptosis. Como se mencionó previamente, PS1 está también envuelta en la actividad gamma-secretasa. Adicionalmente, la unión de proteínas PS a APP puede jugar un importante papel en inducir la señal intracelular.

La mayoría de los casos FAD de aparición temprana son causados por mutaciones dentro de los genes PS. Más de 40 mutaciones han sido descritos en el gen para PS1 que puede subsiguientemente resultar en FAD. Las mutaciones en ambos PS1 y PS2 son asociadas con una producción aumentada de péptido AB42 (Fig 2).

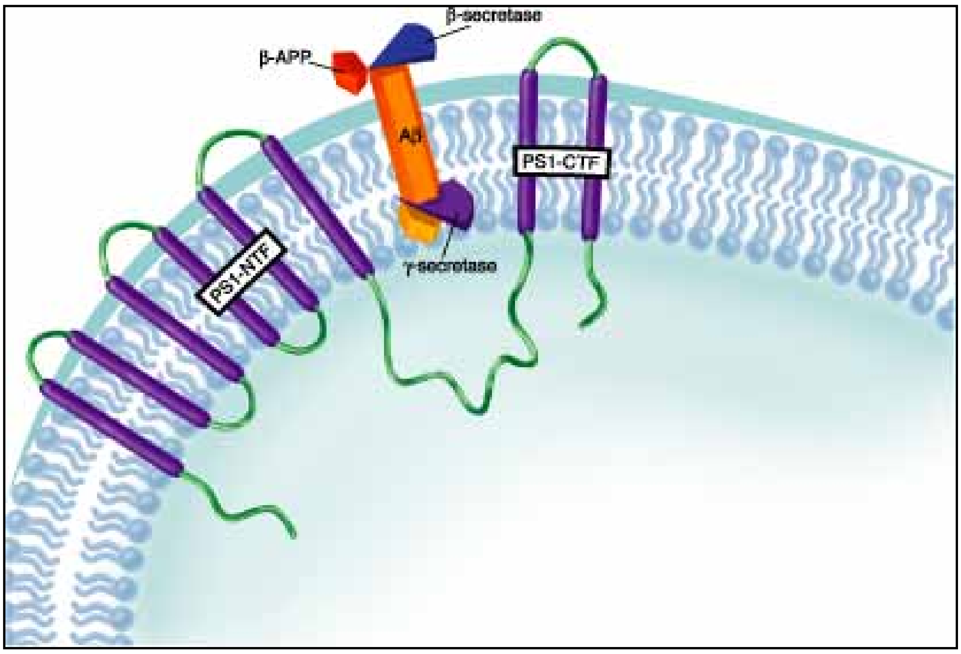


Figura 2.- La PS1 juega un papel en el clivaje de gamma-secretasa de APP (proteína precursora amiloide). BACE/beta-secretasa (azul) cliva la proteína precursora APP después de Met671, creando un feragmento C-terminal retenido en membrana. Este fragmento puede ser después clivado por gamma-secretasa (purpura) dentro del dominio de la transmembrana hidrofóbica para liberar AB. La PS1 es una proteína de membrana integral con dominios transmembrana múltiples que han sido asociados con actividad gamma-secretasa. Se necesita más investigación en orden a determinar si la PS1 puede regular directamente la actividad gamma-secretasa como un cofactor dentro de un complejo de proteína o servir como la actual proteasa por si misma (www.rndsystem.com)

La AB42, la forma más amiloidogénica de AB, puede agregarse para formar placas amiloides difusas y neuríticas, sugiriendo que la influencia de proteínas PS en la producción de AB42 puede ser un acontecimiento inicial para el desarrollo de EA. Las mutaciones en el gen PS1 pueden también facilitar la apoptosis neuronal por desestabilización de la beta-catenina (por ejemplo parte del complejo proteína PS) predisponiendo a los individuos a la FAD de aparición temprana.

APOPROTEINA E (APO E)

El factor de riesgo y la edad media de aparición de EA de aparición tardía está influenciada por la herencia de los alelos apo E específicos. La apo E es una proteína de 34 KDa que existe con tres isoformas principales, E2 (Cys158), E3 (Cys112 y Arg158) y E4 (Arg112). Entre las tres isoformas, Apo E3 es el más común representando aproximadamente un 78% de las formas totales, mientras que apo E4 representa el 15% y apo E2 representa el 7%. La proporción de isoformas diferentes varía entre grupos étnicos y raciales. La apo E juega un importante papel en el transporte de lípidos en sangre humana y otros fluidos corporales. Participa en el metabolismo de lipoproteínas plasmáticas, homeostasis de colesterol y procesos de transporte lipidico local. La apo E se produce por varios tipos celulares, incluyendo hígado, riñón, células grasas y macrófagos. En el cerebro, es sintetizada primariamente y secretada por astrocitos, y juega un papel principal en el transporte lipídico dentro del SNC. La presencia de la isoforma apo E4 está asociada significativamente con EA de aparición tardía. El papel exacto de la apo E4 en la patogénesis de EA no está claro. La apo E puede estar implicada en la formación de las placas amiloides u ovillos por interaccionar con proteínas tau o AB. Su expresión se considera como un factor de riesgo para la EA que no es suficiente para el desarrollo de la enfermedad.

Actualmente hay comercializado un test de la empresa Innogenetics (Inno-Lipa). El gen apo E se localiza en el cromosoma humano 19 y contiene 4 exones que codifican la apolipoproteina E de 299 aminoacidos. Las 3 isoformas principales de apo E, se refieren a como las apo E2, E3 y E4 son productos de tres alelos en un locus de gen simple. Tres fenotipos homozigoticos (apo E2/2, E 3/3 y E4/4) y 3 fenotipos heterozigóticos (apo E3/2, E 4/3 y E 4/2) surgen de la expresión de cualquiera de los 3 alelos. Los aminoácidos en los codones 112 y 158 suceden de las diferencias entre las apo E2, E3 y E4. El fenotipo más común es apo E 3/3.

La tabla 1 ilustra las sustituciones de aminoácidos en el lugar 112 y 158 de la proteina apo E.

	Lugar 112	Codon	Lugar 158	Codon
Apo E2	Cisteina	(TGC)	Cisteina	(TGC)
Apo E3	Cisteina	(TGC)	Arginina	(CGC)
Apo E4	Arginina	(CGC)	Arginina	(CGC)

Tabla 1.- sustituciones de aminoácidos en el lugar 112 y 158 de la proteina apoE.

En vista del significativo impacto diferente de los alelos de apo E en las concentraciones de colesterol LDL del plasma, la determinación del fenotipo apo E es un adyuvante importante para asegurar el perfil de riesgo cardiovascular de un individuo.

La hiperlipoproteinemia tipo III está sociada con la apo E2/2. La elevación del colesterol LDL en plasma esta relacionado con la apo E4.

La relación entre polimorfismo de apoE y EA se estableció hace años. La apo E4, está geneticamente asociada con las formas de enfermedad de Alzheimer familiar de aparición tardía común y esporádica.

El despistaje para establecer los factores de riesgo tales como apo E2 y apo E4 juega un papel importante como una segunda linea de diagnostico.

El Inno-Lipa apo E proporciona una herramienta para la identificación de apo E rapida y segura (Figura 3, tabla 2).

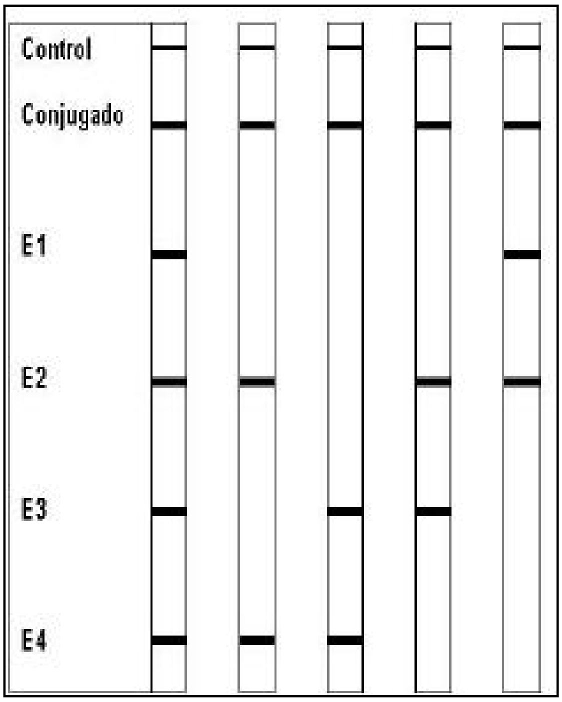


Figura 3.- Tira de tipificacion inno-lipa apo E. La localización de las diferentes lineas en la tira Inno-Lipa apo E. Hay una linea negra que se dibuja arriba de la tira para orientación. La linea del conjugado control proporciona un control interno para la reacción de desarrollo del color.

	Genotipos de Apo E					
	E2/2	E3/3	E4/4	E3/2	E4/3	E4/2
Linea 1 (112-arg)			X		X	X
Linea 2 (112-cys)	X	X		X	X	X
Linea 3 (158-arg)		X	X	X	X	X
Linea 4 (158-cys)	X			X		X

Tabla 2.- Reactividad de los diferentes genotipos de apo E con las lineas aplicadas (X= reacción positiva).

El test INNO-LiPA Apo E está basado en un principio de hibridacion inversa. El material de DNA amplificado es hibridado con oligonucleotidos especificos inmovilizados como lineas paralelas en los correspondientes tiras. Durante la

amplificacion, los "primers" biotilinados son incorporados en los fragmentos amplificados de DNA. Tras la hibridación, la estreptavidina unida a la fosfatasa alcalina es añadida y se une al hibrido biotinilado formado previamente. La incubación con un cromógeno conduce a la formación de un precipitado.

El procedimiento del test consta de los siguientes pasos:

a) Hibridación.
En un primer paso se añaden 10 µl de solución desnaturalizante y 10 µl de producto amplificado.
Se incuban durante 5 minutos y se coloca la tira y se incuba 30 minutos, en este caso a 45°C.

b) Lavado
Se lava las tiras y se incuban con la solución de lavado

c) Desarrollo de color
Se añade el conjugado y se incuba y con posterioridad el sustrato y tras una nueva incubación se para la reacción con agua destilada.

MARCADORES PLASMATICOS

Existen estudios preliminares de determinaciones plasmáticas de amiloide beta y melanotransferrina (p97).

La proteína amiloide beta constituye el centro de la placa senil y se origina como resultado de la proteolisis anormal de la proteína precursora del amiloide beta[14, 15]. Los resultados de la determinación plasmática de amiloide B40 y B42 (AB40 y AB42) obtenidos por los distintos autores son variables, no siendo útiles en la actualidad para ayuda diagnóstica[16].

Algunos autores han obtenido niveles de AB 49 y 42 superiores en pacientes con EA[17] mientras que otros o bien no han encontrado diferencias significativas o han obtenido resultados contradictorios[18, 19].

Existen varios estudios clínicos que relacionan la EA con alteraciones en el metabolismo del hierro y de sus proteínas. Varios autores han confirmado elevaciones séricas de la proteína p97 en pacientes afectos de EA[20, 21]. Se necesitan más estudios para poder avalar la utilidad de la p97 como marcador de diagnostico de EA. Sin embargo, parece que podría tratarse de un marcador incluso de fases tempranas, y además posible diferenciador de otro tipo de demencias.

MARCADORES EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO (LCR)

Ya que los cambios bioquímicos en el cerebro se reflejan en el LCR, las herramientas diagnósticas en la EA se dirigen al encuentro de marcadores específicos y sensibles en dicho medio.

Los marcadores en LCR deben reflejar los procesos patogénicos centrales de dicha enfermedad, los cuales incluyen el metabolismo alterado de amiloide beta y su posterior depósito en las placas seniles y la hiperfosforilación de la proteína tau con la formación de ovillos de degeneración neurofibrilar.

La presencia de ovillos de degeneración neurofibrilar en el citoplasma neuronal es una de las características histológicas más identificativas de la EA.. La proteína tau y la ubiquitina son las principales constituyentes de cambio neurofibrilar, estando su número directamente relacionado con la severidad de la demencia[22]. La agregación de tau en los ovillos se produce a consecuencia de la fosforilación irreversible, que altera la estructura de los microtúbulos e impide a la neurona trasmitir señales eléctricas y transportar nutrientes[23].

Los niveles en LCR de tau y tau fosforilada se encuentran elevados en la EA. La sensibilidad es ligeramente inferior para el marcador tau total que para tau fosforilada. Sin embargo, la especificidad es mayor para fosfo-tau[24]. Como se evidencia en la tabla 3, los niveles de tau y fosfo-tau en LCR están también elevados en otros desordenes neurodegenerativos y demencias.

Desorden	Tau total	Fosfo-tau	Beta-amiloide42
EA	Aumento moderado-marcado	Aumento moderado	Disminución moderada-marcada
Edad normal	Normal	Normal	Normal
Depresión	Normal	Normal	Normal
Enfermedad de Parkinson	Normal	Normal	Normal
Demencia alcoholica	Normal	Normal	Normal
Demencia frontotemporal	Aumento normal-ligero	Disminución normal-ligera	Disminución normal-ligera
Demencia por cuerpos de Lewy	Aumento normal-ligero	Normal, pero en algunos casos con disminución/moderado incremento	Disminución ligera-moderada
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	Aumento muy marcado	Normal, pero en algunos casos con aumento ligero/moderado	Disminución moderada
ICTUS	Aumento correlacionado con el tamaño del infarto	No cambio	No cambio
Demencia vascular	Algunos estudios con niveles normales-algunos con disminución	Normal	Disminución normal-ligera

Tabla 3.- Marcadores en LCR para la EA y diferenciación con otras patologías.

El hecho de que la proteína amiloide B (AB) sea el principal componente de las placas seniles, hace que se estudie su utilidad como marcador biológico en LCR. La variante B42 es la que se deposita más tempranamente en las placas seniles y en varios estudios se ha mostrado una reducción de moderada a marcada en pacientes con EA frente a controles sanos[25]. Se han encontrado niveles bajos de AB42 en otro tipo de patologías como la demencia frontotemporal, demencia de cuerpos de Lewy y enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (tabla 3).

En la figura 4 aparecen recogidos los marcadores biológicos en LCR utilizados en la EA y su localización.

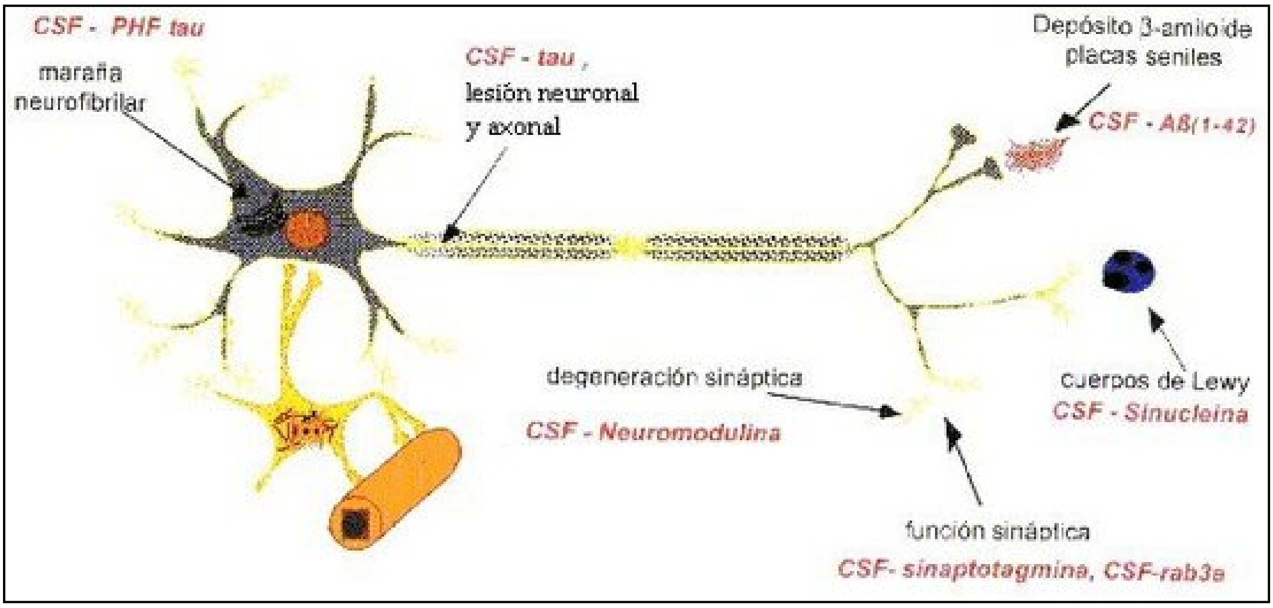


Figura 4.- Marcadores biológicos en LCR utilizados en la EA y su localización (Tomada de Kaj Blennow. CSF protein markers for Alzheimer´s diasease. 8th Internacional Conference on Alzheimer´s diasease, Estocolmo, julio 2002 (Innogenetics).

En la actualidad, el marcador en LCR que muestra mayor especificidad es fosfo-tau[26, 27, 28, 29]. No obstante la determinación conjunta de los tres marcadores tau, fosfo-tau y AB42 en LCR, aumenta la especificidad y sensibilidad respecto a su utilización individual.

CITOQUINAS ASOCIADAS CON EA

Las citoquinas también juegan papeles críticos en el desarrollo y progresión de EA. Las células asociadas con placas extracelulares dentro de los cerebros de pacientes con EA pueden producir una variedad de citoquinas y otras proteínas relacionadas que pueden influir intimamente en la formación de placas u ovillos. Adicionalmente, AB por si mismo puede estimular la microglia, astrositos y oligodendrocitos para secretar citoquinas proinflamatorias, quimoquinas y especies reactivas al oxígeno (ROS), las cuales pueden conducir a daño neuronal. Las citoquinas se asocian con desarrollo y progresión de EA tales como la Il-1, Il-6, TGF-beta y TNF-alfa. Por ejemplo un perfil de expresión diferencial de varios isotipos TGF-beta puede observarse dentro de las placas de EA "ovillos neuronales" y células asociadas con placas seniles, por tanto, sugiriendo un papel para estas citoquinas que promueve el desarrollo de la lesión. La expresión de una citoquina adicional, HGF, aumenta dentro de las placas seniles, potencialmente como una función de gliosis y proliferación microglial (Fig 5)[25, 26].

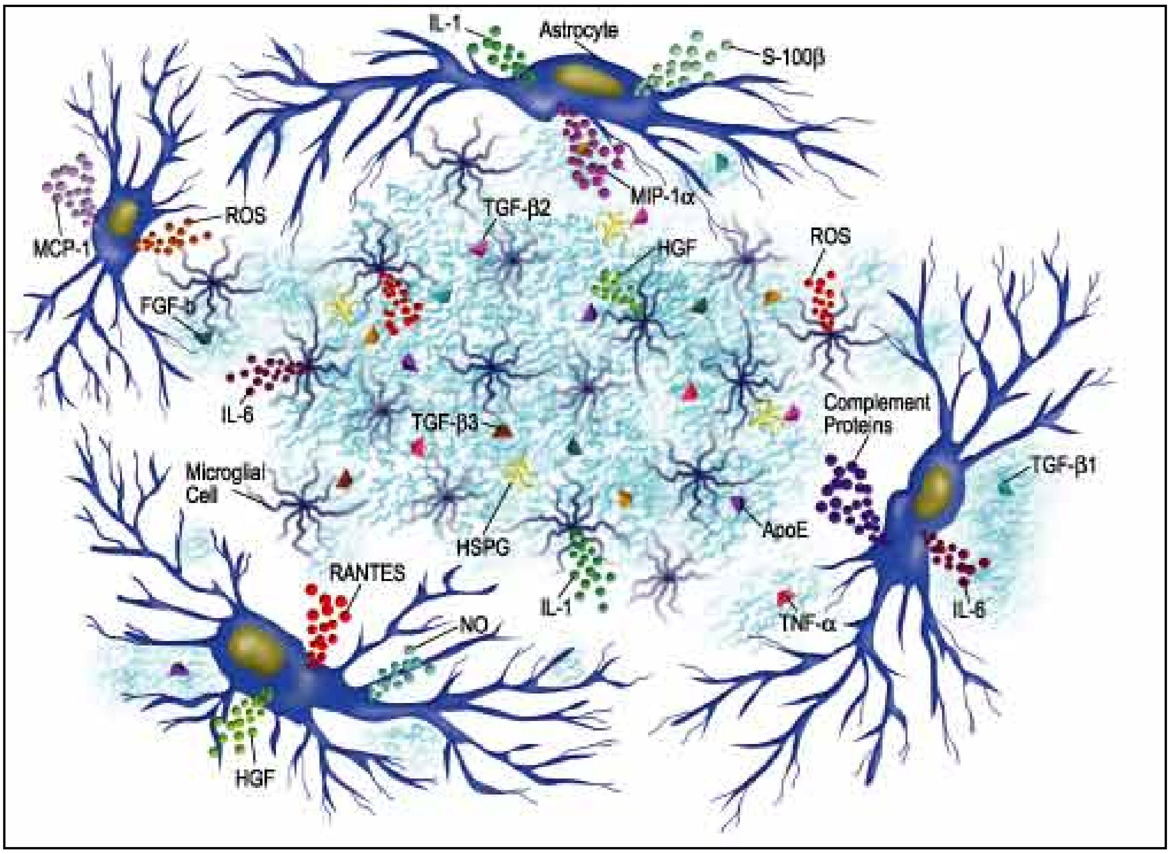


Figura 5.- Los astrocitos y células microgliales asociadas con placas AB pueden dar lugar a una variedad de citoquinas y otros factores. (AB por si misma puede también estimular las células asociadas con placas para dar lugar a citoquinas, quimoquinas y especies reactivas al oxígeno (ROS). Estas citoquinas pueden iniciar un complejo de interacciones tales como sobreregulación de expresión y procesos de APP, inducción de sobreexpresión de citoquinas (por ejemplo, giro autocrina y/o paracrina) y reclutamiento de células inmunes lo cual puede conducir a la degeneración de las poblaciones neuronales específicas dentro del cerebro afectado de EA) (www.rndsystems.com).

Las citoquinas asociadas tipicamente con placas amiloides (por ejemplo Il-1, Il-6 y TNF-alfa) pueden influir en la expresión de factores adicionales asociados con la patogénesis de la EA. Il-1, Il-6 y TNF-alfa pueden estimular cultivos de células neuronales y gliales in vitro, para secretar proteínas complemento. Niveles elevados de Il-1 presentes en tejido cerebral de EA pueden también influir en la expresión del factor de extensión S100beta de la neurita por astrocitos activados. La sobreregulación de S100beta puede conducir a la estimulación de crecimiento de neuritas y formación de placa neurítica finalmente. La IL-1alfa también juega un papel en la regulación de la síntesis de proteoglicano heparan sulfato (HSPG) en EA. La HSPGs son también asociadas con AB y pueden ser importantes para la agregación de péptidos AB dentro de los cerebros de pacientes con EA[25, 26, 27].

CONCLUSIONES

En esta revisión hemos tratado de estudiar los parámetros biológicos principales a utilizar en la enfermedad de Alzheimer e intentar diferenciarla de otras patologías degenerativas, ya que el diagnostico precoz de la EA es de gran importancia.

El gen Apo E esta localizado en el cromosoma humano 19 y contiene 4 exones que codifica la apolipoproteina E de 299 aminoácidos. Las tres isoenzimas de la Apo E son la Apo E2, E3 y E4 y son productos de los tres alelos de cada locus génico. Tres fenotipos homozigoticos (apo E2/2, E3/3 y E4/4) y tres heterozigóticos (apo E3/2, E4/3 y E4/2) resultan de la expresión de cada uno de los tres alelos. La sustitución de los aminoácidos en los codones 112 y 158 conllevan a las diferencias entre apo E2, E3 y E4.

La presencia abundante de ambas placas seniles y marañas en el cerebro de pacientes con EA es el único criterio aceptado para un diagnóstico inequivoco de esta patología. El mayor componente de las placas seniles es un péptido llamado beta-amiloide. Este péptido se trata de un fragmento proteolítico de una proteína precursora larga conocida como proteína precursora amiloide (APP). Dado que este péptido es producido bajo condiciones normales su presencia no es especifica de EA.

Los ovillos neurofibrilares están compuestas por estructuras filamentosas helicoidales y su componente principal es una forma fosforilada anormal del microtúbulo asociado a la proteína tau. Normalmente esta proteína tiene una presencia abundante en las neuronas y sirve para estabilizar el microtúbulo en los axones. En el Alzheimer y particularmente en aquellas regiones del cerebro afectadas la proteína tau esta fosforilada de forma anormal conduciendo a un incremento en la cantidad de tau.

Como la tau se trata de una proteína intracelular el nivel hallado en LCR es bajo. El desarrollo de una elevada afinidad por los anticuerpos monoclonales altamente específicos para la tau ha conducido al desarrollo de test para la detección de la tau en LCR y un número elevado de pacientes con Alhzeimer y controles han mostrado una elevada expresión de la tau en las células neuronales afectadas. Además los test basados en la determinación cuantitativa de la proteína tau en el LCR puede ser de gran ayuda en el diagnóstico de la EA.

En la actualidad, el marcador en LCR que muestra mayor especificidad es fosfo-tau. No obstante la determinación conjunta de los tres marcadores tau, fosfo-tau y AB42 en LCR, aumenta la especificidad y sensibilidad respecto a su utilización individual.

BIBLIOGRAFIA

1. Flórez JA, Flórez I, Rodríguez J. Familia y enfermedad de Alzheimer: nuevos horizontes de convivencia. Med Integral 2003; 41: 178-182.

2. Llibre JJ, Guerra MA. Enfermedad de Alzheimer. Situación actual y estrategias futuras. Rev Cub Med 1999; 38: 134-142

3. López-Pousa S. Epidemiología de las demencias. En: Alberca R, López-Pousa S, eds. Enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Madrid: IM&C 1998: 137-148.

4. Amaducci L. Impact of new therapies on Alzheimer´s disease. Management abstract book. 13th International Conference of Alzheimer´s Diseases International. Helsinki 1997.

5. Rosenberg RN: The molecular and genetic basis of AD: the end of the beginning. The 2000 Wartenberg lecture. Neurology 2000; 54:2045-2054.

6. Pérez-Tur J. La genética y la enfermedad de Alzheimer. Rev Neurol 2000; 30: 161-169.

7. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, St George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, et al. Association of apolipoprotein E allele E4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. Neurology 1993; 43: 1467-72.

8. Corder E, Saunders A, Risch N, Strittmater WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. Nat Genet 1994; 7: 180-184.

9. Schachter F, Faure-Delanef L, Guenot F, Rouger H, Froguel P, Lesueur-Ginot L, et al. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. Nat Genet 1994; 6: 29-32.

10. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type E4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. Science 1993; 261: 921-3.

11. Yoshizawa T, Yamakawa-Kobayashi K, Komatsuzaki Y, Arinami T, Oguni E, Mizusawa H, et al. Dose-dependent association of apolipoprotein E allele å-4 with late-onset, sporadic Alzheimer's disease. Ann Neurol 1994;36:656-9.

12. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, y cols. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between Apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. JAMA 1997; 278: 1349-1356.

13. Fariñas F, Sastre I, Gil Gregorio P, Billido MJ. Enfermedad de Alzheimer: deterioro cognistivo y funcional asociado a polimorfismos de ApoE y A2M. Rev Esp Geriatr Gerontol 2002; 37: 111-119.

14. Kazze AM, Eski T, Laphan L, Gabriel K. Clinicopathologic correlates in Alzheimer´s disease: assessment of clinical and pathological diagnostic criteria. Alzheimer Dis Asocc Disord 1993; 7: 1-3.

15. Rosemberg R. A casual role for amiloid in Alzheimer´s disease: the end of the beginning. Neurology 1993;43:851-856.

16. Molinuelo JL, Lleó A, Blesa R. Marcadores diagnóstico en la enfermedad de Alzheimer. En: Martinez Lage JM, Robles Bayón A. Alzheimer 2001: Teoría y práctica. Madrid: Aula Médica eds. 2001: 93-107.

17. Tamaoka A, Fukushima T, Sawamura N, y cols. Amyloid [beta] protein in plasma from patients with sporadic Alzheimer's disease. J Neurol Sci 1996; 151:65-68.

18. Mehta P, Pirttila T, Mehta S, y cols. Plasma and cerebrospinal fluid leves of amyloid beta protein 1-40 and 1-42 in Alzheimer's disease. Arch Neurol 2000; 57:100-105.

19. Jefferies WA, Food MR, Gabathuler R, Rothenberger S, Yamada T, Yasuhara O, McGeer PL: Reactive microglia specifically associated with amyloid plaques in Alzheimer's disease brain tissue express melanotransferrin. Brain Res 1996; 712: 122-126.

20. Galasko D, Clark C, Chang L, et al. Assessment of CSF levels of tau protein in mildly demented patients with Alzheimer's disease. Neurology 1997; 48:632-635.

21. Kim DK, Seo MY, Lim SW, Kim S, Kim JW, Carroll BJ, Kwon DY, Kwon T, Kang SS. Serum melanotransferrin, p97 as a biochemical marker of Alzheimer's disease. Neuropsychopharmacology 2001; 25: 84-90.

22. Gra S, Padrón N, Llibre JJ. Péptido beta amiloide, proteína tau y enfermedad de alzheimer. Rev Cubana Invest Biomed 2002; 21: 253-261.

23. Hyslop-Greorge St PH. Piecing together Alzheimer´s. Scientific American 2000: 76-83.

24. Blennow K. CSF markers for the diagnosis of Alzheimer´s disease. Disease Focus. Alzheimer´s Disease. 2001: 1-3.

25. Agut J. Metabolismo fosfolipídico en la fisiopatología en la enfermedad de Alhzeimer. En: Acarín N, Alom J. eds. Marcadores biológicos y perpectivas terapéuticas en la enfermedad de Alzheimer. Barcelona: MCR 1989; 77-88.

26. Alom J. Neuropéptidos en la enfermedad de Alhzeimer. En: Acarín N, Alom J. eds. Marcadores biológicos y perpectivas terapéuticas en la enfermedad de Alzheimer. Barcelona: MCR 1989; 43-54.

27. Arjona A, Cano González M, Pérez Mora F, Ramos M,. Bandrés F. Enfermedad de Alzheimer. Medicina del Trabajo 1994: 3, 39-48

28. Tamaoka A, Sawamura N, Fukushima T, y cols. Amyloid [beta] protein 42(43) in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. J Neurol Sci 1997; 148:41-45.

29. Nakamura T, Shoji M, Harigaya Y, y cols. Amyloid B protein levels in cerebrospinal fluid are elevated in early onset Alzheimer's disease. Ann Neurol 1994; 36: 903-911.

Comentario del Revisor José María Trejo Gabriel y Galán MD. PhD. Jefe de S. de Neurología. Hospital General Yagüe. Burgos. España

Esta revisión de San Miguel y colaboradores es de interés para profesionales e investigadores en neurociencias dado que responde a un problema no resuelto: el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer para el que no tenemos un marcador bioquímico ni de otro tipo que nos permita diagnosticarla con seguridad, rapidez y de forma temprana. Por ello los datos actuales sobre marcadores biológicos son relevantes y la investigación en este campo puede tener repercusiones muy importantes, especialmente cuando se desarrollen tratamientos de mayor eficacia que los actuales.

Comentario del Revisor Pilar Calmarza Calmarza PhD. Laboratorio de Bioquímica. Miguel Servet. Zaragoza. España.

Esta revisión presenta interés tanto desde el punto de vista neurológico como de laboratorio. En el primer caso para establecer el diagnóstico de una enfermedad cuyo enfoque predominante es el de exclusión, es decir que es necesario descartar otras condiciones que puedan simular la enfermedad.

En el caso del laboratorio su interés radica en la ayuda que podamos prestar a los clínicos, mediante la realización de diferentes determinaciones , ya que no existe una única prueba diagnóstica que que nos permita diagnosticar la enfermedad. Muy interesante me parece,sobre todo, el párrafo referido a la asociación existente entre las citoquinas y la enfermedad de Alzheimer ya que es un aspecto poco conocido, y que pudiera ayudarnos en un futuro al diagnóstico más rápido y preciso de la enfermedad.

*** Autor para la correspondencia:**
Dr. A. San Miguel Hernández
Laboratorio de Análisis Clínicos.
Hospital Universitario Rio Hortega.
Avda Cardenal Torquemada s/n
E-mail: asanmiguel @ hispavista.com

Recibido 21 de diciembre de 2005.
Publicado 12 de febrero de 2006.

Revista Electrónica de Biomedicina
Electronic Journal of Biomedicine

ISSN: 1697-090X

Inicio Home

Indice del volumen Volume index

Comité Editorial Editorial Board

Comité Científico Scientific Committee

Normas para los autores Instruction to Authors

Derechos de autor Copyright

Contacto/Contact:

Letters to the Editor / Cartas al Editor

Sobre la Atención Farmacéutica en USA

Pedro del Río Pérez

Farmacéutic Comunitario. La Quintana de Rueda. León. España
pedrodelrio @ uninet.edu

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2006;1:100

Sr. Editor [1]:

Después la lectura del excelente artículo de Atención Farmacéutica que figura en este mismo número[2], tengo alguna pregunta :
En el 2º parráfo, después de la tabla 2 dice "...al Paciente de las empresas farmacéuticas para la obtención de medicamentos de forma gratuita. Una evaluación ..." ¿Cómo se consiguen medicamentos gratis en el país del capitalismo? ¿Quien los financia?
Veo también que se hace mucha educación sanitaria.
Y que no se diferencia en casi nada de como actuamos cualquiera de los que hacemos SFT a diario (bien sea con el Dáder o sin él). Si le damos un vistazo a cualquiera de los numerosos casos que se han enviado al Dáder (o que no se envían por pereza porque ya lo archivamos nosotros en la farmacia) es parecido.

REFERENCIAS

1.- Nota del Editor: se transcribe por su evidente interés la pregunta que hizo en la lista de mail AF el firmante. Y asimismo, por gentileza del autor, la respuesta más actualizada con ocasion de esta publicación.
2.- Domínguez O, Chen S, Johnson KA, Cervantes E, Baron M. Implementación de servicios de Atención Farmacéutica en tres Centros Comunitarios de Salud de Los Ángeles: resultados preliminares. Electron J Biomed 2006:1

Respuesta del Autor

El acceso a los medicamentos para las personas de bajo recursos en Estados Unidos se basa en dos tipos de programas principalmente: los Programas de Asistencia al Paciente (PAP) y el programa 340B.

Los PAPs son administrados por las casas farmacéuticas, que participan voluntariamente. En estos programas se suelen conseguir de forma gratuita o a precio módico las medicinas cuyas patentes no han expirado -es decir, de marca- aunque también existe un programa para medicamentos genéricos (www.rxoutreach.com) a bajo costo. Cada empresa tiene sus propias reglas de elegibilidad, las cuales se basan normalmente en poder adquisitivo y estatus migratorio en Estados Unidos. Esto último puede ser un problema en clínicas comunitarias con un alto porcentage de inmigrantes indocumentados, una variante que siempre juega un papel en el tratamiento recomendado. Para más información sobre los PAPs ver www.rxassist.org.

Tambien existe el programa 340B por el cual las clínicas comunitarias y hospitales gubernamentales tienen acceso a medicamentos, sobre todo genéricos, a bajo costo, que luego es pagado mediante otros programas, normalmente del condado, o por el paciente si éste no elegible para uno de estos programas. El programa 340B se administra a nivel federal y es requerido por una ley aprobada en 1992. La elegibilidad se basa en las características de las clínicas y la población a la que sirven. Además el estatus legal del paciente en Estados Unidos es irrelevante (al menos en California). Para más información ver http://www.hrsa.gov/opa/

Olaf Domínguez MS. PharmD.
Farmacéutico Clínico, JWCH Institute Inc.
Facultad de Farmacia, Universidad de Southern California;
Los Ángeles. USA

Recibido 2 de febrero de 2006
Publicado, 6 de febrero de 2006.