

ISSN 1510 - 8023



PUBLICACIÓN DE LA DIRECCIÓN NACIONAL  
DE SANIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
DE LA REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

SALUD  
MILITAR 

Revista de Investigación  
Clínica y Biomédica

Volumen 37 • Nro. 2 • Diciembre 2018



### **DIRECTOR NACIONAL DE SANIDAD DE LAS FF.AA. General Alejandro SALABERRY**

Director Técnico de la D.N.S.FF.AA. y Director de la Publicación "Salud Militar" Tte. Cnel. (M) Bruno LIGUGNANA

#### **PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA D.N.S.FF.AA.**

**REVISTA:** "SALUD MILITAR"

**EDITA:** D.N.S.FF.AA.

ISSN impresa: 1510-8023

ISSN en línea: 1688-0633

Título abreviado: Salud Mil

Periodicidad: Semestral

Tiraje: 500 ejemplares

Distribución Gratuita: SERVICIO DE

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS de la D.N.S.FF.AA.

Avda. 8 de octubre 3050

Código Postal: 11600

Teléfono: (598) 2487 6666 int. 1390

Telefax: (598) 2487 5226

E-mail: [revistasaludmilitar@dnsffaa.gub.uy](mailto:revistasaludmilitar@dnsffaa.gub.uy)

Disponible en: <http://www.dnsffaa.gub.uy/investigacion-y-docencia/revista-salud-militar>

Publicación sometida a arbitrajes nacionales y extranjeros con sistema doble ciego.

#### **Editor Ejecutivo - Corrector Bibliográfico**

Alf. (Apy) Lic. Silvia CASAVIEJA

#### **Traductora**

S/O/M (R) Tr. Alejandra DOMÍNGUEZ

#### **Diseño y Maquetación**

Cbo. 2ª (Adm.) Karina BON

Sdo. 1ª (Adm.) Noelia GONZÁLEZ

Indexada en:



Disponible en:



Evaluada por:



Miembro fundador de:



## Comité Editorial

### **Dr. Alberto GALASSO**

Médico Especialista en Medicina Interna y Toxicología. Profesor Asociado de Toxicología. Facultad de Medicina. CLAEH.

### **Dr. Augusto SOIZA LARROSA**

Médico Legista. Académico del Instituto Histórico y Geográfico del Uruguay. Miembro de Honor de la Sociedad Uruguaya de Historia de la Medicina.

### **Dra. Lilian PORTA BADARACCO**

Magister en Epidemiología. Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria. Jefe del Departamento de Epidemiología de la D.N.S.FF.AA. Epidemiología Área Programática, Gerencia Asistencial de ASSE.

### **Dr. Pablo CABRAL**

Jefe Dpto. de Investigación y Docencia de la D.N.S.FF.AA. Profesor Adjunto de Radiofarmacia, Facultad de Ciencias, UDELAR.

### **Dra. Eloisa RIVA**

Profesora Adjunta de la Cátedra de Hematología, UDELAR.

### **Dr. William PORCAL**

Prof. Adjunto Química Orgánica, UDELAR.

### **Dra. Elena OLIVA**

Doctora en Enfermería. Especialista en Hemato-oncología. Docente y coordinadora del postgrado en enfermería oncológica. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Católica del Uruguay.

### **Prof. Dr. Hugo CERECETTO**

Profesor Titular de Química, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, UDELAR.

### **Dr. José GRÜNBERG**

Pediatra. Nefrólogo Pediatra. Ex Profesor Director de Clínica Pediátrica UDELAR. Ac. de la Academia Nacional de Medicina.

### **Dra. Adriana ALFONSO**

Médico. Máster en Administración de Servicios de Salud. Especialista en preancianidad, geriatría y gerontología. Postgrado Epidemiología (Universidad Córdoba - Argentina). Consultor/NPC OPS. Ministerio de Salud, Departamento de Epidemiología. Encargada de Enfermedades Transmisibles.

## Comité Científico

### **Dra. Cristina LINDNER**

Médico Especialista en Parasitología, Salud Pública y Epidemiología. Profesora Adjunta del Dpto. de Medicina Preventiva Social. Facultad de Medicina. UDELAR. Montevideo. Uruguay.

### **Dr. Juan Pablo GAMBINI, PhD, MSc**

Profesor Adjunto de Medicina Nuclear. Centro de Medicina Nuclear del Hospital de Clínicas Facultad de Medicina, UDELAR. Montevideo. Uruguay.

### **Dr. Marcelo SCARRONE**

Docente de Cirugía BMF III. Facultad de Odontología y Docente Adj. de la Carrera de Especialización en Cirugía y Traumatología BMF de la UDELAR. Pte. Sociedad Uruguaya de Cirugía y Traumatología BMF. Montevideo. Uruguay.

### **Prof. Dr. Roger CHAMAS**

Profesor Titular de Oncología Básica. Facultad de Medicina, Universidad de San Pablo. Brasil.

### **Dr. Miguel Angel BARBERO**

Médico Cirujano. Especialista en Traumatología. Presidente del Consejo de Administración del Comité Ejecutivo y Ortopedista del Instituto de Lucha Antipoliomelítica y Rehabilitación del Lisiado. Rosario. Provincia de Santa Fé. Argentina.

### **Dr. Carlos Ignacio RAFFA**

Médico Cirujano. Especialista en Oncología Quirúrgica. Cirujano prestador de OSDE, Medicus y Omint. Buenos Aires. Argentina.

### **Prof. Dr. Augusto MÜLLER GRAS**

Médico Cirujano. Emergentólogo. Integrante del Comité Hospitalario de Bioética Asistencial del H.C.FF.AA. Intergrante Miembro titular de la Academia de Medicina. Montevideo. Uruguay.

### **Dra. Guianeya SANTANDER**

Especialista en Oncología Clínica. Ex Docente Grado II, Facultad de Medicina, UDELAR. Montevideo. Uruguay.

### **Prof. Dra. Romina J. GLISONI**

Investigadora Adjunta. Instituto NANOBIOTEC UBA-CONICET. Cátedra Tecnología Farmacéutica II. Departamento de Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Argentina.





# Tabla de Contenido

## EDITORIAL

**Editorial** p. 5

## HOMENAJE

**General de Brigada (Asimilado) Doctor Alberto Anselmi Arnaud** p. 6  
Dr. Augusto Soiza Larrosa

## ARTÍCULOS ORIGINALES

**Hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH): potencial agente de oncología molecular** p. 10  
Lucía Alfaya, Ximena Camacho, Mirel Cabrera, María Fernanda García, Marcelo Fernández,  
Juan Pablo Gambini, Pablo Cabral.

**Primer brote de *Klebsiella pneumoniae* productora de Carbapenemasa tipo KPC en un hospital de tercer nivel** p. 27  
Graciela Borthagary, María Bustamante, Mercedes Castro, Tania Castro, Gustavo Gagliano, Adriana Nabón,  
Martha Pacaluk, Paula Roper.

**Disfunción vaginal: dos metodologías para su evaluación** p. 33  
Paula Roper, Giuliana Mazzariello, Graciela Borthagaray.

## REVISIONES

**Musicoterapia y salud** p. 41  
Omar Porciúncula

**Óxido nítrico: uso en odontología** p. 46  
Tania Yarzabal, Inés Alzate, Patricia Mussini.

## CASOS CLÍNICOS

**Ergotismo y antirretrovirales inhibidores de proteasa** p. 55  
Rosa Almeida, Leonardo Tolosa.

**Micetoma sobre cavidad neoformada** p. 59  
Magdalena de Torres, Diego Alonso, Verónica Cedrés.

## HISTORIA DE LA MEDICINA

**El humor en medicina. Parte 1. “Memorias de una ambulancia”** p. 65  
Dr. Augusto Soiza Larrosa

## PÓSTER E INFORMACIÓN

**Normas de Publicación** p. 78



# Contents

## EDITORIAL

**Editorial** p. 5

## HOMAGE

**General de Brigada (Asimilado) Doctor Alberto Anselmi Arnaud** p. 6  
Dr. Augusto Soiza Larrosa

## ORIGINAL ARTICLES

**Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH): potential agent of molecular oncology** p. 10  
Lucía Alfaya, Ximena Camacho, Mirel Cabrera, María Fernanda García, Marcelo Fernández,  
Juan Pablo Gambini, Pablo Cabral.

**First outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing Carbapenemase type KPC  
in a tertiary hospital** p. 27  
Graciela Borthagary, María Bustamante, Mercedes Castro, Tania Castro, Gustavo Gagliano, Adriana Nabón,  
Martha Pacaluk, Paula Roper.

**Vaginal dysfunction: evaluation of two methodologies** p. 33  
Paula Roper, Giuliana Mazzariello, Graciela Borthagaray.

## REVISIONS

**Music therapy and health** p. 41  
Omar Porciúncula

**Nitrous oxide: its use in dentistry** p. 46  
Tania Yarzabal, Inés Alzate, Patricia Mussini.

## CLINICAL CASES

**Ergotism and antiretroviral protease inhibitors** p. 55  
Rosa Almeida, Leonardo Tolosa.

**Mycetoma on a neoformed cavity** p. 59  
Magdalena de Torres, Diego Alonso, Verónica Cedrés.

## HISTORY OF MEDICINE

**Humor in medicine. Part 1. “Memories of an ambulance”** p. 65  
Dr. Augusto Soiza Larrosa

## POSTER AND INFORMATION

**Publication Rules** p. 78

 **Editorial**

Una nueva era comienza para la medicina, la medicina digital, definida como el uso de herramientas digitales para llevar la práctica de la medicina a una de alta definición e individualizada, promete revolucionar la atención médica y el bienestar. El núcleo de esta revolución es el desarrollo de soluciones tecnológicas para monitorear, procesar e integrar vastas cantidades de datos a nivel individual y poblacional para ayudar a abordar los problemas de salud y los desafíos que enfrentan los pacientes, los clínicos y los sistemas de salud por igual. Esta nueva era digital de la medicina tiene el potencial de democratizar el acceso a la atención y capacitar a los pacientes para que se comprometan con su salud de una manera verdaderamente preventiva. En China, en el último año, comenzó a funcionar un proyecto piloto: colocar en un lugar público una cabina de 3 metros cuadrados que proporcione atención médica integral sin necesidad de personal médico presencial. La inteligencia artificial (IA), y en particular el aprendizaje profundo, se encuentran entre las herramientas tecnológicas líderes que comienzan a utilizarse en la interpretación de imágenes médicas y registros electrónicos de salud. ¿Nuestros sistemas de salud están preparados para el futuro?...

 **Editorial**

A new era begins for medicine, digital medicine, defined as the use of digital tools to bring the practice of medicine to a high definition and individualized level; it promises to revolutionize health care and well-being. The core of this revolution is the development of technological solutions to monitor, process and integrate large amounts of data at individual and population levels to help address health problems and the challenges faced by patients, physicians and health systems as well. This new digital age of medicine has the potential to democratize the access to care and train patients to become involved with their own health in a truly preventive way. In China, during the past year, a pilot project began to be implemented: a 3-square-meter cabin was set in a public place, providing comprehensive medical care without the need for in-person medical personnel. Artificial Intelligence (AI), and in particular deep learning, are among the leading technological tools that are beginning to be used in the interpretation of medical images and electronic health records. Are our health systems ready for the future?...

## General de Brigada (Asimilado) Doctor Alberto Anselmi Arnaud

Director General del Servicio de Sanidad del Ejército y la Armada (1924-1931)

Dr. Augusto Soiza Larrosa

Médico. Miembro y vicepresidente del Instituto Histórico y Geográfico del Uruguay.

Miembro de Honor y ex presidente de la Sociedad Uruguaya de Historia de la Medicina.



**Figura 1.** Dr. Alberto Anselmi, Director de Sanidad Militar (1923) con kepi de general (Bibl. Nacional).

Nació en Montevideo en 1887. Obtuvo el título de médico-cirujano de la Facultad de Medicina de Montevideo en diciembre de 1911 viajando a Europa en búsqueda de perfeccionamiento, el “viaje iniciático” que estimuló a muchos uruguayos desde el siglo XIX. Fue Médico Interno del Ministerio de Salud Pública que desempeñó en el Hospital Maciel (1).

Su más importante ejercicio profesional fue en el *Servicio de Sanidad del Ejército y la Armada*. De su *Hoja de Servicios* en el legajo personal, del año 1928, matrícula N° 133, carpeta 28, extractamos:

Médico Interno del Hospital Militar (1915-1918).

Médico Principal de 1ª Clase, Jefe de la *Sección Servicio de Sanidad del Ejército* (1919-24).

Encargado de la Dirección General del *Servicio de Sanidad del Ejército y la Armada* sustituyendo al primer director Francisco Fernández Enciso (1920-21) y como tal Miembro Honorario del *Consejo de Administración de la Caja de Pensiones Militares* y del *Instituto Profiláctico de la Sífilis*.

Cuando fue nombrado Director General de Sanidad el doctor Augusto Turenne en abril de 1921, volvió a su anterior cargo de *Jefe de la Sección Servicio de Sanidad del Ejército*.

Finalmente llegó a la máxima jerarquía como Médico Superior Director General del *Servicio de Sanidad del Ejército y la Armada* por Decreto del Poder Ejecutivo del 01 de julio de 1924, asimilado al grado de general de brigada.

Le fue conferida la Orden *Officiel de la Légion d'Honneur* de la República Francesa en 1926.

Exonerado por razones de Servicio del cargo de Director General (Decreto del Poder Ejecutivo del 31 de julio de 1931) fue sucedido por el doctor César Bordoni Posse.

Bajo su dirección:

- Se ocuparon las nuevas dependencias para el *Servicio de Sanidad* anexas al hospital (1920).
- Integró la Comisión Honoraria designada por el Poder Ejecutivo para proyectar el Reglamento de la *Cruz Roja Uruguaya*, ante la adhesión del país a la Convención de Ginebra (1924).

Recibido para evaluación: Julio 2018

Aceptado para publicación: Setiembre 2018

Correspondencia: 21 de setiembre 2713. C.P. 11300. Montevideo, Uruguay. Tel.: (+598) 27101418.

E-mail de contacto: [asoiza@adinet.com.uy](mailto:asoiza@adinet.com.uy)



**Figura 2.** Carro Botiquín de Primera Línea (1928) (Círculo Militar).

<p>REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY</p> <hr/> <p><b>Servicio de Sanidad del Ejército y la Armada</b></p> <hr/> <p>REGLAMENTO PROVISORIO QUE ESTABLECE LA DOTACION Y EMPLEO DE LOS CARROS BOTIQUINES DE PRIMERA LINEA</p> <p>(MODELO Dr. ANSELMI)</p> <p>IMPRENTA MILITAR 25 de Mayo 273 - Montevideo 1929</p>	<p><b>CARRO BOTIQUIN</b></p> <p>Arreos para caballos de vara (Juego completo).                  " " " laderos. (Juego completo).                  Bandera Cruz Roja.                  Brazaletes Cruz Roja (Cajón N.º 3).                  Cajones conteniendo medicamentos.                  Camillas.                  Canasto de mimbre.                  Carpa para dos personas.                  Farol a vela para el pescante del carro.                  Funda de lona.                  Marmita.                  Pala.                  Pico.</p>
---	---

**Figura 3.** Reglamento para Carros Botiquines.

**Figura 4.** Algunos de los elementos transportados en los Carros Botiquines.

- Como Delegado Oficial al *3er. Congreso Internacional de Medicina y Farmacia Militares*, viajó a París junto al doctor Eduardo Blanco Acevedo (1925). Ambos adquirieron en Europa equipamiento para la Sanidad Militar.

- Integró la Comisión de Honor del *1er. Congreso y Exposición de la Asistencia Pública Nacional* (Montevideo, 1927).



**Figura 5.** Carros Botiquines de Primera Línea (1928) (col. Alberto del Pino).

Proyectos de su autoría fueron aprobados por Resolución gubernativa:

- *Reglamento de Enfermeros Militares* (23/02/1921).
- *Libreta individual de salud* para el personal del ejército (22/03/1922). A cada consulta correspondería una anotación hecha por el médico o el Ayudante de Sanidad del Servicio Sanitario correspondiente. En esa época no se disponía de la historia clínica tal como hoy la concebimos.
- *Reglamento* para el uso obligatorio del *Paquete Individual de Curación* (06/06/1923).
- *Proyecto* (conjunto con el coronel López Vidaur) a la Comisión respectiva sobre material sanitario para campamentos y marchas militares (07/10/1924).
- *Reglamento del Servicio de Sanidad en Campaña* (19/05/1925).
- *Cartera de Enfermero (Modelo doctor Anselmi)* (24/08/1927).
- *Reglamento de Ficha de Identidad* para militares

y servicios auxiliares del ejército (22/11/1927).

- *Reglamento provisorio que establece la dotación y empleo de los Carros Botiquines de Primera Línea (Modelo doctor Anselmi)* (28/08/1929) (2).

Alberto Anselmi fue el creador de este original *Carro Botiquín* que vino a reemplazar el Carro Ambulancia de la época del jefe del *Cuerpo de Sanidad* Eduardo Emilio Martínez. Recibió el nombre de "Modelo Anselmi". Autorizada su construcción el 24 de abril de 1928, luego de prácticas y experiencias en el terreno durante tres años, obtuvo la aprobación por el gobierno (Decreto del 28 de agosto de 1929, firmado por el presidente Juan Campisteguy y su ministro general Manuel Dubra). El carro era movido por un caballo y tripulado por su conductor y un enfermero.

El artículo 1º del Reglamento decía:

*"Los Carros Botiquines de Primera Línea tienen*

*como exclusivo destino el transporte del material de curación y tratamiento, de primeros auxilios, para el personal de un Batallón o Regimiento movilizado, en la cantidad y distribución que se detalla por orden alfabético en el Botiquín del apéndice N°1".* Fueron construídos en el Arsenal de Guerra de Montevideo

Publicaciones sobre higiene y salud militares:

- *"Sobre un tratamiento "simple y eficaz" de la ble-norragia".*

Rev Mil Naval N° 5, Montevideo, setiembre 1920.

- *Profilaxis de la fiebre tifoidea: la vacunación en nuestro ejército y sus resultados.*

Rev Méd Urug 1931; 24:162, Montevideo.

- *Preceptos de Higiene Militar aplicables a las marchas y campamentos.* Montevideo, 1930. Cit. en SCARONE, Arturo, pág. 24.

Realizó varias traducciones de temas médicos para la *Revista Militar y Naval*.

## REFERENCIAS

(1) Scarone A. *Uruguayos Contemporáneos. Nuevo diccionario de datos biográficos y bibliográficos.* Montevideo : Barreiro y Ramos, 1937, pág. 24.

(2) Anselmi A. *Servicio de Sanidad del Ejército y la Armada. Reglamento provisorio que establece la dotación y empleo de los Carros Botiquines de Primera Línea (Modelo Dr. Anselmi).*

Montevideo: Imprenta Militar, 1929, 62 p, ilus.



# Hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH): potencial agente de oncología molecular

## Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH): potential agent of molecular oncology

Lucía Alfaya <sup>a</sup>, Ximena Camacho <sup>a</sup>, Mirel Cabrera <sup>a</sup>, María Fernanda García <sup>a</sup>, Marcelo Fernández <sup>a</sup>, Juan Pablo Gambini <sup>b</sup>, Pablo Cabral <sup>a</sup>.

(a) Departamento de Radiofarmacia. Centro de Investigaciones Nucleares. Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.

(b) Centro de Medicina Nuclear. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.

### RESUMEN

La hormona liberadora de la hormona luteinizante es un decapeptido producido por el hipotálamo y posee un rol fundamental en la regulación del eje pituitario/gonadal y en el ciclo ovárico. Es capaz de unirse a receptores específicos sobre las células gonadales para regular la síntesis y secreción de las hormonas gonadotróficas, las hormonas luteinizante y folículo estimulante. A su vez, se ha comprobado que receptores específicos de la hormona liberadora de la hormona luteinizante se encuentran sobreexpresados en cáncer mama, próstata, ovárico, entre otros; lo cual ha permitido su utilización, tanto de análogos como agonistas, en terapia para estas neoplasias, principalmente en cáncer de próstata y mama. Por lo anterior, nos planteamos desarrollar y optimizar la marcación con el radionucléido emisor gamma, el 99m-Tecnecio, del péptido LHRH, a modo de evaluar su potencial empleo como agente de imagen molecular en oncología. Para esto, el HYNIC-GSG-LHRH fue adquirido comercialmente. La marcación con <sup>99m</sup>Tc fue realizada a 50 °C en presencia de diferentes co-ligandos incluyendo Tricina, Ácido etilendiaminodiacético, Tricina/Ácido etilendiaminodiacético y Tricina/Ácido Nicotínico. Las condiciones de marcación (pH, concentración de coligandos, concentración de agente reductor (cloruro de estaño), temperatura y tiempo de reacción)

fueron optimizadas en orden, para estandarizar el procedimiento. Se evaluaron las purzas radioquímicas por HPLC. Tanto los coeficientes de partición (Log P) y la estabilidad *in vitro* fueron determinadas a modo de obtener un agente de imagen estable y de alta pureza radioquímica. Se realizaron estudios biológicos *in vitro* de afinidad en distintas líneas celulares humanas de mama y próstata (MDA-MB-231, MCF-7 y MDA-MB-435) y próstata (PC3, LnCap y Du-145), así como su perfil de biodistribución en modelos murinos; a modo de obtener una aproximación al comportamiento biológico del nuevo radiotrazador.

Logramos marcar el conjugado HYNIC-GSG-LHRH con 99m-Tecnecio, empleando altas actividades específicas usando como co-ligandos tanto Tricina como la mezcla Tricina/Ácido Nicotínico, obteniendo altas purzas radioquímicas (> 95%), alta estabilidad *in vitro* y baja lipofilicidad (Log P de  $-2,5 \pm 0,05$  y  $-2,82 \pm 0,04$ , empleando Tricina y Tricina/Ácido Nicotínico, respectivamente). El conjugado [<sup>99m</sup>Tc]-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina-Ácido Nicotínico reveló elevada afinidad de unión específica por los receptores de la hormona liberadora de la hormona luteinizante expresados en las líneas celulares de mama y próstata. Se observó que el complejo radiomarcado presenta un perfil de biodistribución óptimo para ser empleado como potencial agente de imagen.

Recibido para evaluación: Febrero 2018

Aceptado para publicación: Setiembre 2018

Correspondencia: Laboratorio de Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Mataojo 2055, P.O. 11400, Montevideo, Uruguay. Tel.: (+5982) 5250901/108. Fax: (+5982) 5250895.

E-mail de contacto: lalfaya.27@gmail.com

**PALABRAS CLAVE:** Hormona Luteinizante; Imagen Molecular; Neoplasias de la Mama; Neoplasias de la Próstata; Receptores de HL.

### ABSTRACT

Luteinizing hormone-releasing hormone is a decapeptide produced by the hypothalamus and has a fundamental role in the regulation of the pituitary/gonadal axis and in the ovarian cycle. It is able to bind to specific receptors on gonadal cells to regulate the synthesis and secretion of gonadotrophic hormones, luteinizing hormones and follicle stimulating hormones. In turn, it has been shown that specific receptors of the hormone releasing luteinizing hormone are overexpressed in breast, prostate, ovarian cancer, among others; which has allowed its use, both analogues and agonists, in therapy for these neoplasms, mainly in prostate and breast cancer. Therefore, we propose to develop and optimize the gamma emitting radionuclide labeling,  $^{99m}\text{Tc}$ , of the LHRH peptide, in order to assess its potential use as a molecular imaging agent in oncology. For this purpose, the HYNIC-GSG-LHRH was purchased commercially. The  $^{99m}\text{Tc}$  labeling was performed at  $50^\circ\text{C}$  in the presence of different co-ligands including Tricine, Ethylenediamine diacetic acid, Tricine/Ethylenediamine diacetic acid and Tricine/Nicotinic acid. The marking conditions (pH, concentration of co-ligands, concentration of the reducing agent (tin chloride), temperature and reaction time) were optimized in order to standardize the procedure. The radiochemical purities were evaluated by HPLC. Both the partition coefficients (Log P) and in vitro stability were determined in order to obtain a stable imaging agent of high radiochemical purity. In vitro biological affinity studies were performed in different human breast and prostate cell lines (MDA-MB-231, MCF-7 and MDA-MB-435) and prostate (PC3, LnCap and Du-145), as well as their profile of biodistribution in murine models; in order to obtain an approximation to the biological behavior of the new radiotracer.

We managed to label the conjugate HYNIC-GSG-

LHRH with  $^{99m}\text{Tc}$ , using high specific activities using as co-ligands both Tricine and the Tricine/Nicotinic Acid mixture, obtaining high radiochemical purities ( $> 95\%$ ), high stability in vitro and low lipophilicity (Log P of  $-2,5 \pm 0,05$  and  $-2,82 \pm 0,04$ , using Tricine and Tricine/Nicotinic Acid, respectively). The [ $^{99m}\text{Tc}$ ]-HYNIC-GSG-LHRH/Tricine-Nicotinic Acid conjugate revealed a high specific binding affinity for the luteinizing hormone-releasing hormone receptors expressed in the breast and prostate cell lines. It was observed that the radiolabeled complex presents an optimal biodistribution profile to be used as a potential imaging agent.

**KEY WORDS:** Luteinizing Hormone; Molecular Imaging; Breast Neoplasms; Prostatic Neoplasms; Receptors, LH.

### INTRODUCCIÓN

El cáncer se origina cuando las células en alguna parte del cuerpo comienzan a crecer de manera descontrolada.

Se estima que más de la tercera parte de los humanos desarrollan cáncer en algún momento de su vida; siendo este responsable del 10-25% de las muertes en el mundo (1,2). Más de 200 variaciones de esta patología han sido descritas hasta la fecha, cada una con características y tratamientos distintos. Según datos de la Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer los tumores malignos constituyen la segunda causa de muerte en nuestro país. Entre éstos, el cáncer de mama es el más frecuente en la mujer (figura 1); se estima que una de cada diez mujeres podrá desarrollar cáncer de mama, causando la muerte de aproximadamente dos mujeres por día (3). En cuanto a los hombres, vemos que a nivel local, es el cáncer de próstata que se posiciona en primer lugar (figura 1) en cuanto a su incidencia y segundo en cuanto a mortalidad (a nivel mundial es el segundo luego del cáncer de pulmón). Se estima que 1,1 millones de hombres fueron diagnosticados con cáncer de próstata en el 2012, siendo un 15% de los cánceres diagnosticados en hombres, de los cuales el 70% se encuentran en países desarrollados (4,5).



Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer

**CANCER EN URUGUAY 2010-2014**  
**PRINCIPALES SITIOS (ordenados por Incidencia)**



COMISION HONORARIA DE LUCHA CONTRA EL CANCER  
REGISTRO NACIONAL DE CANCER

Tasa ajustada por edad a la población mundial estándar expresada en casos x 100000.

**Figura 1.** Porcentaje de incidencia y mortalidad de cáncer en mujeres (izquierda) y hombres (derecha) en Uruguay. Datos de la Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer (5).

La detección temprana, el diagnóstico y el tratamiento precoz son la clave para reducir la tasa de mortalidad. En este sentido, el campo de la imagenología molecular se abre como una herramienta capaz de generar imágenes funcionales, detectando y determinando a nivel celular y molecular las características de esta enfermedad (6,7).

Para esto, es necesario descubrir y explotar aquellos marcadores celulares que se expresan únicamente -o se sobreexpresan- en las células neoplásicas, de forma tal de emplearlos como blanco para generar nuestro agente de imagen.

Desde este punto, la utilización de anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, péptidos e incluso fragmentos de ADN han demostrado ser buenos vehículos para estas construcciones, pudiendo ser fácilmente acopladas a un radionucleido específico y siendo entonces capaces de dirigir esta molécula indicadora al sitio deseado por una reacción específica de unión a un receptor. Centrándonos en péptidos; estos poseen propiedades farmacocinéticas únicas al compararse con anticuerpos o fragmentos de estos, presentando una mejor penetración y menor captación inespecífica, a la vez que no provocan una respuesta inmune; simultáneamente mantienen alta especificidad y afinidad por su blanco (8,9).

Dentro de estas moléculas encontramos a la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH); una hormona decapeptídica, secretada por las neuronas del núcleo Arcuato del hipotálamo. Es secretada a la circulación portal pituitaria y juega un rol importante en la biología de la reproducción, induciendo la biosíntesis y liberación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH). Su secreción es crucial para el control de la función gonadal y el ciclo ovárico normal. La continua estimulación pituitaria, tanto por la LHRH natural como por agonistas, causa la desensibilización de los gonadotrofos pituitarios, resultando en la cesación de la secreción de gonadotrofinas (10,11).

Receptores específicos de la LHRH fueron originalmente detectados en órganos regulados por el eje pituitario-gonadal (glándula pituitaria, a la vez que en tejido reproductor masculino y femenino) (12). Existen dos formas de receptores de LHRH, LHRHR-1 y LHRHR-2, los cuales a su vez se encuentran sobreexpresados en diferentes tipos de cánceres, especialmente aquellos hormono dependientes, como mama, endometrial, próstata y ovárico (13-16). Esto demuestra que la LHRH podría estar involucrada en el crecimiento de estos tumores, proporcionando así las bases para las aplicaciones clínicas de análogos

de la LHRH en ginecología y oncología.

Últimamente, también se ha observado que existen sitios de unión para el péptido LHRH distintos tumores humanos y en líneas celulares de cáncer de hígado, laringe, páncreas, colon, riñón, piel y cerebro (12-23), pudiendo entonces ampliar su uso a otras patologías.

Por lo anterior, el péptido LHRH, de fácil síntesis química, ya ha sido utilizado como posible terapia en cáncer de próstata y mama, tanto como agonista o antagonista (24,25).

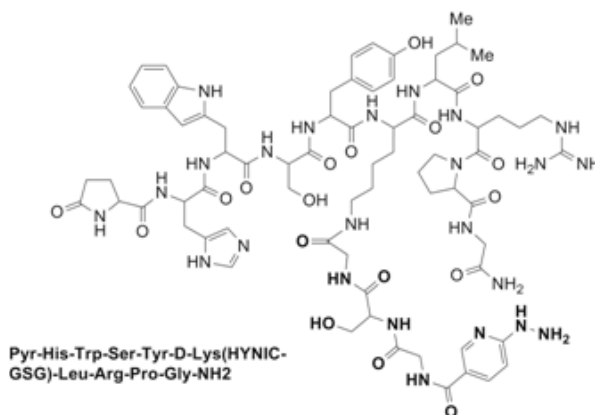
Teniendo en cuenta esta base, nos planteamos como línea lógica a seguir, la generación de un nuevo agente de imagen preclínico para cáncer de mama y próstata utilizando como base el péptido LHRH marcado  $^{99m}\text{Tc}$  vía el agente quelante bifuncional HYNIC (26,27).

Hay que tomar en cuenta que el radionucléido  $^{99m}\text{Tc}$  se encuentra ampliamente disponible en centros de Medicina Nuclear, posee una química bien establecida y adecuadas propiedades nucleares ( $t_{1/2} = 6,04$  h,  $E_{\gamma} = 140$  KeV (89%)); lo que junto a su bajo costo lo hacen un radionucléido indicado para la síntesis de este tipo de agentes de imagen. La química del marcado, con  $^{99m}\text{Tc}$  de forma directa o a través de agentes quelantes bifuncionales está bien establecida (28,29) y ha sido de amplio uso en nuestro departamento, donde disponemos de una plataforma ya establecida para la generación de este tipo de agentes de imagen (30-34).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Síntesis de péptido HYNIC-LHRH-GSG

El decapeptido HYNIC-GSG-LHRH ( $\text{C}_{55}\text{H}_{75}\text{N}_{17}\text{O}_{13}$ ) fue adquirido en su forma ya derivatizada con el agente quelante bifuncional Succidinimyl-hidrazinonicotinamida (HYNIC) (agente quelante sintetizado en nuestro laboratorio por la Dra. María Fernanda García (34) y entregado a la empresa para su derivatización), con una pureza > 95% (determinada por HPLC-UV), un peso molecular (PM) de 1589,71 g/mol (determinado por espectrometría masas donde el PM del LHRH



**Figura 2.** Esquema del decapeptido HYNIC-GSG-LHRH sintetizado por la empresa Siquimia S.A. (Uruguay);  $\text{C}_{72}\text{H}_{100}\text{N}_{24}\text{O}_{18}$ ; 1589,71 g/mol.

sin HYNIC fue de 1454,6 g/mol) y en forma liofilizada (4 mg); de la empresa SIQUIMIA S.A. (Uruguay). Se sabe que los motivos pGlu1-His2-Trp3 y Arg8-Pro9-Gly10-NH<sub>2</sub> del decapeptido son esenciales para la unión a su receptor. A su vez, está documentado que el reemplazo de la Gly6 con un D-aminoácido (síntesis análogos u agonistas) es capaz de aumentar la afinidad de unión, disminuir el clearance e incrementar la eficacia terapéutica. Por lo cual, la unión del agente quelante HYNIC empleando una D-Lys y un linker flexible (secuencia GSG) en la posición 6, no alteraran la unión específica con el receptor ( $\text{C}_{72}\text{H}_{100}\text{N}_{24}\text{O}_{18}$ ) (figura 2).

### 2. Marcación del péptido con $^{99m}\text{Tc}$

Se estudiaron distintas condiciones de marcación del HYNIC-GSG-LHRH con  $^{99m}\text{Tc}$  empleando como co-ligandos los compuestos Tricina, ácido etilendiamina-N-N'-diacético (EDDA), Tricina-EDDA y Tricina-Ácido Nicotínico (AN), y cloruro de estaño ( $\text{SnCl}_2$ ) como agente reductor. Todos los solventes empleados fueron previamente purgados con corriente de gas  $\text{N}_2$ .

Las purezas radioquímica (PRQ) de todos los complejos fueron analizados mediante el empleo de un equipo *Agilent Serie Infinity 1200*, equipado con un detector *GABI Star* y utilizando una columna de fase reversa C18 (250 mm x 4,6 x 10  $\mu\text{m}$ , Restek Ultra), el



detector UV se estableció en 280 nm. El método utilizado para la determinación de la PRQ fue el siguiente: gradiente de 20 min utilizando como fase móvil Agua/TFA 0,1% (A) y ACN/TFA 0,1% (B), 0-5 min 0-45% B, 5-10 min 45-65% B, 10-20 min 100% B.

Para llevar a cabo las respectivas marcaciones se utilizó 20 µg de HYNIC-GSG-LHRH (1 µg/µL) almacenado a -20 °C; al cual se le adicionaron:

- 150 µL de una solución de Tricina (100 mg/mL en H<sub>2</sub>O destilada); 15 µL de una solución recién preparada de SnCl<sub>2</sub> (1 mg/mL en 0,1 M HCl) y 185-555 MBq de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (hasta 500 µL). Se controla el pH (4,5) y se incuba durante 30 min a 50 °C en un baño de agua.

- 150 µL de una solución de Tricina (100 mg/mL en H<sub>2</sub>O) y 100 µL Ácido Nicotínico (AN; 20 mg/mL en H<sub>2</sub>O destilada); 5 µL de una solución de SnCl<sub>2</sub> recién preparada (1 mg/mL en 0,1 M HCl) y 185-555 MBq de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (hasta 500 µL). Se controla el pH (5) y se incuba durante 30 min a 50 °C en un baño de agua.

- 150 µL de una solución de Tricina (100 mg/mL en H<sub>2</sub>O destilada) y 80 µL de EDDA (20 mg/mL en H<sub>2</sub>O destilada); 15 µL de una solución de SnCl<sub>2</sub> recién preparada (1 mg/mL en 0,1 M HCl) y 185-555 MBq de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (hasta 500 µL). Se controla el pH (5) y se incuba durante 30 min a 50 °C en un baño de agua.

Paralelamente, probamos realizando la incubación durante 1 min a 70 °C en el mismo baño a modo de comparar resultados.

- 100 µL de EDDA (40 mg/mL en H<sub>2</sub>O destilada); 15 µL de una solución de SnCl<sub>2</sub> recién preparada (1 mg/mL en 0,1 M HCl) y 185-555 MBq de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> (hasta 500 µL). Se controla el pH final (5) y se incuba durante 30 min a 50 °C en un baño de agua.

### 3. Purificación de <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH

El control y purificación de los complejos peptídicos marcados se realizaron mediante HPLC utilizando el método que fue mencionado anteriormente. Posteriormente se diluyó la fracción purificada con aproximadamente 500 µL de PBS 0,1 M pH 7,4 y el ACN

se redujo aplicando una corriente de N<sub>2</sub>. Finalmente, se controla pH y si es necesario se añade PBS 0,1 M pH 7,4.

### 4. Coeficiente de reparto o Log P

Para evaluar los valores de Log P, se purificaron por HPLC los conjugados de HYNIC-GSG-LHRH/coligando marcados con <sup>99m</sup>Tc. El disolvente fue eliminado y el conjugado marcado (0,74 MBq) fue reconstituido en PBS (pH 7,4, 0,1 M, 20 mL).

Tubos conteniendo 500 µL de Octanol y 500 µL del conjugado marcado disuelto en PBS, fueron vigorosamente agitados durante 1 min y centrifugados a 14.000 rpm durante 10 min. Seis fracciones de 100 µL fueron colectadas de ambas fases, para la medición de sus respectivas cuentas en un contador de pozo de NaI. El coeficiente de reparto se obtuvo como el log (cuentas por min en octanol / cuentas en fase acuosa).

### 5. Estabilidad *in vitro*

#### Estabilidad en PBS

Se estudió la estabilidad *in vitro* de los conjugados <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina, <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN, <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina-EDDA y <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/EDDA. Para evaluar la estabilidad, se purificaron por HPLC todos los conjugados <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/coligandos por el método previamente descrito. Se incubó una alícuota de 1,85 MBq de cada complejo en 500 µL de PBS a 37 °C hasta 4 hs. Cada experimento fue realizado por triplicado y controlado por HPLC.

#### Estabilidad en Suero Fetal Bovino (SFB)

Se estudió la estabilidad *in-vitro* de los conjugados marcados empleando los distintos co-ligandos incubando una alícuota de cada complejo peptídico en SFB a 37° C, hasta 4 hs. Las proteínas fueron precipitadas con Acetonitrilo (ACN) y centrifugadas (1750 g, 5 min, 4 °C). Se midió la actividad del precipitado y del sobrenadante en un contador de pozo de NaI. Finalmente, el sobrenadante fue analizado por RP-HPLC para evaluar la estabilidad de los complejos de <sup>99m</sup>Tc.

### Estabilidad en L-Cisteína

Se estudió la estabilidad *in vitro* del conjugado  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN en L-Cisteína mediante el método previamente descrito por *Hnatowich et al.* (35). Para ello fue incubada una alícuota del complejo marcado disuelto en 500  $\mu\text{L}$  de PBS en distintas concentraciones de L-Cisteína (0,1, 1,0 y 10 mM) a 37 °C, hasta 24 hs. Todos los estudios fueron realizados por triplicado y analizadas sus respectivas PRQ por RP-HPLC, para evaluar la estabilidad de los complejos de  $^{99m}\text{Tc}$ .

### 6. Modelos celulares

Las líneas celulares humanas de cáncer de próstata (PC3, LnCap, Du-145) y de cáncer de mama (MDA-MB-231, MDA-MB-435 y MCF-7), fueron adquiridas de American Type Culture Collection (ATCC). El medio base utilizado en todas estas líneas celulares fue RPMI-1640 (Capricorn), suplementado con Suero Fetal Bovino (SFB) a una concentración final de 10%, 2 mM de L-glutamina, 100 U/mL penicilina y 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  streptomina.

La línea celular de fibroblastos normales (NIH3T3) también fue adquirida de ATCC, utilizando como medio base DMEM alta glucosa (Capricorn), suplementada con Suero Fetal Bovino (SFB) a una concentración final de 10%, 100 U/mL penicilina y 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  streptomina y 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de HEPES.

Los cultivos fueron incubados a 37 °C con 5% de  $\text{CO}_2$  y una atmósfera del 95% de humedad.

### 7. Estudios biológicos *in vitro* de unión celular

Se realizó un ensayo de afinidad de unión específica en todas las líneas celulares mencionadas. Las células fueron cultivadas en medio de cultivo durante dos semanas. Se determinó el número de células y se incubaron  $10^6$  células en 1,0 ml de medio de cultivo con  $\sim 100$  nM de  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN por 15, 30, 45 y 60 min a 37 °C.

La respectiva unión a la membrana fue determinada mediante un lavado (300  $\mu\text{L}$ ) con acetato de sodio (40 mM, pH 4,5) y la internalización fue determinada mediante un segundo lavado (300  $\mu\text{L}$ ) de NaOH

1N por 10 min. La cuantificación de las respectivas cuentas por min (cpm) del péptido radiomarcado en cada lavado fue determinado mediante el empleo de un contador gamma automático (Capintec CRC-7, Montvale, N.J., EE.UU.). Cada punto se realiza por cuadruplicado.

Con el fin de confirmar el grado de unión no específica, se llevaron a cabo estudios blancos incubando el mismo número de células y  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN con la adición de 20  $\mu\text{g}$  de HYNIC-GSG-LHRH sin marcar durante 2 hs. en las mismas condiciones experimentales anteriormente mencionadas.

### 8. Estudios de estabilidad biológicos *in vivo*

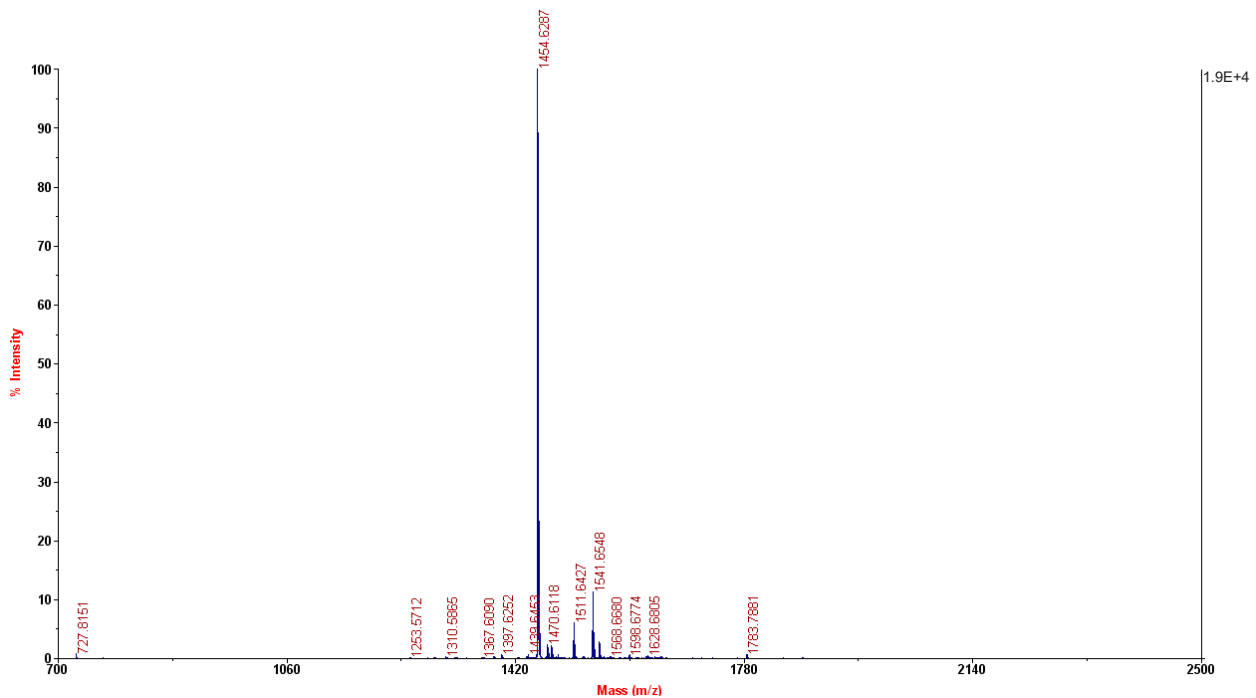
La evaluación biológica *in vivo* del complejo de  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-LHRH/Tricina/AN se llevó a cabo mediante la realización de estudios de biodistribución. Todos los procedimientos con animales fueron aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal. Los ensayos fueron realizados en ratones normales BALB/c, entre 6-10 semanas de edad y 18-24 g.

Animales (n=5 por grupo) fueron inyectados por la vena de la cola con aproximadamente 1-3 MBq del complejo de  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-LHRH/Tricina/AN purificado y sacrificados por dislocación cervical luego de 0,5, 1, 2 y 24 hs. Los tejidos seleccionados (tumor, corazón, hígado, pulmones, tiroides, riñones, estómago, bazo, tracto gastrointestinal y vejiga) fueron extirpados, enjuagados de la sangre residual, pesados y sus respectivas radioactividades medidas en un detector NaI (TI). La sangre y orina fueron también colectados y medidos. La radioactividad en el tumor y en los tejidos normales es expresada como porcentaje de dosis inyectada (% DI) y como porcentaje de dosis inyectada por gramo de tejido (% DI/g).

Los resultados se expresaron como media  $\pm$  error estándar. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba no apareada t. Fue considerado significativo un valor de  $p \leq 0,05$ .



4700 Reflector Spec #1 MC-&gt;BC[BP = 1454.6, 19308]



**Figura 3.** Espectrometría de Masas (MS) de LHRH sin HYNIC (PM: 1454,6 g/mol), proporcionado por la empresa Siquimia S.A.

## RESULTADOS

### 1. Síntesis de HYNIC-GSG-LHRH

El peso molecular del decapeptido LHRH fue confirmado por espectrometría masas (MS) y por UV-HPLC, proporcionados por la empresa SIQUIMIA S.A., dónde la relación m/z del LHRH para (MH)<sup>+</sup> fue de 1454,6 Da y se muestra en las figuras 3 y 4.

Al realizar el proceso de conjugación al AQB (HYNIC) y al linker (GSG), el peso molecular del decapeptido conjugado HYNIC-GSG-LHRH fue confirmado por espectrometría masas (MS Spectrum) y por UV-HPLC, dónde la relación m/z del LHRH para (MH)<sup>+</sup> fue de 1589,71 Da y se muestra en las figuras 5 y 6.

### 2. Marcación con <sup>99m</sup>Tc de HYNIC-GSG-LHRH

Primariamente se evaluó por HPLC el perfil del péptido sin marcar mediante el empleo del detector UV en las condiciones mencionadas anteriormente, revelando un Tiempo de Retención (Tr = 7,00 min) (figura 7). Posteriormente se evaluó por HPLC el perfil del

<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> en las condiciones ensayadas, revelando un Tr de 3,63 min; de forma tal de establecer su posible presencia en los distintos conjugados como impureza radioquímica (figura 8).

El conjugado HYNIC-GSG-LHRH se logró marcar con rendimientos superiores a 99,52 ± 0,26% utilizando Tricina como co-ligando a 50 °C durante 20 min. El complejo <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina se logró purificar exitosamente a través de HPLC, con un Tr de aproximadamente 7 min. (figura 9).

El conjugado HYNIC-GSG-LHRH se logró marcar con rendimientos superiores a 99,83 ± 0,29% utilizando Tricina/AN como co-ligando a 50 °C durante 20 min. El complejo <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN se logró purificar por HPLC, presentando un Tr de 6,99 min. (figura 10).

El conjugado HYNIC-GSG-LHRH se logró marcar con rendimientos superiores a 74,98 ± 1,87% utilizando Tricina/EDDA como co-ligando a 50 °C durante 20 min. El complejo <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/EDDA se purificó por HPLC, con un Tr de 7,07 min. (figura 11).

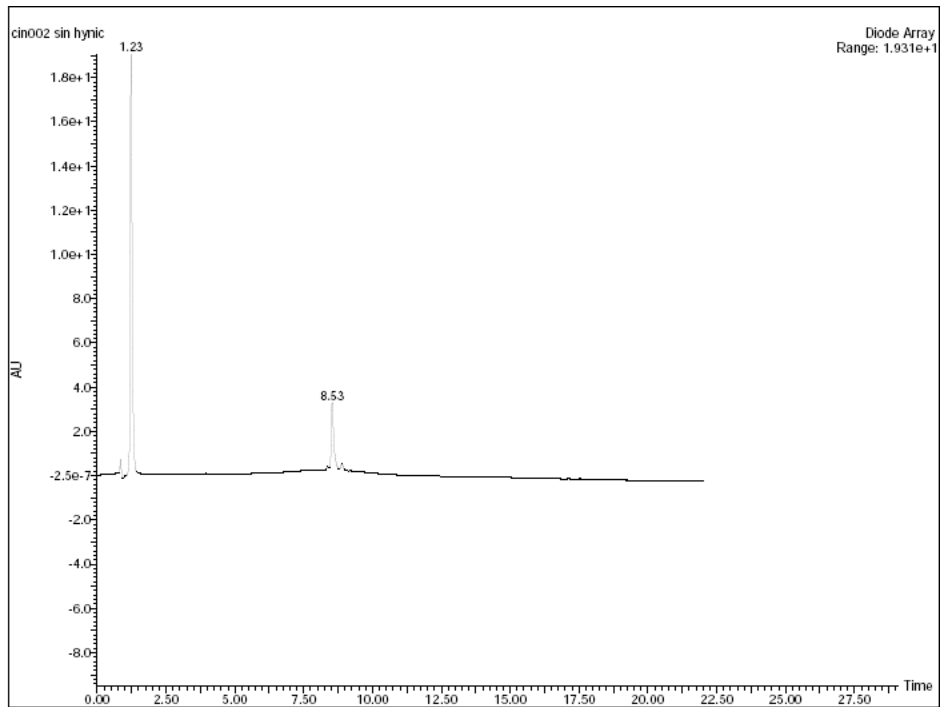


Figura 4. Cromatograma HPLC-UV de LHRH sin HYNIC proporcionado por la empresa Siquimia S.A.

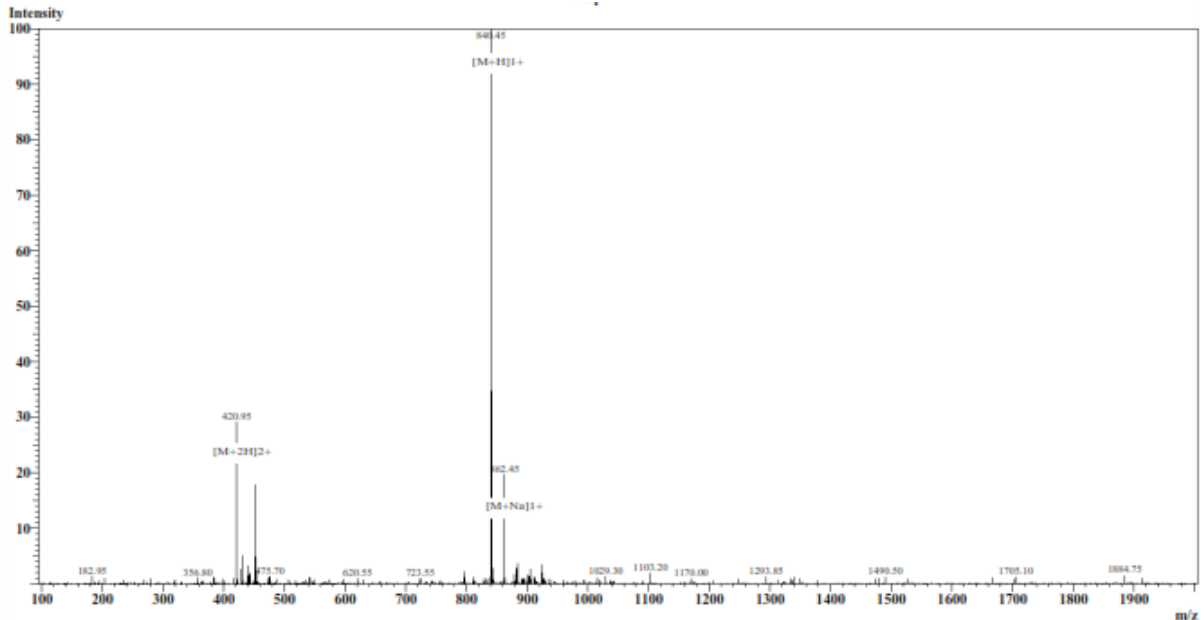


Figura 5. Espectrometría de Masas (MS) de HYNIC-GSG-LHRH (PM:1589, 71 g/mol), proporcionado por la empresa Siquimia S.A.

Por último, el conjugado HYNIC-GSG-LHRH se marcó con rendimientos superiores a  $70,94 \pm 1,27\%$  utilizando EDDA como co-ligando a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 20 min. El complejo  $^{99\text{m}}\text{Tc-HYNIC-GSG-LHRH/}$

EDDA se purificó por HPLC, con un Tr de 7,03 min. (figura 12).

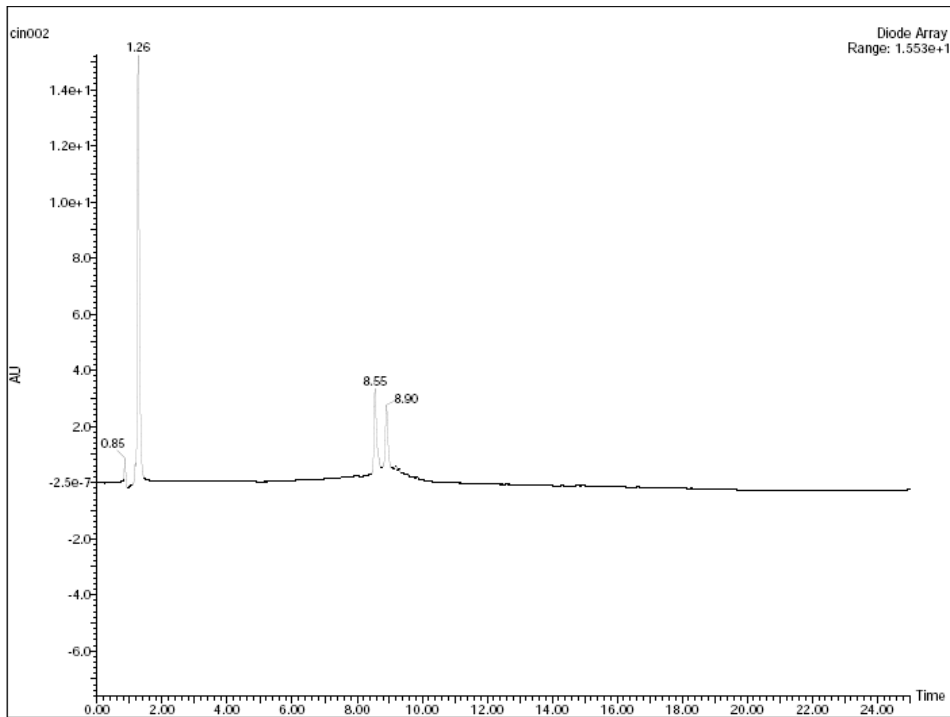


Figura 6. Cromatograma HPLC-UV de HYNIC-GSG-LHRH proporcionado por la empresa Siquimia S.A.

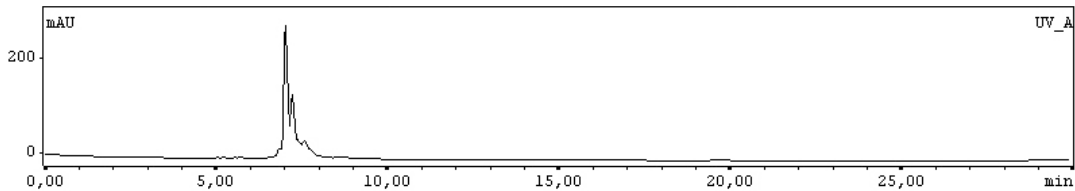


Figura 7. Perfil RT-HPLC del péptido HYNIC-GSG-LHRH empleando detector UV a 280 nm. Tiempo retención (Tr): 7,00 min.

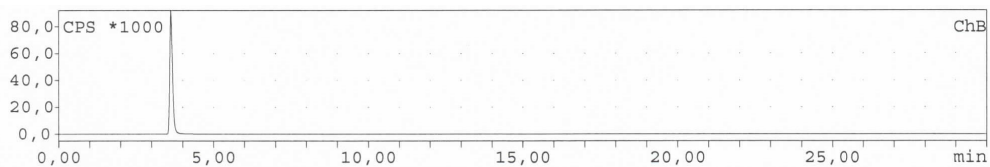


Figura 8. Perfil de RT-HPLC de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ . Tr: 3,63 min.

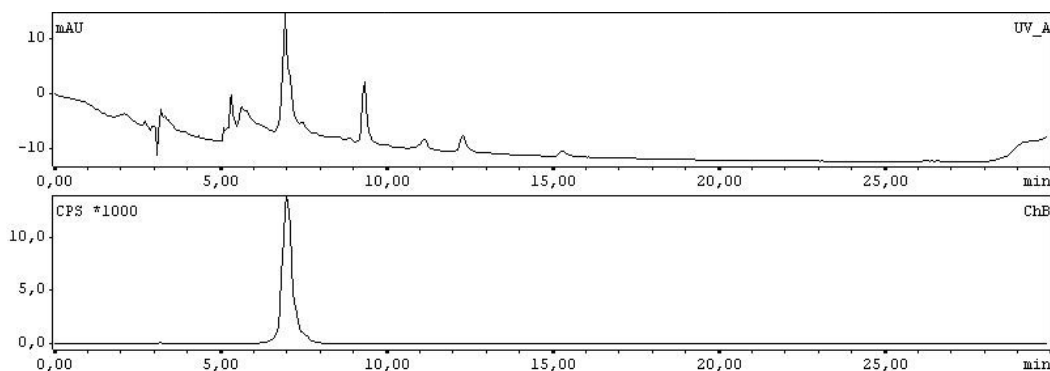
### 3. Coeficiente de Reparto o log P

Se evaluó el carácter hidrofílico de los complejos peptídicos marcados con  $^{99m}\text{Tc}$  utilizando los distintos co-ligandos, mediante el cálculo del coeficiente de reparto octanol-agua. Los valores obtenidos se muestran en la figura 13. En todos los casos el complejo estudiado mostró ser hidrofílico.

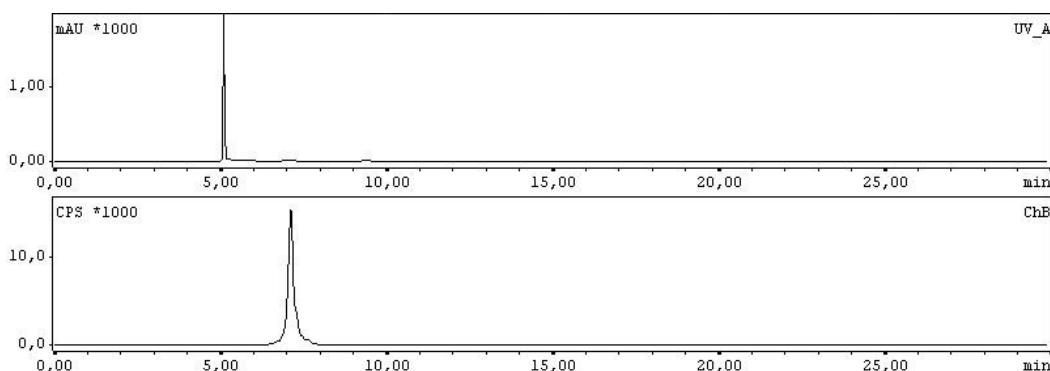
### 4. Estabilidad *in vitro*

Se estudió la estabilidad *in vitro* en PBS de los radioconjugados hasta 4 hs. (figura 14).

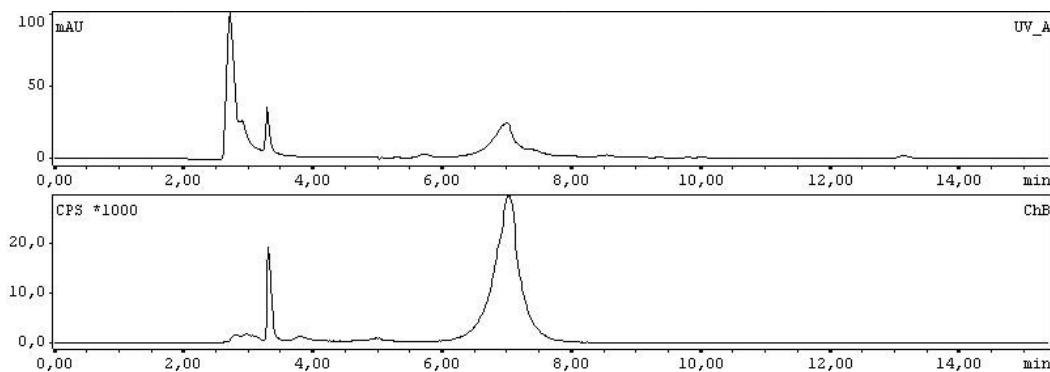
Todos los radiocomplejos resultaron estables, pero sólo los complejos marcados con los co-ligandos Tricina y Tricina/AN presentaron purzas radioquímicas mayores al 90% hasta las 4 hs. del estudio.



**Figura 9.** Perfil de RT-HPLC del  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina en columna C18. Arriba detector UV, Tr= 6,92 min y abajo detector gamma, Tr: 7,00 min.



**Figura 10.** Perfil de RT-HPLC del  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN en columna C18. Arriba detector UV, Tr = 6,99 min y abajo detector gamma, Tr= 7,00 min.



**Figura 11.** Perfil de RT-HPLC del  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/EDDA en columna C18. Arriba detector UV, Tr = 7,00 min y abajo detector gamma, Tr= 7,07 min.

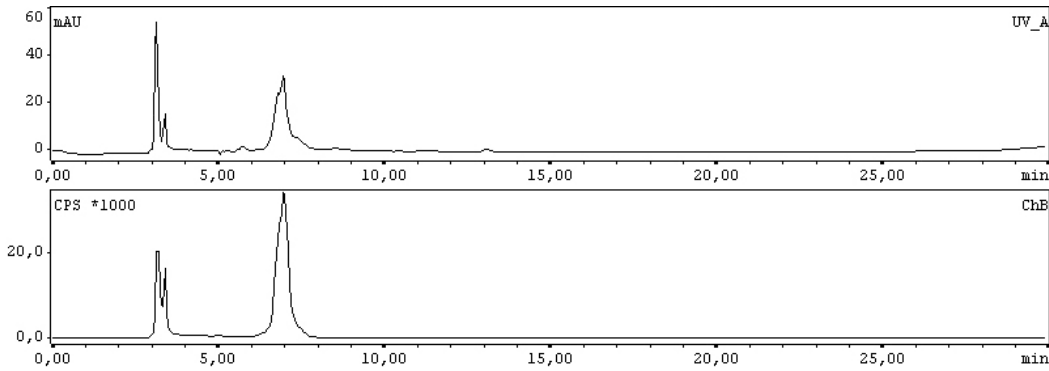
### 5. Estabilidad en SFB

También la estabilidad de los radiocomplejos se analizó en SFB hasta 4 hs. (figura 15). Se observó que tanto el complejo marcado empleando el coligando Tricina y la mezcla Tricina/AN son los complejos que presentan una menor unión a proteínas plasmáticas (siendo más estables a la transquelación), aún a 4 hs. del estudio; en especial el complejo marcado utilizando la mezcla de co-ligandos Tricina/AN.

ción), aún a 4 hs. del estudio; en especial el complejo marcado utilizando la mezcla de co-ligandos Tricina/AN.

### 6. Estabilidad en L-Cisteína

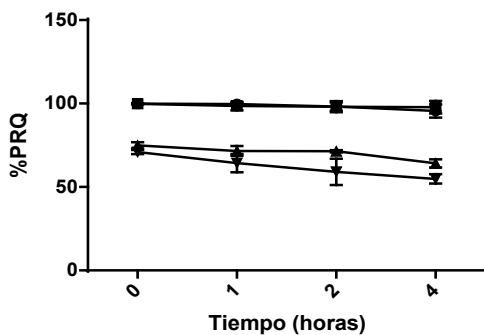
Por último, la estabilidad de los radiocomplejos se analizó mediante un estudio de transquelación en



**Figura 12.** Perfil del detector gamma de RT-HPLC del  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/EDDA en columna C18. Arriba detector UV y abajo detector gamma,  $T_r = 7,03$  min.

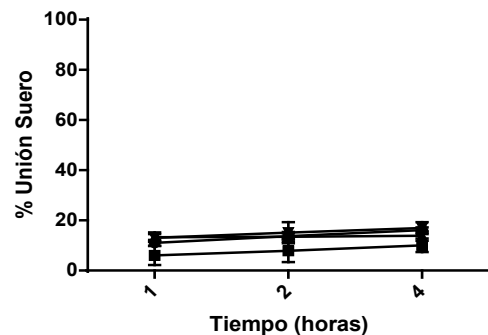
Log P	Tricina	Tricina/AN	Tricina/EDDA	EDDA
	-2.58	-2.82	-1.95	-1,16

**Figura 13.** Estudio del coeficiente de reparto (Log P) de  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/co-ligandos.



- ▼  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/EDDA-LHRH
- ▲  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/Tricina/EDDA-LHRH
- $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/Tricina/NA-LHRH
- ◆  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/Tricina-LHRH

**Figura 14.** Estudios de estabilidad *in vitro* en PBS para los radioconjugados obtenidos. (% PRQ: % pureza radioquímica).



- ▼  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/EDDA-LHRH
- ▲  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/Tricina/EDDA-LHRH
- $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/Tricina/NA-LHRH
- ◆  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG/Tricina-LHRH

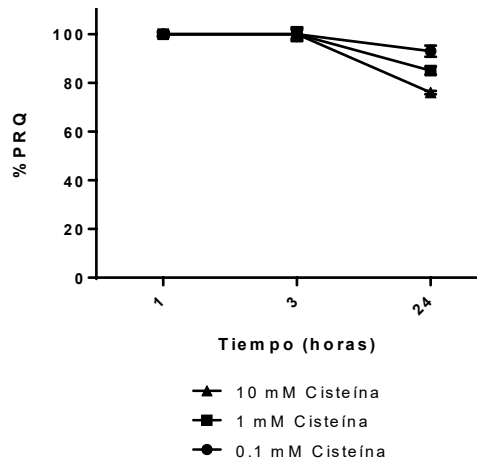
**Figura 15.** Estudios de estabilidad *in vitro* en SFB para los radioconjugados obtenidos.

concentraciones diferentes de L-Cisteína (figura 16). Se realizó únicamente con el complejo marcado con Tricina/AN debido a que fue el que presentó mayor estabilidad tanto en PBS como en SFB.

A una hora de incubación a 37 °C con las distintas concentraciones de L Cisteína, se observó que el complejo marcado empleando la mezcla de co-ligandos Tricina/AN presentó la mayor estabilidad, PRQ de  $100,00 \pm 0,50\%$ ,  $100,00 \pm 0,84\%$  y  $100,00 \pm 1,24\%$  en 0,1 mM, 1,0 mM y 10,0 mM de L Cisteína, respectivamente. A las 3 hs. de incubación, en

las mismas condiciones, se observó que el complejo marcado permanece estable, observando PRQ de  $100,00 \pm 2,85\%$ ,  $100,00 \pm 2,30\%$  y  $100,00 \pm 1,68\%$  en 0,1 mM, 1,0 mM y 10,0 mM de L Cisteína, respectivamente. A 24 hs. de incubación se observó una significativa inestabilidad del complejo peptídico radiomarcado, disminuyendo a  $93,00 \pm 2,30\%$ ,  $85,00 \pm 1,65\%$  y  $76,00 \pm 0,65\%$  en 0,1 mM, 1,0 mM y 10,0 mM de L Cisteína, respectivamente.

Los datos de los estudios de estabilidad demostraron que el complejo marcado empleando mezcla de co-ligandos Tricina/AN presenta la mayor PRQ



**Figura 16.** Estudios de estabilidad *in vitro* en L-Cisteína empleando la mezcla de coligandos Tricina/AN.

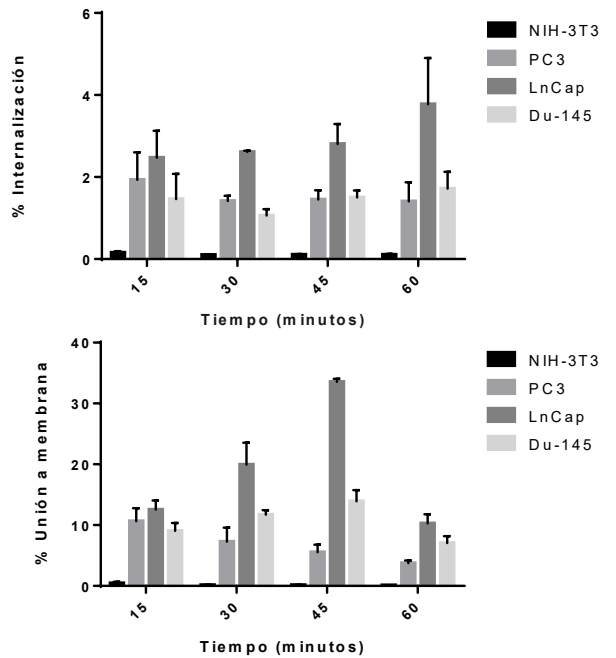
y estabilidad. Es por lo anterior, que tanto los ensayos biológicos *in vitro* como *in vivo*, para evaluar el péptido radiomarcado fueron analizados empleando dicha mezcla de co-ligandos.

**7. Estudios biológicos *in vitro* de unión celular**

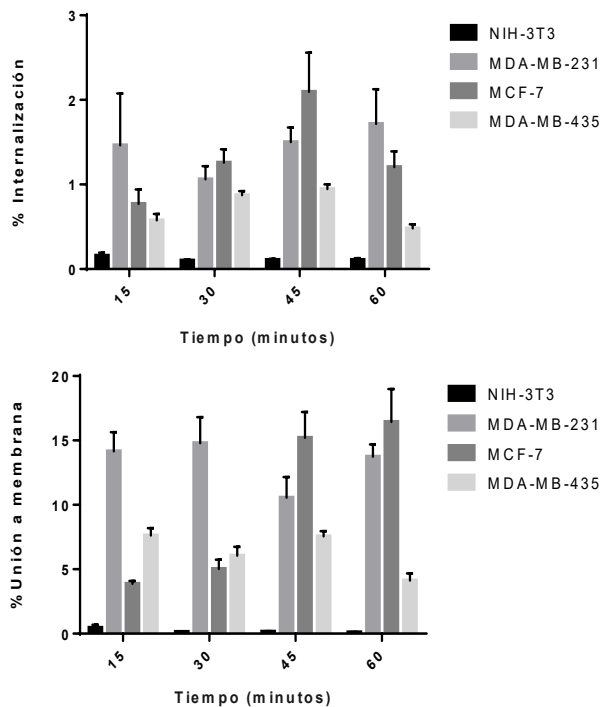
Los estudios *in vitro* de unión y de bloqueo mediante la incubación de <sup>99m</sup>TcHYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN en las líneas PC3, Du-145, LnCap (cáncer de próstata humano) y MCF-7, MDA-MB-231 y MDA-MB-435 (cáncer de mama humana) se realizaron para evaluar la afinidad de la unión específica del conjugado <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN al LHRH-R.

En la línea empleada como control, la NIH-3T3, se observó tanto una unión como internalización despreciable del complejo radiomarcado. Presentando una unión de 0,46 ± 0,23%, 0,14 ± 0,02%, 0,15 ± 0,04%, 0,10 ± 0,016% a los 15, 30, 45 y 60 min. respectivamente (figuras 17 y 18, abajo); mientras que una internalización de 0,16 ± 0,03%, 0,10 ± 0,01%, 0,11 ± 0,01%, 0,11 ± 0,02% a los mismos tiempos ensayados (figuras 17 y 18, arriba).

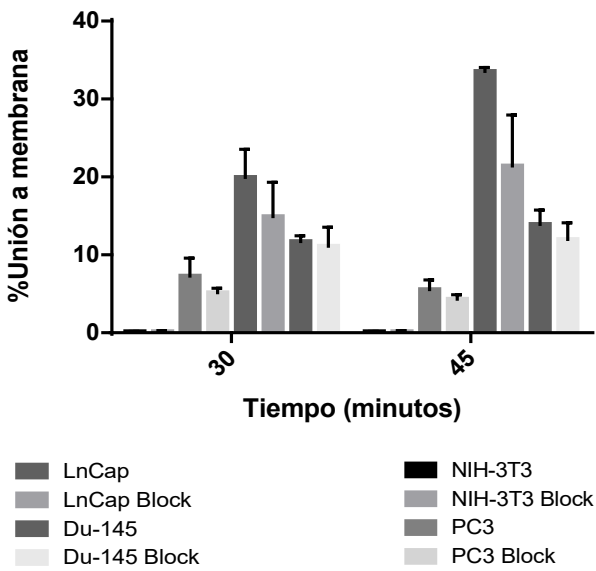
Los estudios de unión *in vitro* llevados a cabo en las líneas celulares PC3, Du-145 y LnCap revelaron la efectiva unión e internalización del complejo radiomarcado. En la línea PC3, se observó una unión específica de 10,65 ± 2,13%, 7,28 ± 2,3%, 5,56 ± 1,21% y 3,77 ± 0,43% a los 15, 30, 45 y 60 min., respectiv-



**Figura 17:** Porcentaje de Internalización (arriba) y unión a membrana (abajo) del complejo <sup>99m</sup>TcHYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN en las líneas NIH-3T3, PC3, Du-145 y LnCap (próstata).



**Figura 18:** Porcentaje de Internalización (arriba) y unión a membrana (abajo) del complejo <sup>99m</sup>TcHYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN en las líneas NIH-3T3, MDA-MB-231, MCF-7 y MDA-MB-435 (mama).



**Figura 19:** Porcentaje de unión a membrana y bloqueo de célula NIH-3T3, PC3, LnCap y Du-145 (próstata).

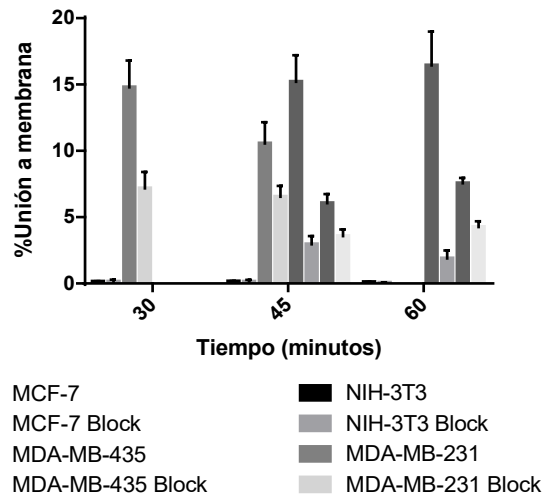
amente; mientras que la internalización fue de  $1,93 \pm 0,66\%$ ,  $1,47 \pm 0,12\%$ ,  $1,45 \pm 0,23\%$  y  $1,46 \pm 0,46\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente.

En la línea celular LnCap, la unión fue de  $12,54 \pm 1,51\%$ ,  $19,95 \pm 3,60\%$ ,  $33,54 \pm 0,51\%$  y  $10,27 \pm 1,53\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min. respectivamente; mientras que presentó una internalización de  $2,47 \pm 0,65\%$ ,  $2,61 \pm 0,03\%$ ,  $2,80 \pm 0,45\%$  y  $3,78 \pm 1,12\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente.

Por último, en la línea celular Du-145, la unión fue de  $9,04 \pm 1,29\%$ ,  $11,73 \pm 0,72\%$ ,  $13,93 \pm 1,84\%$  y  $7,06 \pm 1,10\%$ ; mientras que presentó una internalización de  $1,46 \pm 0,61\%$ ,  $1,06 \pm 0,15\%$ ,  $1,50 \pm 0,17\%$  y  $1,72 \pm 0,41\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente.

Los estudios de unión *in vitro* llevados a cabo en las líneas celulares MCF-7, MDA-MB-231 y MDA-MB-435 revelaron la efectiva unión e internalización del complejo radiomarcado.

En la línea MCF-7, se observó una unión específica de  $3,88 \pm 0,21\%$ ,  $5,03 \pm 0,72\%$ ,  $15,21 \pm 1,99\%$  y  $16,44 \pm 2,55\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente; mientras que la internalización fue de  $0,77 \pm 0,17\%$ ,  $1,26 \pm 0,16\%$ ,  $2,09 \pm 0,46\%$  y  $1,20 \pm 0,18\%$  y  $1,46 \pm$



**Figura 20:** Porcentaje de unión a membrana y bloqueo de célula NIH-3T3, MDA-MB-231 y MCF-7 y MDA-MB-435 (mama).

$0,46\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente.

En la línea celular MDA-MB-231, la unión fue de  $14,16 \pm 1,48\%$ ,  $14,79 \pm 2,02\%$ ,  $10,56 \pm 1,59\%$  y  $13,74 \pm 0,96\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente; mientras que presentó una internalización de  $1,46 \pm 0,61\%$ ,  $1,06 \pm 0,15\%$ ,  $1,50 \pm 0,17\%$ ,  $1,72 \pm 0,4\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente.

Por último, en la línea celular MDA-MB-435, la unión fue de  $7,63 \pm 0,56\%$ ,  $6,06 \pm 0,69\%$ ,  $7,55 \pm 0,40\%$  y  $4,12 \pm 0,55\%$ ; mientras que presentó una internalización de  $0,55 \pm 0,07\%$ ,  $0,87 \pm 0,05\%$ ,  $0,95 \pm 0,06\%$  y  $0,48 \pm 0,05\%$  a los 15, 30, 45 y 60 min., respectivamente.

Se observó que al emplear  $20 \mu\text{g}$  de HYNIC-GSG-LHRH sin marcar previamente a la adhesión del complejo del péptido radiomarcado, presentó una inhibición del  $27,46\%$  y  $17,92\%$  en la línea PC3, a los 30 y 45 minutos respectivamente. La línea LnCap presentó bloques de  $25,23\%$  y  $36,16\%$  en los dos tiempos evaluados (30 y 45 minutos respectivamente), mientras que en la línea DU-145 presentó una inhibición de la unión de  $5,26\%$  y  $13,9\%$  en los dos tiempos evaluados (30 y 45 minutos respectivamente) (figura 19).

Por su parte, en la línea MDA-MB-231 se observó una inhibición del  $51,45\%$  y  $38,00\%$  en los dos tiempos

evaluados (30 y 45 minutos respectivamente); la línea celular MCF-7 presentó una inhibición del 80,61% y 88,46% en los dos tiempos evaluados (45 y 60 minutos respectivamente). Por último, la línea MDA-MB-435 presentó una inhibición del 33,91% y 43,73% a los 45 y 60 minutos respectivamente (figura 20).

Esto demuestra la especificidad de la unión del radioconjugado al LHRH-R en todas líneas celulares de cáncer de próstata y mama humano ensayadas.

### 8. Estabilidad biológica *in vivo*: estudios de biodistribución

La evaluación biológica *in vivo* del complejo  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN se llevó a cabo mediante la realización de estudios de biodistribución en ratones Balb/C normales. Las biodistribuciones fueron realizadas luego de 0,5, 1 y 2 hs. (n=4) (figuras 21 y 22). La eliminación de  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-LHRH/Tricina/AN fue muy rápida, observándose un  $64,89 \pm 3,54\%$  Act,  $73,38 \pm 7,84\%$  Act,  $88,20 \pm 2,01\%$  Act y  $73,02 \pm 7,52\%$  Act en vejiga a 0,5, 1, 2 y 24 hs., respectivamente. A su vez se observó una retención inespecífica en riñones e hígado. La captación en el resto de órganos normales fue < de 2% Act/g.

### DISCUSIÓN

Pudimos realizar un estudio preliminar del decapepéptido LHRH como futuro agente diagnóstico en cáncer de mama y próstata, por medio de la modificación empleando un linker GSG y la conjugación con el agente bifuncional HYNIC, pudiendo marcar de forma óptima con el radionucleido  $^{99m}\text{Tc}$ .

Según el uso del coligando se lograron variadas actividades específicas, todas superiores al 70%. Como evaluación pre-clínica, realizamos estudios *in vitro* de estabilidad, unión a proteínas y lipofilicidad a modo de predecir la posible distribución en el organismo. El estudio de pureza radioquímica de los cuatro conjugados y su subsiguiente purificación por HPLC permitió detectar la presencia de los conjugados marcados con  $^{99m}\text{Tc}$  de forma eficiente. En algunos casos se observó la presencia de más de un pico, pudiendo

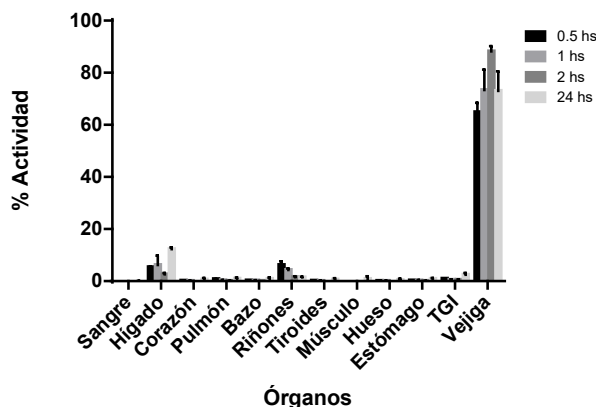


Figura 21: Estudio de biodistribución en ratones Balb/C normales a 0,5, 1, 2 y 4 h p.i. de  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN. % Actividad (% Act) (n=4, % Act  $\pm$  DS).

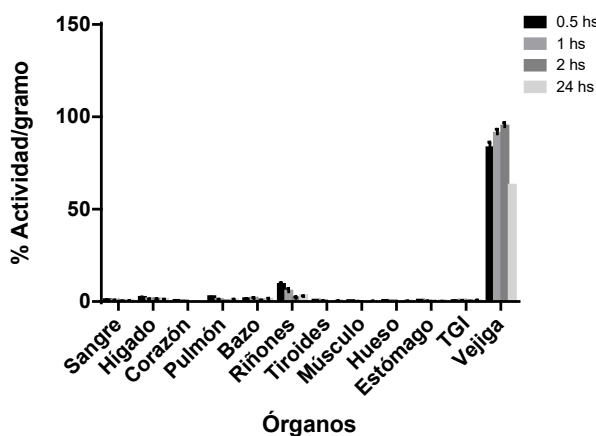


Figura 22: Estudio de biodistribución en ratones Balb/C normales a 0,5, 1, 2 y 4 h p.i. de  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN. % Actividad/gramo (% Act/g) (n=4, % Act/g  $\pm$  DS). TGI: Tracto gastrointestinal.

esto ser debido a la generación de diferentes isómeros formados o formas de conjugación del HYNIC. Las mayores puridades radioquímicas se lograron al utilizar Tricina y Tricina/AN como co-ligandos; estos también mostraron ser los más hidrofílicos (coeficiente de reparto) y los que presentan mayor estabilidad, tanto en PBS como en SFB 37 °C hasta 4 horas. El que mayor estabilidad presenta de estos dos es el complejo que utiliza Tricina/AN, por lo cual evaluamos la estabilidad de este hasta 24 hs. con distintas cantidades de L-Cisteína, logrando buenos resultados aún a concentraciones de 10 mM de cisteína.

Debido a lo anterior el conjugado  $^{99m}\text{Tc}$  HYNIC-GSG-



LHRH/Tricina/AN fue el seleccionado para llevar a cabo los estudios biológicos *in vitro* e *in vivo*.

Los estudios biológicos *in vitro* en las líneas celulares de próstata y mama, así como en la línea NIH-3T3 de fibroblastos normales (control negativo) se realizaron para evaluar la afinidad de unión del conjugado  $^{99m}\text{Tc}$ -cHYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN al LHRH-R. Se observó que el complejo radiomarcado presentó una moderada a elevada unión en todas las líneas evaluadas (5-20%) en comparación con la línea control (< 0.5%). Se observó a su vez una inhibición > 50% en la mayoría de las líneas al emplear el péptido sin marcar, lo que indica la especificidad de la unión del radioconjugado al LHRH-R expresado por las líneas celulares. Por último se verificó la efectiva estabilidad observada del conjugado  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN mediante estudios de biodistribución en ratones Balb/C normales, revelando un perfil de biodistribución muy adecuado para el desarrollo de un agente de imagen diagnóstico, con elevada eliminación renal y baja retención inespecífica a nivel renal (más del 60% las 0,5 hs. p.i.), la cual nos alentaría a realizar futuras imágenes moleculares en modelos murinos portadores de tumores de mama u próstata inducidos.

### CONCLUSIONES

Mediante el presente estudio logramos llevar a cabo la optimización de la marcación con  $^{99m}\text{Tc}$  del conjugado HYNIC-GSG-LHRH de forma fácil, rápida y sencilla. Se encontró que el complejo  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN presenta la > PRQ y estabilidad de todos los ensayos realizados, no requiriendo una posterior purificación.  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-GSG-LHRH/Tricina/AN radiomarcado por este método reveló una adecuada afinidad de unión por su receptor en modelos *in vitro* de cáncer de mama y próstata, como también presentó un perfil de eliminación ideal, representando de esta forma un prometedor agente de imagen molecular para el diagnóstico de la expresión del receptor de LHRH oncológico. A futuro pretendemos realizar estudios imagenológicos en modelos tumorales de cáncer de mama y próstata.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII, Uruguay), a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) y al programa PE-DECIBA-Química. No existen conflictos de intereses.

### REFERENCIAS

- (1) World Health Organization [base de datos en internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory; 2018 [fecha de acceso 19 ene 2018]. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/>.
- (2) Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer. Situación epidemiológica del Uruguay en relación al cáncer. Montevideo; 2018 [actualizada enero 2018; fecha de acceso 5 ene 2018]. Disponible en: [http://www.comisioncancer.org.uy/uc\\_513\\_1.html](http://www.comisioncancer.org.uy/uc_513_1.html).
- (3) Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer. Cáncer de mama en Uruguay. Montevideo, 2018 [actualizada ene 2018; fecha de acceso 5 ene 2018]. Disponible en: [http://www.comisioncancer.org.uy/uc\\_517\\_1.html](http://www.comisioncancer.org.uy/uc_517_1.html).
- (4) World Health Organization [base de datos en internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory; 2018 [fecha de acceso 19 ene 2018]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>.
- (5) Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer. Cáncer en Uruguay 2010-2014, principales sitios (ordenados por incidencia). Montevideo, 2018 [actualizada ene 2018; fecha de acceso 5 feb 2018]. Disponible en: [http://www.comisioncancer.org.uy/uc\\_209\\_1.html](http://www.comisioncancer.org.uy/uc_209_1.html).
- (6) Weissleder R, Mahmood U. Mol Imag Radiol 2001; 219(2):316-33.
- (7) Nichol C, Kim EE. Molecular imaging and gene therapy. J Nuc Med 2001; 42(9):1368-1374.
- (8) Reilly RM, Sandhu J, Alvarez-Diez TM, Gallinger S, Kirsh J, Stern H. Problems of Delivery of Monoclonal Antibodies. Pharmaceutical and pharmacokinetic solutions. Clinical Pharmacokinetics 1995; 28(2):126-142.

- (9) Ladner RC, Sato AK, Gorzelany J, de Souza M. Phage display-derived peptides as therapeutic alternatives to antibodies. *Drug Discov Today* 2004; 9(12):525-529.
- (10) Stojilkovic SS, Reinhart J, Catt KJ. Gonadotropin-releasing hormone receptors: structure and signal transduction pathways. *Endocr Rev* 1994; 15(4):462-499.
- (11) Schally AV. Hypothalamic hormones: from neuroendocrinology to cancer therapy. *Anticancer Drugs* 1994; 5(2):115-130.
- (12) Gründker C, Völker P, Griesinger F, Ramsawamy A, Nagay A, Schally AV, et al. Antitumor effects of the cytotoxic luteinizing hormone-releasing hormone analog AN-152 on human endometrial and ovarian cancers xenografted into nude mice. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187(3):528-537.
- (13) Chen A, Kaganovsky E, Rahimipour S, Ben-Aroya N, Okon E, Koch Y. Two Forms of Gonadotropin-releasing Hormone (GnRH) Are Expressed in Human Breast Tissue and Overexpressed in Breast Cancer: A Putative Mechanism for the Antiproliferative Effect of GnRH by Down-Regulation of Acidic Ribosomal Phosphoproteins P1 and P2. *Cancer Res* 2002; 62(4):1036-1044.
- (14) Schally A, Comaru-Schally AM. Hypothalamic and other peptide hormones. En: Frei BR, Kufe E, Morton DE, Weischelbaum DL, et al. *Holland-Frei Cancer Medicine*. Chapter 61. 6a. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997.
- (15) Schally AV, Comaru-Schally AM, Nagy A, Kovacs M, Szepeshazi K, Plonowski A, et al. Hypothalamic hormones and cancer. *Front Neuroendocrinol* 2001; 22(4):248-91.
- (16) Fekete M, Wittliff JL, Schally AV. Characteristics and Distribution of Receptors for [D-TRP6]-Luteinizing Hormone-Releasing Hormone, Somatostatin, Epidermal Growth Factor, and Sex Steroids in 500 Biopsy Samples of Human Breast Cancer. *J Clin Lab Anal* 1989; 3(3):137-147.
- (17) Ben-Yehudah A, Lorberboum-Galski H. Targeted cancer therapy with gonadotropin-releasing hormone chimeric proteins. *Expert Rev Anticancer Ther* 2004; 4(1):151-161.
- (18) Pati D, Habibi HR. Inhibition of human hepatocarcinoma cell proliferation by mammalian and fish gonadotropin-releasing hormones. *Endocrinol* 1995; 136(1):75-84.
- (19) Krebs LJ, Wang X, Nagy A, Schally AV, Prasad PN, Liebow C. A conjugate of doxorubicin and an analog of Luteinizing Hormone-Releasing Hormone shows increased efficacy against oral and laryngeal cancers. *Oral Oncology* 2002; 38(7):657-663.
- (20) Van Groeninghen JC, Kiesel L, Winkler D, Zwirner M. Effects of luteinising-hormone-releasing hormone on nervous-system tumours. *Lancet* 1998; 352(9125):372-373.
- (21) Moretti RM, Montagnani Marelli M, Van Groeninghen JC, Limota P. Locally Expressed LHRH Receptors Mediate the Oncostatic and Antimetastatic Activity of LHRH Agonists on Melanoma Cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(8):3791-3797.
- (22) Friess H, Büchler M, Kiesel L, Krüger M, Beger HG. LH-RH receptors in the human pancreas. *Int J Pancreatol* 1991; 10(2):151-159.
- (23) Sion-Vardi N, Kaneti J, Segal-Abramson T, Giat J, Levy J, Sharoni Y. Gonadotropin-releasing hormone specific binding sites in normal and malignant renal tissue. *J Urol* 1992; 148(5):1568-1570.
- (24) Liu SV, Tasao-Wei DD, Xiong S, Groshen S, Dorff TB, Quinn DI, et al. Phase I, dose-escalation study of the targeted cytotoxic LHRH analog AEZS-108 in patients with castration- and taxane-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2014; 20(24):6277-83.
- (25) Engel JB, Schally AV, Dietl J, Rieger L, Hönig A. Targeted therapy of breast and gynecological cancers with cytotoxic analogues of peptide hormones. *Mol Pharm* 2007; 4(5):625-658.



- (26) Meszaros LK, Dose A, Biagini SCG, Blower PJ. Synthesis and evaluation of analogues of HYNIC as bifunctional chelators for technetium. *Dalton Transactions* 2011; 40(23):6260-6267.
- (27) Abrams MJ, Juweid M, tenKate CI, Schwartz DA, Hauser MM, Gaul FE, et al. *Technetium-99m-Human Polyclonal IgG Radiolabeled via the Hydrazino Nicotinamide Derivative for Imaging Focal Sites of Infection in Rats*. *J Nucl Medicine* 1990; 31(12):2022-2028.
- (28) Jurisson S, Berning D, Jia W, Ma D. Coordination Compounds in Nuclear Medicine. *Chem Rev* 1993; 93(3):1137-56.
- (29) Dilworth JR, Parrott JS. The biomedical chemistry of technetium and rhenium. *Chem Soc Rev* 1998; 27(1):43-55.
- (30) Camacho X, Machado CL, García MF, Fernández M, Oddone N, Benech J. Tocilizumab labeling with <sup>99m</sup>Tc via HYNIC as a molecular diagnostic agent for Multiple Myeloma. *Anticancer Agents Med Chem* 2017; 17(9):1267-1277.
- (31) Camacho X, Machado CL, García MF, Gambini JP, Banchemo A, Fernández M, et al. Technetium-99m- or Cy7-Labeled Rituximab as an Imaging Agent for Non-Hodgkin Lymphoma. *Oncology* 2017; 15(92):229-42.
- (32) Calzada V, García MF, Alonso-Martínez LM, Camacho X, Goicochea E, Fernández M, et al. Fab(nimotuzumab)-HYNIC-<sup>99m</sup>Tc: Antibody fragmentation for molecular imaging agents. *Anticancer Agents Med Chem* 2016; 16(9):1184-9.
- (33) Camacho X, García MF, Calzada V, Fernández M, Alonso O, Gambini JP, et al. <sup>99m</sup>Tc-labeled Bevacizumab via HYNIC for Imaging of Melanoma. *J Anal Oncology* 2014; 3:53-64.
- (34) García MF, Calzada V, Camacho X, Goicochea E, Gambini JP, Quinn TP, et al. Microwave-assisted Synthesis of HYNIC Protected Analogue for <sup>99m</sup>Tc Labeled Antibody. *Curr Radiopharm* 2014; 7(2):84-90.
- (35) Hnatowich J, Virzi F, Fogarasi M, Rusckowski M, Winnard P Jr. Can a cysteine challenge assay predict the in vivo behavior of <sup>99m</sup>Tc-labeled antibodies? *Nucl Med Biol* 1994; 21(8):1035-44.



# Primer brote de *Klebsiella pneumoniae* productora de Carbapenemasa tipo KPC en un hospital de tercer nivel.

## First outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing Carbapenemase type KPC in a tertiary hospital

Graciela Borthagary <sup>a</sup>, María Bustamante <sup>b</sup>, Mercedes Castro <sup>c</sup>, Tania Castro <sup>d</sup>, Gustavo Gagliano <sup>e</sup>, Adriana Nabón <sup>e</sup>, Martha Pacaluk <sup>f</sup>, Paula Roper <sup>g</sup>.

(a) Dpto. BIOCLIN. Facultad de Química. Udelar. Montevideo. Uruguay.

(b) Comité de Infecciones del H.C.FF.AA. Montevideo. Uruguay.

(c) Laboratorio de Análisis Clínicos del H.C.FF.AA. Montevideo. Uruguay.

(d) Ministerio de Salud Pública. Dirección General de Salud. Montevideo. Uruguay.

(e) Ministerio de Salud Pública. Departamento de Vigilancia en Salud. Montevideo. Uruguay.

(f) Ministerio de Salud Pública. División Epidemiología. Montevideo. Uruguay.

(g) Servicio de Microbiología. Dpto. L.A.C. Hospital Central de las Fuerzas Armadas. Montevideo. Uruguay.

### RESUMEN

**Antecedentes:** Las infecciones por Enterobacterias resistentes a carbapenemes por producción de carbapenemasa tipo KPC, han emergido como un importante desafío en los centros de salud. Actualmente *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas (KpnKPC) es la especie de Enterobacteriaceae resistente a carbapenemes, más frecuentemente aislada. Su importancia radica en la capacidad que adquiere el microorganismo para inactivar a todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, limitando las opciones terapéuticas.

En el año 2011 se identificó el primer brote de KpnKPC en el Hospital Central de las Fuerzas Armadas de Uruguay, desafiando las medidas de prevención y control utilizadas hasta el momento.

**Objetivo:** El objetivo del estudio es caracterizar el brote de KpnKPC en este centro asistencial ocurrido en el período 2011 a 2015 y transmitir las lecciones aprendidas relacionadas con la implementación y la efectividad de las medidas de control.

**Materiales y métodos:** Estudio observacional descriptivo, utilizando como fuentes la información clínica, epidemiológica y de laboratorio relevada durante el brote y posterior análisis.

**Resultados:** Entre 2011 y 2015 un total de 28 pa-

cientes se colonizaron o infectaron con KpnKPC en el H.C.FF.AA. El análisis de la electroforesis en gel de campo pulsado (PGFE) demostró la presencia de un solo clon. Todos los pacientes, menos el caso índice tuvieron contacto previo con un paciente con infección y/o colonización.

**Conclusiones:** Se describe el primer brote por KpnKPC en una institución pública, de tercer nivel, cuyo control representó un importante desafío institucional con la puesta en práctica de un programa de control integrado, que influyó en la dinámica del proceso asistencial y tuvo un importante impacto económico.

**PALABRAS CLAVE:** Carbapenémicos; Enterobacteriaceae Resistentes a los Carbapenémicos; Infecciones por *Klebsiella*; *Klebsiella pneumoniae*, Monitoreo Epidemiológico; Resistencia betalactámica.

### ABSTRACT

**Background:** Enterobacterial infections resistant to carbapenems due to the production of carbapenemase type KPC have emerged as a major challenge in health centers. Currently, *Klebsiella pneumoniae* producer of carbapenemasas (KpnKPC) is the most frequently isolated species of Enterobacteriaceae resistant to carbapenems.

Recibido para evaluación: Mayo 2018

Aceptado para publicación: Setiembre 2018

Correspondencia: Av. 8 de Octubre 3050. C.P.11600. Montevideo. Uruguay. Tel.: (+598)24876666 int. 1238.

E-mail de contacto: ggagliano@dnsffaa.gub.uy



Its importance lies in the capacity acquired by the microorganism to inactivate all  $\beta$ -lactam antibiotics, limiting the therapeutic options.

In 2011, the first outbreak of KpnKPC was identified in the Armed Forces Central Hospital of Uruguay, challenging prevention and control measures applied up to now.

**Objective:** The objective of the study is to characterize the outbreak of KpnKPC in this health center that occurred in the period 2011 to 2015. and release lessons learned related to the implementation and effectiveness of control measures.

**Materials and methods:** Descriptive observational study, using as sources the clinical, epidemiological and laboratory information collected during the outbreak and subsequent analysis.

**Results:** Between 2011 and 2015 a total of 28 patients were colonized or infected with KpnKPC in the HCFFAA. The pulsed-field gel electrophoresis (PGFE) analysis showed the presence of a single clone. All patients, except the index case, had a previous contact with a patient with infection and / or colonization.

**Conclusions:** It is described the first outbreak by KpnKPC in a tertiary health care public institution, whose control represented an important institutional challenge with the implementation of an integrated control program, which influenced the dynamics of the care process and had an important economic impact.

**KEY WORDS:** Carbapenems; Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae; Klebsiella Infections; Klebsiella pneumoniae; Epidemiological Monitoring; beta-Lactam Resistance.

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias multiresistentes se presentan como un problema emergente de salud pública, afectando tanto a nivel comunitario como hospitalario.

En cuanto a las infecciones asociadas a la atención en salud, las bacterias multiresistentes causan cerca de 60% de todas las infecciones en los Estados Unidos. En los países de bajos y medianos ingresos, esta cifra puede ser mayor. El impacto tanto clínico

como económico se magnifica en las unidades de cuidados intensivos, constituyendo una amenaza para la seguridad del paciente. Particularmente con las bacterias Gram negativas, a nivel mundial durante la última década, se ha registrado un aumento sostenido en el porcentaje de las que son resistentes a todas las familias de antibióticos y especialmente a los carbapenem (1).

Las infecciones por enterobacterias resistentes a carbapenemes por producción de carbapenemasas (EPC) han emergido como un importante desafío en los centros de salud. Actualmente, *Klebsiella pneumoniae* (bacilo Gram Negativo) resistente a carbapenemes por producción de carbapenemasas tipo KPC (KpnKPC) es la especie más frecuentemente aislada (2).

La descripción inicial de infecciones por gérmenes productores de KPC, así como los primeros brotes hospitalarios, se registraron en Carolina del Norte (Estados Unidos) en 1996, en centros de cuidados intensivos. Estos aislamientos fueron resistentes a todos los betalactámicos, incluyendo carbapenems (2). En la actualidad Kpn KPC se han extendido a todo el mundo, alcanzando características endémicas, identificándose este tipo de enterobacterias en 25 países en los 5 continentes. El primer reporte internacional de infección por KPC fue documentado en París (Francia) en 2005, en un paciente previamente tratado en Nueva York, sin que se documentaran otros aislamientos similares en ese periodo de tiempo en dicho hospital. Fue, por tanto, considerado como transmisión intercontinental de KPC. Posterior a esta descripción hay varios reportes de casos de transmisión asociados a migración geográfica de pacientes, especialmente, en Israel y en Grecia. En Latinoamérica, el primer reporte de aislamientos de Kpn KPC se realizó en Colombia (Medellín) en 2005, posteriormente se identificó en Brasil (2006) y Argentina (3).

Los aislamientos de Kpn KPC son resistentes a casi todos los antibióticos disponibles, y la infección con KpnKPC ha sido asociada con altas tasas de morbimortalidad, especialmente en los pacientes con inter-

nación prolongada, en estado crítico y multi-invadidos por procedimientos diagnósticos o de tratamiento (4). La resistencia a carbapenemes en enterobacterias se debe fundamentalmente a:

- La producción de betalactamasas (BLEE, AmpC), más la disminución de permeabilidad, que transforman bacterias sensibles en resistentes a Carbapenemes. Esta situación no descarta a los carbapenemes como opción terapéutica ya que los mismos no son inactivados por este tipo de enzimas (6).
- La producción de carbapenemasas, enzimas que tienen la capacidad de hidrolizar a los carbapenemes inactivándolos, se encuentran asociadas a integrones. Los integrones son estructuras génicas que capturan y almacenan genes de resistencia y que se transmiten por plásmidos o transposones, confiriéndoles a los aislamientos portadores de ello gran capacidad de transferencia intrahospitalaria (6).

Además, se asocian a otros mecanismos de resistencia que afectan a los aminoglucósidos (Gentamicina y Amikacina), Quinolonas (Ciprofloxacina) y otros betalactámicos activos contra microorganismos resistentes (Piperacilina/Tazobactam, Aztreonam).

En la bibliografía se reporta que el trasplante de órganos o células madre es uno de los factores predisponentes para el desarrollo de una infección por Kpn KPC (7).

En setiembre de 2011, se identificó el primer aislamiento de KpnKPC en una institución pública, de tercer nivel, con 470 camas, 160.000 usuarios y servicios altamente especializados. El brote se presentó en 5 episodios, con períodos interbrote sin casos y el control definitivo del brote requirió 30 meses.

## OBJETIVO

El objetivo del estudio es caracterizar el brote de Kpn KPC en el Hospital Central de la Fuerzas Armadas (H.C.FF.AA.) ocurrido en el período 2011 a 2015 y transmitir las lecciones aprendidas relacionadas con la implementación y la efectividad de las medidas de control.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, descriptivo retrospectivo de un brote de *Klebsiella pneumoniae* productora de Carbapenemasa tipo KPC (KpnKPC) en una institución sanitaria de Montevideo, Uruguay. El período del estudio comprendió desde setiembre de 2011 a febrero de 2015.

Las fuentes de datos utilizadas fueron las historias clínicas de los pacientes y los resultados del Laboratorio de Análisis Clínicos (LAC) del H.C.FF.AA.

Se registraron los aspectos clínicos, microbiológicos y epidemiológicos relevantes de los pacientes con infección y colonización.

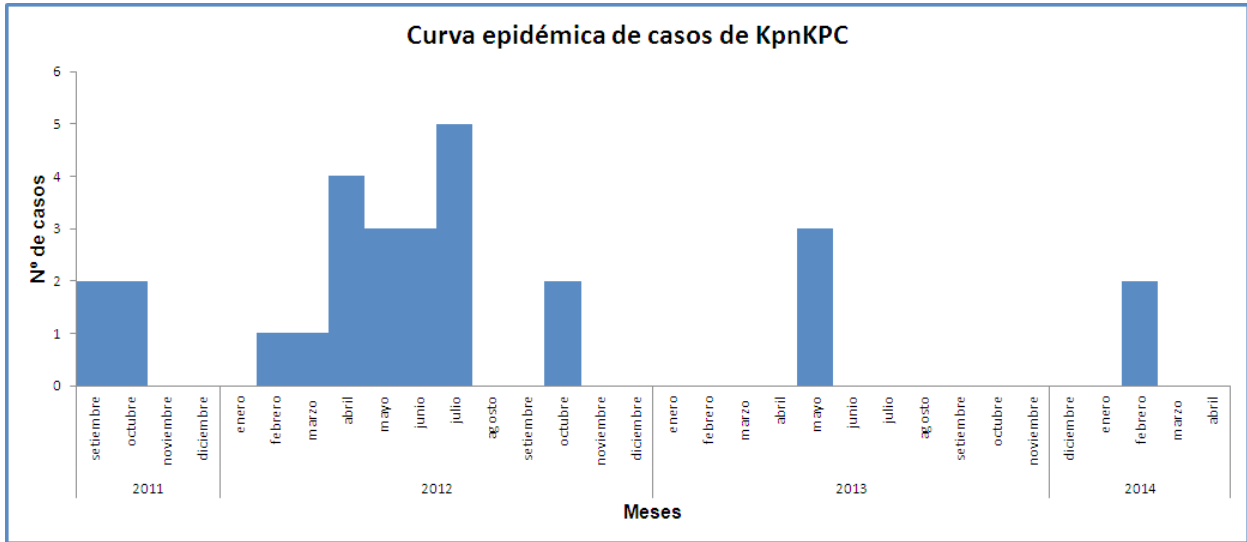
A los efectos de la contención del brote, se acordaron las siguientes definiciones:

*Infectado*: caso en el cual se aisló KpnKPC en una muestra clínica y el paciente presentaba sintomatología infecciosa concordante;

*Colonizado*: caso en el que se identificó el germen en una muestra clínica o hisopado rectal y no presentaban sintomatología infecciosa concordante;

*Contacto*: pacientes que estuvieron internados concomitantemente con el caso, en el mismo Servicio y/o que hayan sido asistidos por el mismo personal. Se realizó un análisis estadístico descriptivo de las variables.

Los aislamientos de KpnKPC fueron identificados de la siguiente manera. El LAC de la Institución realizó las pruebas de tamizaje para la sospecha de la producción de carbapenemasa tipo KPC utilizando el Ensayo de sinergia con ácido borónico y carbapenemes en aquellos aislamientos con valores de CIM a Meropenem y/o Imipenem dentro los puntos de corte epidemiológicos para la sospecha de producción de estas enzimas. Los aislamientos que resultaron positivos para este ensayo fueron remitidos al Departamento de Laboratorios de Salud Pública (DLSP-MSP) donde se confirmó la presencia de la enzima por PCR y secuenciación, además se realizó el estudio de las relaciones filogenéticas de los aislamientos PFGE.



**Figura 1.** Distribución de casos de pacientes colonizados y/o infectados por KpnKPC según mes de diagnóstico. H.C.FF.AA. 2011 a 2014.

CTX	CAZ	FEP	GEN	AMK	CIP	COL	IPM	MEM	BLEE
R	R	R	R	S	R	S	R	R	V

**Figura 2.** Perfil de sensibilidad antibiótica identificada en los aislamientos de KpnKPC. HCFFAA. 2011 a 2014.

**Abreviaturas:** CTX: Cefotaxima; CAZ: Ceftazidima; FEP: Cefepime; GEN: Gentamicina; AMK: Amicacina; CIP: Ciprofloxacina; COL: Colistina; IPM: Imipenem; MEM: Meropenem; BLEE: producción de beta lactamasa de espectro extendido; R: Resistente; S: Sensible ; V: Variable.

## RESULTADOS

Durante el período de estudio se identificaron un total de 28 casos de KpnKPC, de los cuales 19 fueron pacientes colonizados y 9 infectados. Todos, menos el caso índice, tuvieron contacto previo con un paciente con infección y/o colonización por KpnKPC. El caso índice, identificado en setiembre del 2011, correspondió a un paciente cursando post operatorio de trasplante de órgano sólido, en el cual no se identificó contacto con otros casos, ni evidencias de aislamientos en las otras instituciones desde donde fue derivado.

El brote tuvo una duración de 30 meses. Para la finalización del mismo se definió utilizar como criterio la ausencia de infecciones y/o colonizaciones por el periodo de un año. Los intervalos intrabrote sin casos no llegaron a completar ese periodo (figura 1). La máxima incidencia se observó en el período de febrero a julio de 2012, en el cual se registraron un total de 17 casos.

Del total de afectados, el 57% de los casos fue del sexo masculino y la media de edad fue de 64 años (rango 20-92). Se identificó un único caso en edad pediátrica (1 año), que tenía el antecedente de internación previa en otra institución.

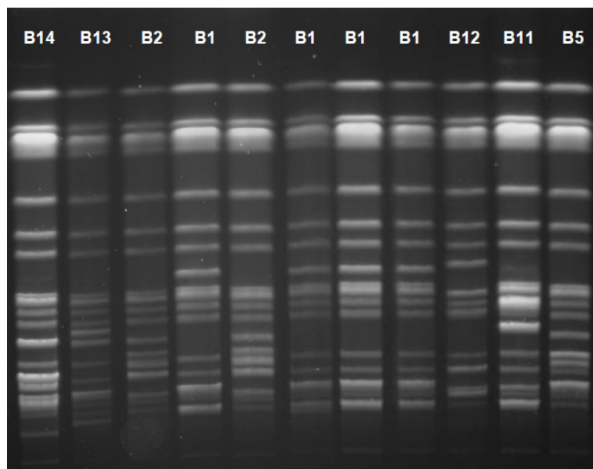
La media de días de internación antes del aislamiento del microorganismo fue 31 (rango: 6-114 días).

Las infecciones identificadas fueron: 9 (60%) del tracto urinario, 3 (20%) de sitio quirúrgico, 2 (13%) traqueobronquitis purulenta y 1 (7%) neumonía (hubo pacientes que desarrollaron más de una infección).

Dos pacientes con antecedente de trasplante de órgano sólido con hisopados rectales positivos para KpnKPC, desarrollaron bacteriemias secundarias.

De las 9 infecciones del tracto urinario, solo 3 se produjeron en pacientes con procedimientos invasivos de la vía urinaria.

En tres de cuatro casos que tuvieron el antecedente de fibrobroncoscopia con el mismo equipo, se identificó KpnKPC en las secreciones traqueales.



**Figura 3.** PFGE de aislamientos de KpnKPC digeridos con *XbaI*. Clon B detectado en la Institución de estudios con 14 variantes. HCFFAA. 2011 a 2014.

En la figura 2 se muestra el perfil de sensibilidad de los aislamientos.

Los resultados de la secuenciación de los productos de PCR indicaron que KPC-2 fue la variante de la enzima circulante en el brote.

Del análisis de los pulsotipos surge la presencia de una única clona circulante, si bien pueden observarse variantes (figura 3).

De los 9 pacientes infectados, 8 recibieron tratamiento específico para KpnKPC siendo los fármacos más utilizados: Colistín, Fosfomicina y Amikacina.

En cuanto a la evolución de los que desarrollaron infección, 16 casos evolucionaron favorablemente y fueron dados de alta a domicilio, 3 casos fallecieron de los cuales en 2 la causa del fallecimiento no fue la infección por KpnKPC, pero se consideró como un factor contribuyente.

Además de los factores de riesgo propios del paciente, su patología y tratamiento, se identificó que la exposición en un servicio donde circulaba el agente, constituyó un factor predisponente importante para la adquisición de una colonización o infección por KpnKPC.

La media de contactos generados por cada paciente con identificación de KpnKPC previo a la implementación de una cohorte en una única planta física, fue de 26 contactos por paciente (rango 7-56), mientras

que una vez instaurada esta medida, la misma descendió a 9 contactos por paciente con KpnKPC.

Como medidas de control se implementó un programa integrado entre todas las áreas involucradas, se estableció una cohorte de KpnKPC, se protocolizaron controles rutinarios de los contactos y de los pacientes ingresados en áreas críticas, con hisopados rectales.

La puesta en práctica del programa de control, implicó un intenso plan de capacitación para el personal, reorganización de adquisiciones de equipamiento y cambios en la dinámica del proceso asistencial.

El costo destinado al control del brote, solo en materiales fue de U\$ 133.000, sin considerar el incremento en horas personal, estadía hospitalaria, antibióticos, ni costos directos.

El impacto mediático y social enfrentado por la institución tuvo un rol preponderante en todo el proceso, ya que generó inseguridad en los usuarios, resistencia en los servicios tercerizados, resintiéndose la imagen institucional.

El último caso se registró en febrero de 2014, por lo que luego de un año sin identificaciones se concluyó la finalización del brote.

## DISCUSIÓN

El control del brote implicó un desafío para todo el equipo de salud. Dada la elevada transmisibilidad del microorganismo implicado, fue imperioso instaurar en el personal y en los organismos decisorios un "nuevo concepto", más estricto, del cumplimiento de las precauciones por contacto, de la necesidad de contar con los recursos materiales y el personal necesario capacitado.

Esto implicó una importante toma de decisiones de políticas sanitarias, desde los órganos de gestión y marcados cambios de hábitos en el personal de salud.

Existe evidencia que muestra que el correcto cumplimiento de las medidas debe cortar el brote. La falta del recurso humano, fundamentalmente de enfermería y de servicio, fue considerado el elemento fundamental en la duración del brote.



Por otra parte, el número de contactos generados cuando no se utiliza una cohorte para aislar pacientes con mayor riesgo, es aproximadamente tres veces más que cuando se instauran las mismas.

Se debe resaltar la importancia del rol del laboratorio para la detección temprana del posible mecanismo de resistencia. En esta situación el laboratorio estuvo en forma permanente en contacto con el Comité de Infecciones comunicando en forma oportuna las sospechas, lo que llevó a la toma de medidas de aislamiento tempranas contribuyendo al control de la diseminación.

La excesividad de los recursos financieros destinados al control del brote generaron resistencias, así como también las exigencias de cumplimiento y supervisión en aquellos que por diferentes razones veían alterada su rutina. Al extenderse en el tiempo, se crean dificultades que requieren permanentemente reforzar y afianzar las medidas recomendadas.

Los mecanismos de responsabilidad, participación y transparencia, son importante para fomentar la confianza que conlleva a la adherencia de los protocolos. El control se logró luego de haber adquirido los recursos necesarios, capacitado el personal y cumplido el plan de contingencia en forma integrada desde todos los servicios.

### CONCLUSIONES

Se trató de un brote de KpnKPC en una institución pública de tercer nivel, que en la práctica implicó un desafío institucional nuevo, donde debieron coexistir coordinaciones desde los niveles más altos de gestión hasta los niveles operativos.

Se visualizó claramente que la teoría sobre que se debe hacer, se aleja rotundamente de las capacidades que una institución tiene que enfrentar con celeridad en una situación de tal magnitud. Como lección aprendida para el equipo de salud es importante destacar la necesidad de contar con instancias de planificación de contingencias, reservar recursos financieros y contar con un equipo humano capacitado para el abordaje de ésta u otras situaciones epidemiológicas emergentes.

### REFERENCIAS

- (1) Pacheco R, Osorio L, Correa A, Villegas M. Prevalencia de bacterias Gram negativas portadoras del gen blaKPC en hospitales de Colombia. *Biomédica* 2014; 34(supl.1):81-90.
- (2) Melgarejo N, Martínez M, Franco R, Falcón M. Enterobacterias resistentes a Carbapenemes por producción de KPC, aisladas en hospitales de Asunción y Departamento Central. *Rev Salud Pública Parag* 2013; 3(1):30-35.
- (3) Montúfar-Andrade F, Mesa-Navas M, Quiroga-Echeverr A, Builes-Montaño C, Villa-Franco J, Zuleta-Tobon J, et al. Experiencia clínica con infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa, en una institución de enseñanza universitaria en Medellín, Colombia. *Infectio* 2016; 20(1):17-24.
- (4) Paciel D, Seija V, Prieto J, Vignoli R, Medina J, Savio E. Enterobacterias productoras de KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa). *Rev Tendencias* 2011 [citado 2018 Feb 14]. Disponible en: [http://www.infectologia.edu.uy/images/stories/pdf/publicaciones/biomedicas/tendencias/KPC\\_pacialeetal.pdf](http://www.infectologia.edu.uy/images/stories/pdf/publicaciones/biomedicas/tendencias/KPC_pacialeetal.pdf)
- (5) Morejón García M. Betalactamasas de espectro extendido. *Rev cubana med [Internet]*. 2013 Dic [citado 2018 Feb 15]; 52(4): 272-280. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es).
- (6) Manzur Soria M, Bustamante Z, Gonzales G. Presencia de integrones y su relación con la resistencia a antimicrobianos y en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. *Gac Med Bol [Internet]*. 2007 [citado 2018 Ene 13];30(1):5-12. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1012-29662007000100002&lng=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662007000100002&lng=es).
- (7) Villasís-Keever A, Mosqueda JL. Infecciones en trasplante de médula ósea. *Rev Invest Clin* 2005; 57(2):381-86.



## Disfunción vaginal: dos metodologías para su evaluación Vaginal dysfunction: evaluation of two methodologies

Paula Roper <sup>a</sup>, Giuliana Mazzariello <sup>b</sup>, Graciela Borthagaray <sup>b</sup>.

(a) Servicio de Microbiología. Dpto. L.A.C. Hospital Central de las Fuerzas Armadas. Montevideo. Uruguay.

(b) Dpto. de Bioquímica Clínica - BIOCLIN. Facultad de Química. UDELAR. Montevideo. Uruguay.

### RESUMEN

**Introducción:** La disfunción vaginal es una de las patologías de mayor prevalencia en el sistema sanitario y es motivo de consulta frecuente. En su etiología se distinguen: Vaginosis bacteriana, Candidiasis, Tricomoniasis y Vaginitis aeróbica.

**Objetivo:** Comparar el método de categorización en Estados Vaginales Básicos con el método microbiológico empleado en un servicio asistencial de Montevideo, en la evaluación de la disfunción vaginal.

**Materiales y Métodos:** Se estudiaron 132 pacientes, entre Junio de 2016 y Mayo de 2017. El primer método utilizó el estudio morfológico microbiano y la respuesta inflamatoria, para identificar cinco Estados Vaginales Básicos. El segundo método utilizó la observación microscópica en fresco y por tinción de Gram, el cultivo y los signos y síntomas presentes para Candidiasis; el valor numérico de Nugent para Vaginosis bacteriana y la observación de trofozoitos móviles para Tricomoniasis.

**Resultados:** Se observó mayor proporción de pacientes con respuesta inflamatoria con el método habitual (67% vs. 53%). Se encontró una diferencia en el diagnóstico de Candidiasis. De 26 pacientes, sólo 17 se categorizaron como Vaginosis bacteriana en ambos métodos. El diagnóstico de Tricomoniasis (1,5%) no presentó diferencias.

**Conclusiones:** Hay diferencias significativas en la detección de respuesta inflamatoria y de Candidiasis. La consideración de la presencia de pseudomicelio o de cultivo positivo en presencia de signos y síntomas clínicos aumenta el diagnóstico de casos de Candidiasis. Para Vaginosis bacteriana con res-

puesta inflamatoria concomitante, si bien categorizan diferente, la conducta clínica aconsejada es similar en ambos. El nuevo método utiliza una modalidad normatizada y más sencilla, en la evaluación de la respuesta inflamatoria.

**PALABRAS CLAVE:** Candidiasis Vulvovaginal; Enfermedades Vaginales; Estudio Comparativo; Tricomoniasis; Vaginitis; Vaginosis Bacteriana.

### ABSTRACT

**Introduction:** Vaginal dysfunction is one of the most prevalent pathologies in the health system and is a reason for frequent consultation. Bacterial vaginosis, candidiasis, trichomoniasis and aerobic vaginitis are distinguished as its etiology.

**Objective:** To compare the categorization method in Basic Vaginal States with the microbiological method used in a health service in Montevideo, in the evaluation of vaginal dysfunction.

**Materials and methods:** 132 patients were studied, between June 2016 and May 2017. The first method used the microbial morphological study and the inflammatory response to identify five Basic Vaginal States. The second method used microscopic observation in fresh and by Gram stain, culture and the signs and symptoms present for Candidiasis; the numerical value of Nugent for Bacterial Vaginosis and the observation of mobile trophozoites for Trichomoniasis.

**Results:** A higher proportion of patients with an inflammatory response was observed with the second method (67% vs. 53%). A difference was found in the diagnosis of Candidiasis. Of 26 patients,

Recibido para evaluación: Julio 2018

Aceptado para publicación: Octubre 2018

Correspondencia: Gral. Flores 2124. C.P. 11.800. Montevideo, Uruguay. Tel.: (+598) 29290608.

E-mail de contacto: paulamroper@gmail.com



only 17 were categorized as bacterial vaginosis in both methods. The diagnosis of Trichomoniasis (1,5%) did not differ.

**Conclusions:** There are significant differences in the detection of inflammatory response and Candidiasis. Consideration of the presence of pseudomycelia or positive culture in the presence of clinical signs and symptoms increases the diagnosis of cases of Candidiasis. For bacterial vaginosis with concomitant inflammatory response, although categorized differently, the recommended clinical behavior is similar in both. The new method uses a standardized and simpler modality in the evaluation of the inflammatory response.

**KEY WORDS:** Candidiasis, Vulvovaginal; Vaginal Diseases; Comparative Study; Trichomonas Infections; Vaginitis; Vaginosis, Bacterial.

## INTRODUCCIÓN

La disfunción vaginal (DV) es una de las patologías de mayor dimensión en el contexto integral de la salud y tiene una alta prevalencia en todo el sistema sanitario (1). La percepción de signos y síntomas a nivel del tracto genital inferior es el motivo de consulta médica más frecuente en mujeres en edad fértil y de importancia significativa en menopaúsicas (2).

Los signos y síntomas compatibles con DV se presentan en forma individual o asociados, de manera arbitraria e inconexa. Los más frecuentes son: prurito, irritación, mal olor, secreción vaginal anormal (comúnmente denominada "flujo"), edema en región vulvovaginal, disuria, dispareunia y/o dolor en la región pélvica. Los mismos, individualmente o en conjunto, se asocian a un número importante de patologías del tracto genital femenino, pero no resultan patognomónicos para ningún síndrome determinado (2).

En la etiología de la DV se pueden distinguir las siguientes entidades: Vaginosis bacteriana (VB), Candidiasis vulvovaginal (CVV), Tricomoniasis (T) y Vaginitis aeróbica de Donders (VA). Las formas severas, persistentes o crónicas de VA pueden ser referidas como Vaginitis inflamatoria descamativa (3,5). La VB constituye una alteración masiva de la mi-

crobiota vaginal, donde el género dominante *Lactobacillus* es reemplazado en gran proporción por *Gardnerella vaginalis*, y bacterias anaeróbicas como *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp., y *Mobiluncus* spp., así como por micoplasmas genitales. La etiología de VB no está definitivamente aclarada. El estado de vaginosis aumenta significativamente las colonizaciones bacterianas oportunistas en todas las mujeres en edad fértil, e incrementa significativamente el riesgo de adquirir infecciones de transmisión sexual (ITS) en aquellas sexualmente activas (2).

La CVV es un problema universal que afecta a millones de mujeres, siendo la segunda causa de flujo vaginal en el Uruguay (6). Algunos estudios han estimado que el 75% de las mujeres adultas sufrirán al menos un episodio de CVV a lo largo de su vida (7). Las levaduras del género *Cándida* son la etiología de la CVV, y la especie más frecuentemente responsable es *Cándida albicans*. En los últimos años se ha reportado un aumento significativo en la frecuencia de especies no albicans (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, entre otras) que junto a la emergencia de cepas resistentes al fluconazol ha llevado a una mayor tasa de recurrencias de CVV. *Cándida* spp. puede formar parte de la microflora vaginal de las mujeres asintomáticas y del tubo digestivo, y también ser agente de infección endógena oportunista cuando existen factores predisponentes (6). El diagnóstico de CVV es clínico, epidemiológico y se confirma con el estudio micológico (6-8). El pH vaginal suele ser normal. El estudio microscópico del material vaginal disuelto en solución salina puede revelar la presencia de levaduras con o sin pseudohifas. Las formas filamentosas se asocian a la enfermedad activa. Al ser las levaduras integrantes habituales de la microbiota vaginal, su presencia determinada por morfología, cultivo y/o amplificación génica, en el CV, es una condición necesaria pero no suficiente para el diagnóstico de CVV (9). El aislamiento de las colonias en el cultivo permite identificar la especie involucrada.

Para la detección de *Trichomonas vaginalis* se utiliza la preparación en fresco cuya sensibilidad varía en-

tre 58% al 82% (10). La comparación de diferentes métodos mostró que al menos dos técnicas, como la preparación en fresco y el cultivo tienen más chance de detectar una infección por *Trichomonas vaginalis*. El diagnóstico de T por Reacción en Cadena de la Polimerasa resultó ser altamente específico y sensible, pero su disponibilidad y costo limitan su uso en laboratorios diagnósticos de rutina (11).

Para establecer una aproximación diagnóstica del estado real de la disfunción vaginal que oriente a decisiones clínico/terapéuticas precisas, se requiere la evaluación de la microbiota vaginal y la determinación de la Respuesta Inflamatoria Vaginal (RIV) (2). El objetivo fue comparar la evaluación de la disfunción vaginal mediante el análisis de los Estados Vaginales Básicos (EBV) a través de la metodología del Balance del Contenido Vaginal (BACOVA) (9) con la evaluación por el método microbiológico utilizado en el Servicio de Microbiología del Hospital Central de las Fuerzas Armadas (H.C.FF.AA.) (MSA) (12) en el diagnóstico de CVV, T y VB.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron en forma prospectiva, 132 mujeres (108 en edad fértil y 24 menopáusicas), de las cuales 107 presentaban síntomas. Se incluyeron todas las pacientes que concurren al Servicio de Microbiología del H.C.FF.AA. en el período comprendido entre el 21 de Junio de 2016 al de 2 Mayo de 2017, con indicación médica de estudio microbiológico de exudado vaginal.

A todas las pacientes se les efectuó un cuestionario sobre la presencia de síntomas, fecha de la última menstruación y toma de fondo de saco vaginal para el estudio microbiológico por MSA y estudio de los EBV mediante BACOVA.

El estudio del BACOVA incluyó el análisis morfológico microbiano del Contenido Vaginal (CV), obteniendo un Valor Numérico (VN) con la metodología propuesta por Nugent, otorgándole valores entre 1 a 10 de acuerdo a la abundancia relativa de los morfotipos bacterianos presentes en la microbiota vaginal (13). En función de la relación del VN y la Respues-

ta Inflamatoria Vaginal (RIV), se identificaron cinco EBV: microbiota normal (I), microbiota normal con respuesta inflamatoria (II), microbiota intermedia (III), VB (IV), y vaginitis microbiana inespecífica (V) un estado con RIV presente y VN entre 4 y 10 en mujeres en edad fértil (MEF) o VN entre 6 y 10 para mujeres menopáusicas (MM). En MEF, la microbiota normal implica VN entre 0 y 3; en MM VN entre 0 y 5. La RIV queda definida por la presencia de >10 PMN por campo (40X) utilizando un hisopo que se coloca en 0.5 mL de suero fisiológico. En el caso de tener un número de leucocitos por campo alrededor de 10 ( $10 \pm 3$ ) en el fresco (40X), o alrededor de 5 ( $5 \pm 2$ ) en el estudio de la coloración de Gram (100X), se procede a la evaluación cuantitativa del número de leucocitos por célula epitelial por campo microscópico a 40X en el extendido teñido por Giemsa (9). El estudio microbiológico utilizado por el MSA incluyó los siguientes exámenes:

A) Observación en fresco: Se mezcló 1 mL de suero fisiológico (SF) con las secreciones vaginales por aspiración y reaspiración. Se colocó una gota de la suspensión entre porta y cubreobjeto que se observó con aumento objetivo 40X en busca de presencia de levaduras y pseudomicelio, presencia de *Trichomonas vaginalis*, presencia de células guía y se evaluó la RIV. La RIV se definió por la presencia de >5 PMN aislados por campo 40X y/o PMN agrupados en cualquier número en una gota del fresco (12).

B) Extendido para la tinción de Gram: Utilizando un hisopo con muestra de CV se realizó un extendido en un portaobjeto, generando una capa fina, que se dejó secar. Luego se fijó con metanol unos minutos y se procedió a realizar la tinción de Gram. Se observó por inmersión con aumento objetivo 100X. Con el extendido teñido con la coloración de Gram se estableció el VN.

C) Cultivo del exudado vaginal en agar base Columbia (Laboratorios Britania) con 5% de sangre ovina (AS), con incubación de 48 hs a 35 °C en atmósfera aerobia humidificada.



Diagnóstico	Candidiasis	Candidiasis probable	Candidiasis probable	Flora normal
Pseudomicelio (directo)	+	-	-	-
Levaduras (directo)	+/-	+	+/-	+
Levaduras (cultivo)	+/-	+/-	+	+
Respuesta inflamatoria (directo)	+/-	+/-	+/-	-
Sintomatología (prurito, flujo, ardor, disuria, etc.) y/o signos (eritema vulvar, edema, fisuras, flujo característico).	+/-	+	+	-

**Figura 1.** Tabla de criterios diagnóstico de Candidiasis y Candidiasis probable para el método utilizado en el MSA.

La detección de CVV se realizó teniendo en cuenta los resultados de la observación en fresco, la tinción de Gram, del cultivo y la consideración de la sintomatología de la paciente, clasificándose como CVV y CVV probable según los criterios de la tabla que se muestra en la figura 1.

El diagnóstico de VB se realizó cuando el VN fue  $\geq 7$  (13) y el de T cuando se observó por lo menos un trofozoito con la movilidad característica en el estudio en fresco.

### Análisis estadístico

Se utilizó el test de Fisher de dos colas para comparar la presencia/ausencia de RIV en el CV con los dos criterios utilizados.

## RESULTADOS

La comparación de los resultados obtenidos aplicando los dos criterios para la definición de RIV se muestra en la Tabla de contingencia de la figura 2. Se observó una mayor cantidad de RIV informadas utilizando el método MSA (67%) con respecto a BACOVA (53%). Al aplicar el test de Fischer para comparar la presencia/ausencia de RIV el resultado obtenido fue  $p=0.003$ , lo que indica la existencia de una diferencia estadística a un nivel de significancia del 5%.

En la figura 3, se resume la distribución de levaduras, tricomonas y VB, con los EBV obtenidos al aplicar el método BACOVA. Las levaduras se detectaron en el EBV I en las pacientes asintomáticas (A) y en todos los EBV en las sintomáticas (S), con neto predominio en el EVB II. Las tricomonas se asociaron al EBV II y V en las pacientes S, en tanto que la

VB se asoció exclusivamente a los EVB IV y V tanto en las pacientes A como S. En la figura 3, también se muestra que la flora microbiana compatible con VB cuando se acompaña de RIV se define como EBV V. Según BACOVA, se detectaron 11 casos de levaduras y RIV (8,3%), correspondiendo a una infección por levaduras. Mediante la metodología MSA, se diagnosticaron 13 pacientes (9,9%) con CVV y otras 13 pacientes (9,9%) con CVV probable. La presencia de pseudomicelio se observó en pacientes sintomáticas en los estados básicos I, III y IV, que por no tener RIV no fueron consideradas infección por levaduras por BACOVA.

Los porcentajes de detección de VB por BACOVA y por MSA, y de VMI con VN entre 7 y 10 según BACOVA en MEF se muestran en la figura 4. La presencia de RIV con un VN  $\geq 7$  inhibe la clasificación como EBV IV en BACOVA e indica la presencia de VB y otra causa de inflamación concomitante en el MSA.

La prevalencia de T para ambos métodos fue del 1,5%. Los dos casos de T detectados, correspondieron a pacientes sintomáticas, con presencia de RIV, se diagnosticaron en ambas metodologías y se asociaron al EBV II y V de BACOVA.

En la figura 5 se muestra la clasificación de las 132 pacientes según ambas metodologías.

## DISCUSIÓN

El 60% de las pacientes asintomáticas, sin signos de infección evaluadas en este estudio mediante BACOVA, presentaron algún estado de DV, y sólo el 17% de las pacientes sintomáticas no mostraron alteración morfológica del CV.

	Presencia de RIV según método BACOVA (>10 PMN/campo)	Ausencia de RIV según método BACOVA (<10 PMN/campo)	Total
Presencia de RIV según método MSA (>5 PMN o agrupados en cualquier cantidad/campo)	67	22	89
Ausencia de RIV según método MSA (<5 PMN/campo)	3	40	43
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>62</b>	<b>132</b>

**Figura 2.** Comparación presencia/ausencia RIV según método BACOVA y método MSA (Test de Fisher,  $p=0.003$ ).

EVB	Levaduras				Tricomonomiasis				Vaginosis bacteriana			
	A <sup>a</sup> (n=2)		S <sup>b</sup> (n=17)		A (n=0)		S (n=2)		A(n=5)		S (n=33)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>I</b>	2	100	3 <sup>c</sup>	18								
<b>II</b>			9 <sup>d</sup>	53			1	50				
<b>III</b>			3 <sup>e</sup>	12								
<b>IV</b>			1 <sup>e</sup>	6					4	80	21	64
<b>V</b>			2 <sup>d</sup>	12			1	50	1	20	12	36

**Figura 3.** Tabla de distribución de levaduras, tricomonas y VB en los EVB evaluados mediante BACOVA en pacientes asintomáticas (A) o sintomáticas (S).

**Aclaraciones:** a: A - pacientes asintomáticos; b: S - pacientes sintomáticos; c: incluye dos casos en los que se observaron pseudomicelio y respuesta inflamatoria según MSA; d: indica los casos de infección por levaduras por BACOVA; e: incluye un caso en el que se observó pseudomicelio.

Método	BACOVA		MSA	
	n	%	n	%
<b>Vaginosis bacteriana</b>	17	12,9	26	19,7
<b>Vaginitis microbiana inespecífica con VN entre 7 y 10</b>	9	6,8		

n - número de pacientes

**Figura 4.** Tabla de prevalencia de VB según método BACOVA y MSA y prevalencia de VMI con VN entre 7 y 10 para BACOVA en MEF.

Flora microbiana y respuesta inflamatoria del contenido vaginal	Proporción de pacientes (%) según método:	
	BACOVA	MSA
Flora normal sin RIV <sup>a</sup>	19,7	11,4
Flora normal con RIV	26,5	34,8
Vaginosis Bacteriana	17,4	12,1
Vaginosis Bacteriana con RIV <sup>b</sup>	nc <sup>c</sup>	13,7
Infección por levaduras <sup>d</sup>	8,3	9,9
Infección por levaduras probable <sup>e</sup>	nc	9,9
Tricomonomiasis	1,5	1,5
Flora alterada sin RIV	9,9	7,7
RIV sin etiología que la explique	43,2	48,5

**Figura 5.** Tabla de proporción de pacientes categorizadas según la flora microbiana y la respuesta inflamatoria vaginal por ambos métodos.

**Aclaraciones:** a: RIV - Respuesta Inflamatoria Vaginal; b: valor numérico de Nugent  $\geq 7$  y respuesta inflamatoria en el MSA y no en BACOVA; c: nc - no corresponde; d: equivale a Candidiasis en MSA; e: equivale a Candidiasis probable en MSA.



Por este motivo resulta imprescindible el estudio morfológico del CV, independientemente de la presencia de síntomas, a los efectos de detectar la DV, y para un correcto manejo terapéutico (1,2).

Según los resultados obtenidos, existe diferencia estadísticamente significativa para determinar la presencia de RIV por ambos métodos. BACOVA integra examen del CV en fresco, coloración de Gram y de Giemsa para tener un seguro recuento de leucocitos. Según esta propuesta, en 10 casos fue necesario recurrir al recuento de leucocitos por célula epitelial por campo en la tinción de Giemsa para poder determinar la RIV. Esta diferencia se refleja principalmente en la mayor proporción de flora normal con respuesta inflamatoria y de estados con respuesta inflamatoria sin causa microbiológica que la explique, obtenidos según MSA y que corresponde al 48,5% de las pacientes versus el 43% en BACOVA. Estas pacientes ameritan un estudio microbiológico complementario para descartar infecciones bacterianas de endocervix. También se aconseja el estudio de infección de endocervix por patógenos de transmisión sexual, *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* entre otras, en las pacientes en las que se detectó T. Por lo que el 50% de las pacientes estudiadas mediante el método MSA deberán volver al laboratorio a realizarse el estudio de infecciones de endocervix.

Las levaduras (11/17) que se asociaron principalmente a los EBV II y V en las pacientes sintomáticas podrían considerarse significativas para vulvovaginitis, mientras que el EBV I fue el involucrado en las pacientes asintomáticas, lo que podría deberse a una colonización. Sin embargo también se encontró levaduras en una proporción importante de pacientes sintomáticas en los EBV I, III y IV (9/17), sin respuesta inflamatoria. Dichos hallazgos podrían implicar que no siempre la presencia de infección por levaduras se acompaña de reacción inflamatoria, coincidiendo con Touzon en 2014 (1) y a diferencia de lo descrito por Di Bartolomeo en 2007 (3). Según BACOVA la interpretación de cuando las levaduras detectadas son responsables de una vulvovaginitis

escapa al valor predictivo de la sola detección morfológica, y no tiene en cuenta el rol de la apreciación de los detalles morfológicos vinculados con actividad de multiplicación o a la adherencia al epitelio como indicación de infección activa. Por lo que requiere la visualización de levaduras, y la elevación significativa de RIV para sugerir una infección por levaduras, con un mayor valor predictivo positivo (9). Aplicando dicho criterio se detectaron 11 pacientes (8,3%) con probable vulvovaginitis por levaduras todas en pacientes sintomáticas. Sin embargo está bien descrito que la CVV puede producir una secreción que sólo contiene unos pocos leucocitos PMN (8).

Cuando se empleó el método MSA, la prevalencia de CVV fue del 9,9 % y otro 9,9% de Candidiasis probable. Para dicho método, la detección de las células de levadura en gemación mediante examen microscópico tiene un gran valor predictivo en el diagnóstico de CVV en la paciente con cuadro clínico compatible y la observación de pseudohifas, tanto en el fresco como en la tinción de Gram refuerza al diagnóstico. El cultivo es uno de los métodos más sensibles del que actualmente se dispone para detectar *Candida* spp., y resulta útil para confirmar el diagnóstico en una paciente con clínica compatible y un estudio microscópico negativo (8,14). Se detectaron 6 (23%) de los casos de Candidiasis probable mediante cultivo y estudio microscópico negativo.

De las 11 pacientes con probable diagnóstico de vulvovaginitis por levaduras según BACOVA (9 con EBV II y 2 con EBV V), 9 tienen diagnóstico de CVV por MSA, y las otras dos tienen diagnóstico de CVV probable. Por el contrario, 4 pacientes sintomáticas con presencia de levaduras y pseudohifas clasificados como CVV por MSA, se escapan al diagnóstico por BACOVA que indica dos pacientes con EBV I y una paciente en cada uno de los EBV III y IV, como así también dos pacientes con CVV probable del EVB III. Por lo que se encontró una coincidencia del 52% en el diagnóstico de candidiasis.

Tanto BACOVA como MSA definen VB en base a la alteración de la microbiota habitual del CV. Para BACOVA requiere la ausencia de RIV, y lo que no es

un requisito para MSA. Cuando existe RIV con un VN de 7 a 10, BACOVA define un nuevo estado vaginal básico denominado Vaginitis Microbiana Inespecífica, en el que se recomienda la investigación de una posible infección de origen cervical. Para MSA la VB puede coexistir con una RIV de un origen distinto al vaginal y también propone impulsar una búsqueda más amplia de otras etiologías si se desconoce la causa de la respuesta inflamatoria en estos casos. Si bien se detectó con mayor frecuencia la VB en estado IV (17 pacientes), también se observó VN de 7 a 10 en EBV V (9 pacientes). Cabe destacar que de las 26 MEF detectadas con VB mediante MSA, 17 eran VB típicas, que coincide con BACOVA. Las 9 pacientes restantes correspondieron a VB con RIV concomitante para MSA y VMI para BACOVA, significando un 65% de coincidencia en el diagnóstico de VB.

Se obtiene la misma baja prevalencia de T para ambos métodos (1,5%). Las tricomonas se asociaron a los EBV II y V en las pacientes sintomáticas en relación con vaginitis. No se detectaron tricomonas en pacientes asintomáticas. BACOVA agrega un fijador-colorante con azul de metileno propuesto por Méndez y col. para el diagnóstico directo de *T. vaginalis*. Esta tinción es útil en el caso que no se observe el fresco de inmediato, ya que permite el procesamiento del material mucho tiempo después de obtenido, inclusive meses, siempre que el mismo sea mantenido en heladera a 4 °C. El aumento de sensibilidad respecto del examen en fresco, se debe a que en esta propuesta, se efectúa una concentración del material antes de su observación (15).

### CONCLUSIONES

Existe una diferencia significativa en la determinación de RIV entre BACOVA y MSA para evaluar la DV. BACOVA utiliza una modalidad normatizada, sencilla y comparable entre operadores e interlaboratorios para determinar la RIV. Para concluir sobre la ventaja o desventaja de la mayor sensibilidad del MSA en la detección de respuesta inflamatoria vaginal deberá correlacionarse con los resultados de la

detección de infecciones bacterianas de endocervix en estudios posteriores.

Las proporciones de casos diagnosticados como Candidiasis y Candidiasis probable (19,8%), así como de VB (25,8%) por el método MSA coinciden con los datos de una revisión de estudios publicados entre 1966 y 2003, en el que la CVV fue diagnosticada entre el 17% y el 39% y VB entre el 22% al 50% de los casos en diferentes estudios (16).

La observación microscópica teniendo en cuenta la presencia de elementos que indican multiplicación o adherencia al epitelio para el diagnóstico de Candidiasis, como criterio predominante sobre el de presencia de RIV que es necesaria en BACOVA, aportó el 34% de los casos diagnosticados por MSA y el cultivo de levaduras aportó un 23% en las Candidiasis probables. Por lo que se recomienda la consideración de ambos, con el objeto de incrementar la detección de CVV.

En el diagnóstico de VB, cuando existe RIV concomitante, la conducta clínica a seguir es similar en ambos métodos, aunque se clasifiquen diferente.

El fijador colorante con azul de metileno se podría utilizar en conjunto con la preparación en fresco para la detección de *T. vaginalis*, para aumentar la sensibilidad diagnóstica.

### REFERENCIAS

- (1) Touzon M, Losada M, Menghi E, Mengui C, Gatta C, Santa Cruz G, et al. Evaluación de la disfunción vaginal en mujeres embarazadas sintomáticas y asintomáticas mediante la utilización de los estados vaginales básicos (EVB) y su comparación con el estudio microbiológico convencional. *Rev Argent Microbiol* 2014; 46(3):182-187.
- (2) Fundación Bioquímica Argentina. Guía práctica integral (clínica-laboratorio) de diagnóstico de vaginosis-vaginitis en la atención primaria de la mujer en edad fértil y menopausia. Disponible en: <https://www.fba.org.ar/programas/prosar/GUIDELINES-VERSION-AUTHORS.pdf> [Consulta 09/09/2018].



- (3) Di Bartolomeo S, Leonino AP, Rodríguez M, de Torres RA. Balance del Contenido Vaginal (BACOVA) en el diagnóstico diferencial de vaginosis-vaginitis. Reacción inflamatoria vaginal (RIV) en embarazadas sintomáticas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2007; 41(2):247-258.
- (4) Sobel JD, Reichman O, Misra D, Yoo W. Prognosis and treatment of Desquamative Inflammatory Vaginitis. *Obstet Gynecol* 2011; 117(4):850-855.
- (5) Sobel JD. Desquamative inflammatory vaginitis: a new subgroup of purulent vaginitis responsive to topical 2% clindamycin therapy. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171(5):1215-1220.
- (6) Braselli A, Cuevas L, Pedreira W, Abreu H, Russi C, Balleste R *et al.* Programa Prioritario de Infecciones de transmisión sexual y SIDA. Setiembre 2005. Ministerio de Salud Pública. Uruguay. 54 p. Disponible en: <http://www.sguruguay.org/documentos/msp-programa-prioritario-infecciones-transmission-sexual-sida.pdf> [Consulta 09/09/2018].
- (7) Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152(7 pt 2):934-935.
- (8) McCormack WM, Augenbraun MH. Vulvovaginitis y cervicitis. En: Mandell GL, Bennet JE, Douglas R. *Enfermedades infecciosas. Principios y Práctica*. 8° ed. Barcelona: Elsevier, 2016. p.1423-1426.
- (9) Fundación Bioquímica Argentina. Programa de Salud Sexual y Reproductiva. Proyecto Disfunción Vaginal. Manual de Procedimientos BACOVA 2015. [CD-ROM] Buenos Aires, 2015.
- (10) Wiese W, Patel SR, Patel SC, Ohl CA, Estrada CA. A meta-analysis of the Papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis. *Am J Med* 2000; 108(4):301-308.
- (11) Patil MJ, Nagamoti JM, Metgud SC. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* from Vaginal Specimens by Wet Mount Microscopy, In Pouch TV Culture System, and PCR. *J Glob Infect Dis* 2012; 4(1):22-25.
- (12) Roper P, Nabón A, Castro M. Manual de procedimientos de Exudados vaginales y endocervicales. H.C.F.F.AA., Dpto. L.A.C., Servicio de Microbiología. POE 001/16. Versión N°3.
- (13) Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991; 29(2):297-301.
- (14) Villaseca R, Ovalle A, Amaya F, Labra B, Escalona N, Lizana P, *et al.* Infecciones vaginales en un Centro de Salud Familiar de la Región Metropolitana, Chile. *Rev Chilena Infectol* 2015; 32(1):30-36.
- (15) Costamagna SR, Dupin J, Vaylet S, Pellegrino P. Evaluación del fijador-colorante azul de metileno para el diagnóstico directo de *Trichomonas vaginalis*. *Acta Bioquím Latinoam* 2004; 38(3):307-9.
- (16) Anderson MR, Klink K, Cochrissen A. Evaluation of vaginal complaints. *JAMA* 2004; 291(11):1368-1379.



# Musicoterapia y salud

## Music therapy and health

Omar Porciúncula <sup>a</sup>.

(a) Servicio Odontológico del Liceo Militar Gral. Artigas. Montevideo. Uruguay.

<https://doi.org/10.35954/SM2018.37.2.5>

### RESUMEN

En la actualidad la música integra la lista de terapias alternativas no farmacológicas. Se revisa la literatura para ver los efectos de la musicoterapia sobre la salud humana en general, y la salud bucal en particular. El principal efecto es la disminución de la ansiedad y del estrés en pacientes que cursando distintos tratamientos convencionales, recibieron la música como terapia. Se describen los beneficios sobre niños, previo a la consulta odontológica y en los tratamientos de ortodoncia. También se registraron resultados positivos sobre pacientes oncológicos que recibieron quimioterapia o tratamientos paliativos, niños con Trastornos Específicos del Lenguaje y personas que cursan cuadros de ansiedad, depresión y somatización.

**PALABRAS CLAVE:** Musicoterapia; Odontología; Salud Bucal.

### ABSTRACT

Currently, music is a part the list of non-pharmacological alternative therapies. Literature is reviewed to see the effects of music therapy on human health in general, and oral health in particular. The main effect is the reduction of anxiety and stress in patients who, taking different conventional treatments, received music as therapy. The benefits on children are described, prior to dental consultation and in orthodontic treatments. Positive results were also registered on cancer patients undergoing chemotherapy or palliative treatments, children with Specific Language Disorders and people who experience anxiety, depression and somatization.

**KEY WORDS:** Music Therapy; Dentistry; Oral Health.

### INTRODUCCIÓN

La música acompaña al hombre desde su propia existencia y en el correr de la historia ésta ha sido aplicada con diversos propósitos. Con la evolución del conocimiento, la música ha sido transcrita en una forma matemática y con el advenimiento de la tecnología se ha logrado medir las frecuencias vibratorias de sus ondas y el alcance de las mismas. Este trabajo busca introducirse en un área relativamente nueva como lo es el uso de la música como herramienta terapéutica en la salud. La musicoterapia puede definirse como "el uso profesional de la música y sus elementos como intervención en el ambiente médico, educativo y cotidiano con individuos, grupos, familias o comunidades, que procuran optimizar su calidad de vida y mejorar su salud y bienestar físico, social, comunicativo, emocional, intelectual y espiritual". Es condición indispensable la presencia de un musicoterapeuta avalado para llevar a cabo la terapia. Para ser clasificada como musicoterapia bien definida, debió haberse descrito un marco teórico lógico que sustente la intervención. La terapia puede usarse de manera grupal o individual. Los métodos para su aplicación pueden ser activos o receptivos e incluir el procesamiento verbal de sentimientos y experiencias. En los métodos activos, los participantes "hacen música", y en la musicoterapia receptiva, los participantes "reciben" (escuchan) música. En la forma activa, el musicoterapeuta usa métodos: improvisatorio, recreativos o de composición. El método improvisatorio comprende cualquier experiencia por la cual el paciente participa activamente en la composición espontánea de música con el musicoterapeuta o con otros individuos mientras tocan los

Recibido para evaluación: Setiembre 2018

Aceptado para publicación: Noviembre 2018

Correspondencia: Camino Castro 290. Montevideo. Uruguay. Tel.: (+598) 23059055.

E-mail de contacto: o\_porciuncula@hotmail.com



instrumentos, vocalizan o mueven el cuerpo u otros objetos al son de la música. Los métodos recreativos incluyen la reproducción del material musical precompuesto de manera vocal o instrumental (1).

### APLICACIÓN EN ODONTOLOGÍA

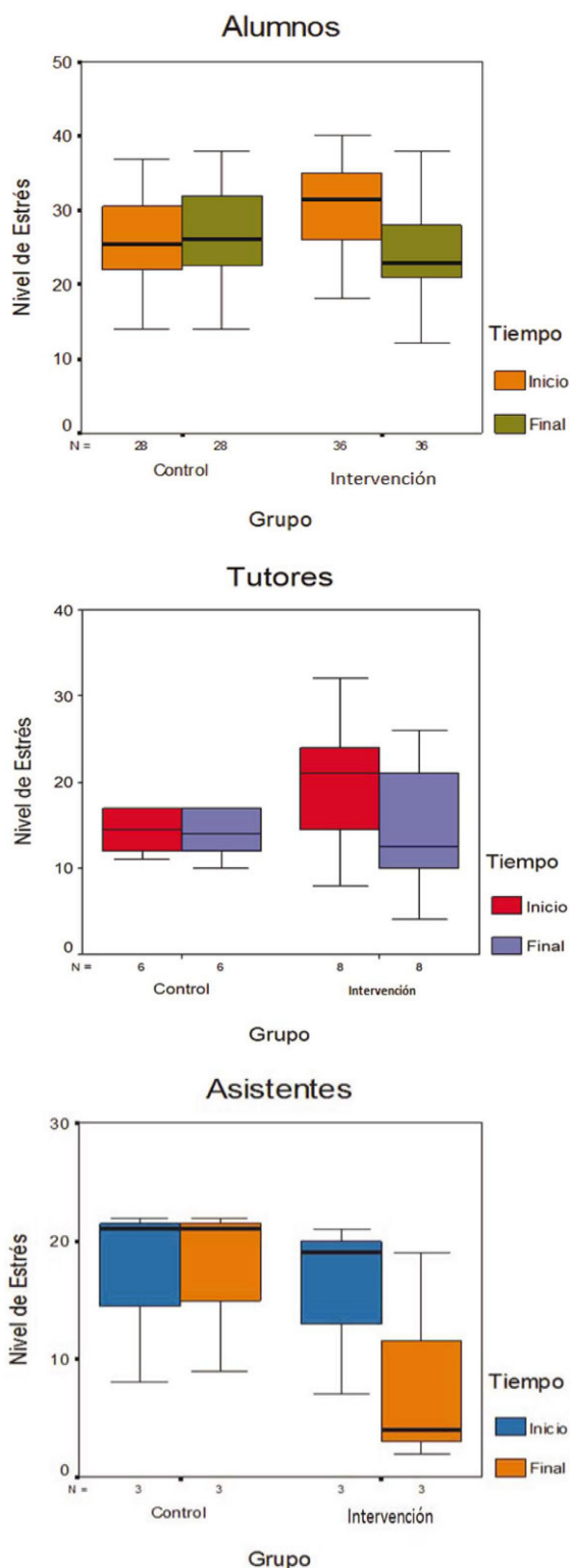
Una de las utilidades analizadas para la aplicación en odontología se encuentra en la especialidad de odontopediatría. Los niños presentan un elevado nivel de ansiedad y temor a la consulta. Esta se agrava cuando por experiencias negativas previas se lo somete a una nueva instancia. La utilización de música en niños y adolescentes durante la práctica dental es considerada una terapia atractiva donde el niño es animado a imaginar. Trabajos sobre el tema aseguran que el uso de la música es una técnica que disminuye la ansiedad y en algunos casos el dolor en el tratamiento odontológico (2,3).

Estos resultados concuerdan con lo realizado por Manterola y su equipo con el objetivo de evaluar la validez de la musicoterapia para promover una mejor adherencia al tratamiento odontológico en niños que realizaron su primera consulta. La edad promedio era  $4 \pm 1$  año. Registraron el comportamiento de los niños con la escala de Spencer N. Frankl y la ansiedad dental de los padres con la escala de ansiedad dental de Corah (CDAS). En los niños del grupo experimental, el comportamiento fue significativamente positivo y la adherencia al tratamiento odontológico fue mayor que en el grupo control. Los padres con niveles más altos de ansiedad correspondieron a los niños con comportamiento negativo o significativamente negativo, con dificultades para aceptar las consignas y necesitaron más tiempo durante la visita al consultorio. Concluyeron que la musicoterapia es un método válido para favorecer una mejor adherencia al tratamiento odontológico en niños que realizaron su primera consulta (3). En la Universidad del Desarrollo de la ciudad de Concepción, Chile, la clínica de odontología realizó un estudio de intervención con una población de 84 individuos. Estos fueron agrupados previamente en 3 grupos correspondientes a alumnos, tutores y asistentes dentales; cada uno de los cuales se divi-

dió en grupo intervenido (sometido a la aplicación de musicoterapia) y un grupo control, al que se le aplicó nada. La musicoterapia implementada, consistió en la aplicación de música de relajación durante una semana de clínicas. Mediante una encuesta ad hoc para la investigación se procedió a recolectar los datos de estrés inicial y final a esa semana, tanto para el grupo experimental como para el de control. De acuerdo a los resultados concluyeron que la musicoterapia, aplicada durante la sesión clínica, es efectiva para disminuir el nivel de estrés de un individuo. El estrés causado por los deberes y quehaceres del trabajo clínico, es mitigado por medio de este tipo de terapias (4).

Un trabajo de revisión realizado por Hilda Rodríguez Chala de la Universidad de Ciencias Médicas de la Habana concluye que: "el uso de la musicoterapia, la realidad virtual, así como medios audiovisuales son los tratamientos no farmacológicos más empleados ante este fenómeno. Por otra parte, el Midazolam y el óxido nitroso en combinación con oxígeno constituyen los tratamientos farmacológicos más utilizados para la ansiedad al tratamiento estomatológico, y su aplicación resulta más marcada en niños". Durante el desarrollo la autora describe sobre la musicoterapia: "Esta actúa directamente sobre el sistema nervioso simpático haciendo que el paciente experimente no solo beneficios psicológicos sino también fisiológicos, como disminución de la presión arterial, frecuencia cardíaca y respiratoria" (5).

La revisión de Quiroz –Torres hace referencia al estudio de Álvarez y Muñoz donde se evaluó la eficacia de la técnica escuchando cuentos infantiles elegidos por niños de entre 4 y 6 años de edad que requerían tratamiento odontológico bajo anestesia local. Los niños fueron sometidos a una cita control con manejo de la conducta convencional y a una segunda cita en la que se aplicaba la técnica auditiva. Como resultado encontraron una mejoría del 80% del comportamiento en la segunda cita. Con esta técnica la reducción de la ansiedad puede ser atribuida a dos razones: la primera, cuando un niño escucha música tiende a cerrar los ojos para concentrarse en el sonido por lo tanto olvida que va a recibir un tratamiento



**Figura 1.** Resultados del estudio realizado en 2012 (4).

dental, segundo, el sonido de la música va a eliminar los sonidos desagradables como el de la turbina y estas dos ventajas unidas al efecto de la música provoca relajación y permiten al odontólogo manejar mejor al paciente ansioso (6).

En Shanghái, China estudiaron sobre pacientes a los que se les aplicó tratamiento correctivo con dispositivos ortodónticos y se constató una disminución del dolor luego de efectuar controles a 2, 6, 12, 24, 48 y 72 horas posterior a la colocación de los mismos. El estudio se realizó sobre 300 pacientes que fueron divididos en cinco grupos (grupo control, grupo de terapia cognitiva, grupo de musicoterapia, grupo de relajación muscular y grupo de terapia sugestiva). Todos vieron disminuido la precepción de dolor frente al grupo control. Se concluye en el trabajo que el grupo de musicoterapia fue el más efectivo (7).

Otro estudio realizado sobre 36 pacientes con tratamiento ortodóntico también comparte resultados similares sobre la eficiencia de la música aplicada. La medición se realizó una semana después de comenzado el tratamiento a través de electroencefalogramas y precepción del dolor con la escala de VAS (8). En el área de la endodoncia también se avaló la efectividad de tratamiento no medicamentoso de la musicoterapia. Cien pacientes previos a ser sometidos a una endodoncia fueron estudiados. A la totalidad de los voluntarios se los dividió en dos grupos, uno de control y otro que recibió previamente, durante y después el tratamiento de musicoterapia. A cada uno se le registraron los valores de la presión diastólica, sistólica y frecuencia cardíaca. Los resultados obtenidos mostraron que los pacientes que recibieron la musicoterapia vieron disminuidos los valores registrados asociados a la ansiedad que suponía la endodoncia (9). Dentro del área orofacial se describe la efectividad de la musicoterapia pero en este caso para los padres de pacientes con Labio Leporino y Paladar Fisurado, reduciendo los valores de ansiedad y depresión (10).

### ANSIEDAD Y ESTRÉS

Carolina Jimenez Izarrai concluye en su trabajo los efectos positivos de la musicoterapia destacando



que mejora los niveles funcionales de pacientes que han sufrido una apoplejía. Contribuye a la rehabilitación funcional y cognitiva de pacientes que han sufrido daño cerebral, modificando los desórdenes sensoriales, cognitivos, afectivos y comportamentales, siendo principalmente activa en los desórdenes de ansiedad, depresión y agitación. La musicoterapia también es efectiva para la reducción de la ansiedad y la depresión en pacientes con Alzheimer.

La música eleva los niveles de endorfinas, dopamina, acetilcolina y de la oxitocina provocando sensación de bienestar.

La melodía contribuye a la evocación de recuerdos, comunicación y expresión de emociones y pensamientos. La armonía, a su vez, afecta a la dimensión cognitiva (11).

### **TRASTORNO ESPECÍFICO DEL LENGUAJE**

El trabajo realizado por María Herrero Gómez y la Dra. Miren Pérez Eizaguirre presenta a un niño de 6 años diagnosticado con Trastorno Específico del Lenguaje. Este trastorno es uno de los problemas que más repercusiones tiene a nivel educativo e incluso socio cultural. A través de la musicoterapia el niño encuentra una forma de expresarse emocionalmente. La terapia aplicada comenzaba con una actividad de reconocimiento y exploración de instrumentos por parte del niño acercándolo a aquellos que más le gustaba. Este periodo duro de 3 a 4 sesiones. Luego se llevaron a cabo actividades centradas en su lenguaje dándole una estructura clara a las sesiones. Primero, se realizaba en 3 minutos la acogida acompañado por una canción de saludo haciéndole entender que así comenzaba la sesión. Segundo, se dedicaban unos 5 minutos a la improvisación como forma de que el niño descargara sentimientos y sensaciones para así relajarse antes de comenzar a trabajar. Tercero, se enfocaba en la pronunciación y vocabulario con una actividad de 10 minutos del plano lingüístico grafo-fónico y léxico-semántico. Cuarto, se dedicaban otros 10 minutos a realizar otra actividad haciendo uso de lo aprendido y así el niño se expresaba más ágilmente. Quinto, se concluía la sesión con una canción de

despedida de 2 minutos que determinaba el fin y el reencuentro con su madre. El desarrollo de la terapia llevo a mejoras en la pronunciación, ampliación del vocabulario, expresión verbal, comprensión oral, expresión emocional, miedo a la frustración y creatividad. También destaca la autora la importancia de haber realizado un diagnóstico diferencial con el autismo. De esta manera el niño logra sociabilizar mejor con sus compañeros y entorno. A través de la música encuentra la utilidad de las palabras y el deseo de aprender nuevas (12).

### **PACIENTES ONCOLÓGICOS**


Una investigación realizada en Salamanca, España, indagó los efectos de la música en una sola sesión para pacientes oncológicos. El equipo supervisado por la jefa del servicio oncológico la Dra. Elvira del Barco Morillo y la Dra. en estadística Mercedes Sánchez Barba, buscaba evaluar el grado de relajación de los pacientes, observar cambios en la percepción del dolor y comprobar si se había modificado el estado de ánimo de los mismos luego de la sesión. El trabajo se basó en 79 pacientes voluntarios divididos en aquellos que recibían quimioterapia, otro grupo que se encontraban en tratamientos paliativos y un último grupo de pacientes que estaban en planta oncológica. Se les hizo el cuestionario Curtis utilizando solamente los datos con respecto a la relajación y el dolor que se categorizaban en poco, moderado y mucho. El método que utilizaron dependía del paciente y oscilaba entre 30 minutos y 1 hora mientras que para los pacientes de planta que recibieron una terapia grupal el tiempo dispensado llegaba a los 90 minutos. La música utilizada era en directo basada en improvisaciones, melodías con implicación de movimiento, relajaciones musicales, recordatorios de la autobiografía de cada paciente, creación de canciones para aumentar la autoestima e improvisaciones de letras bajo una base de blues. Como resultado un 89,6% aumentó el estado de relajación, un 78,1% aliviaron el dolor y otro 78,1% el estado de ánimo mejoró. Como pregunta final el 100% de los pacientes contestaron querer volver a tener una sesión de musicoterapia (13).

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en las distintas revisiones vinculadas a los efectos de la musicoterapia sobre la salud humana, podemos concluir que ocupa uno de los lugares preponderantes en los tratamientos no farmacológicos. Su acción principal se basa en el aumento de la relajación, disminución de la ansiedad y el estrés en pacientes que están sometidos a un tratamiento o en su instancia previa. Se destaca a través de las encuestas, el alivio del dolor de los pacientes frente a distintos tratamientos. Es efectivo como medio de comunicación en pacientes con dificultades en la expresión mediante el lenguaje e inclusive se constató que ayuda a mejorarlo. Por contrapartida no se describen efectos adversos para ser contraindicados. Es un recurso terapéutico válido para complementar tratamientos convencionales ya sea aplicado de manera individual o en forma grupal.

## REFERENCIAS

- (1) Aalbers S, Fusar-Poli L, Freeman R, Spreen M, Ket J, Vink A, et al. Musicoterapia para la depresión. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017 Issue 11. Art. No.: CD004517.  
doi: 10.1002/14651858.CD004517
- (2) Vargas Gil J, Díaz Pizán M. La música en el manejo de la conducta del niño en el consultorio dental. *Bol AAON* 2011; 40(1):19-23.
- (3) Manterola E, Morales L. Musicoterapia en la primera consulta odontopediátrica: musicoprofilaxis clínica en odontopediatría. *Rev Asoc Odontol Argent* 2012; 100(3):84-91.
- (4) Bancalari L, Oliva P. Efecto de la Musicoterapia sobre los Niveles de Estrés de los Usuarios Internos de la Clínica de Odontología de la Universidad del Desarrollo. *Int J Odontostomat* 2012; 6(2):189-193.
- (5) Rodríguez Chala H. Tratamientos farmacológicos y no farmacológicos para la ansiedad al tratamiento estomatológico. *Rev Cubana Estomatol* 2016; 53(4):277-290.
- (6) Quiroz Torres J, Melgar Hermoza R. Manejo de conducta no convencional en niños: Hipnosis, musicoterapia, distracción audiovisual y aromaterapia: revisión sistemática. *Rev Estomatol Herediana* 2012; 22(2):129-136.
- (7) Zheng Q, Zhang LH, Huang L, Wang GP, Yuan XP, Xu XM. Effects of different psychological interventions on relieving orthodontic pain in patients with different personalities: a preliminary study *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 2016; 25(1):91-6.
- (8) Huang R, Wang J, Wu D, Long H, Yang X, Liu H, et al. The effects of customised brainwave music on orofacial pain induced by orthodontic tooth movement. *Oral Dis* 2016; 22(8):766-774.
- (9) Di Nasso L, Nizzardo A, Pace R, Pierleoni F, Pagavino G, Giuliani V. Influences of 432 Hz Music on the Perception of Anxiety during Endodontic Treatment: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Endod* 2016; 42(9):1338-43.
- (10) Yanyan Z, Caixia G, Xiaolin Z, Ying C, Jingchen X, Pin H, et al. Effects of hypnotic and musical relaxation therapy on the treatment of the parents of children with cleft lip and/or palate. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2015; 33(6):589-592.
- (11) Jiménez Izarra C. Musicoterapia para el tratamiento de la ansiedad, depresión y somatizaciones. Estudio de un caso. *Revista de Investigación en Musicoterapia* 2017; 1:85-105.
- (12) Herrero Gómez M, Pérez Eizaguirre M. Musicoterapia y trastorno específico del lenguaje. *Revista de Investigación en Musicoterapia* 2017; 1:48-67.
- (13) Rodríguez Rodríguez P, Sánchez Barba M, del Barco Morillo E. Investigación en musicoterapia sobre la relajación, estado emocional y reducción del dolor en el enfermo oncológico. *Revista de Investigación de Musicoterapia* 2017; 1:32-47.



# Óxido nítrico: uso en odontología

## Nitrous oxide: its use in dentistry

Tania Yarzábal <sup>a</sup>, Inés Alzate <sup>b</sup>, Patricia Mussini <sup>c</sup>.

(a) Regimiento "Patria" de Caballería Blindado Nro. 8. Melo. Cerro Largo. Uruguay.

(b) Batallón "Resistencia" de Infantería Mecanizado Nro. 2. Montevideo. Uruguay.

(c) Grupo "Éxodo del Pueblo Oriental" de Artillería A/P 122 mm Nro. 2. Trinidad. Flores. Uruguay.

### RESUMEN

La historia de la anestesia es tan antigua como la propia humanidad, ya que, desde el principio de los tiempos, el hombre busco formas de aliviar el dolor. En odontología el uso de anestésicos locales ha sido ampliamente admitido como parte integrante del tratamiento odontológico para aliviar el dolor del paciente, sin preocupación por el confort y el control de la ansiedad.

En algunos casos el tratamiento genera ansiedad y estrés que pondrían en riesgo una óptima atención odontológica.

Diferentes estudios demuestran que aproximadamente el 60% de los pacientes odontológicos experimentan ansiedad ante un tratamiento odontológico. Por ello la técnica de sedación consciente por óxido nítrico, es extremadamente útil en aquellos pacientes que presentan estrés, nerviosismo, ansiedad, ya sean niños, adultos o pacientes especiales.

Para el paciente adulto, pediátrico, con necesidades especiales y/o aquellos que serán sometidos a situaciones invasivas se debe considerar un tipo de sedación mínima con una herramienta adicional y complementaria para el logro exitoso del tratamiento en condiciones ideales y seguras.

La valoración del paciente previo al procedimiento con sedación es básica para tomar decisiones sobre el manejo que se le ofrece, permitiendo ejecutar la sedación con seguridad y calidad.

La sedación consciente con óxido nítrico y oxígeno consiste en administrar una mezcla de gas medicinal, óxido nítrico y oxígeno, que consiguen la relajación

del paciente durante la realización del procedimiento. El paciente está despierto en todo momento, pero más relajado.

El uso de óxido nítrico y el oxígeno es una de las técnicas más efectivas que favorecen tanto al paciente como al profesional durante el acto operatorio.

**PALABRAS CLAVE:** Anestesia; Odontología; Óxido Nítrico; Sedación Consciente.

### ABSTRACT

The history of anesthesia is as old as humanity itself, since, from the beginning of time, man has sought ways to alleviate pain.

In dentistry, the use of local anesthetics has been widely accepted as an integral part of dental treatment to relieve the patient's pain, without concern for comfort and control of anxiety.

In some cases the treatment generates anxiety and stress that would put at risk an optimal dental care. Different studies show that approximately 60% of dental patients experience anxiety in the face of dental treatment. Therefore, the technique of conscious sedation by nitrous oxide, is extremely useful in those patients who have stress, nervousness, anxiety, whether they are children, adults or special patients. Adult and pediatric patients, as well as those with special needs and / or those who will be subjected to invasive situations, should be considered for a type of minimal sedation with an additional and complementary tool for the successful achievement of treatment in ideal and safe conditions.

The assessment of the patient prior to the procedure

Recibido para evaluación: Junio 2018

Aceptado para publicación: Octubre 2018

Correspondencia: General Flores S/N esq. Ferrer. Trinidad. Flores. Uruguay. Telefax: (+598) 43642200.

E-mail de contacto: dramussini@hotmail.com

with sedation, is basic for decision making about the management offered, allowing the execution of sedation with safety and quality.

Conscious sedation with nitrous oxide and oxygen consists in the administration of a mixture of medicinal gas, nitrous oxide and oxygen, achieving the relaxation of the patient during the procedure. The patient is awake at all times, but more relaxed. The use of nitrous oxide and oxygen is one of the most effective techniques that benefit both the patient and the professional during surgery.

**KEY WORDS:** Anesthesia; Dentistry; Nitrous Oxide; Conscious Sedation.

### El óxido nitroso y su historia

El óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) es un gas medicinal que ha sido utilizado en la práctica anestésica durante más de un siglo y medio en Uruguay. Entre las principales limitaciones relacionadas con la utilización de óxido nitroso se citan el riesgo de hipoxemia observada cuando se emplean altas concentraciones (1). En 1772 el óxido nitroso fue descubierto por el científico inglés Joseph Priestley, quien también descubrió el oxígeno. Cuando en 1798 el químico Humphrey Davy descubre las propiedades analgésicas del óxido nitroso, inhaló óxido nitroso para determinar sus efectos, posterior a experimentar dolor en un diente parcialmente erupcionado; años más adelante (1800), Davy publicó un tratado sobre óxido nitroso en que surgió que el gas “probablemente podría usarse con ventajas durante las operaciones quirúrgicas”. Luego en 1844, Horace Wells (Odontólogo) retoma dichos estudios y usa el óxido nitroso para la extracción de uno de sus dientes (2,3).

A esto siguió un amplio uso clínico del óxido nitroso para la analgesia odontológica, pero al ser inhalado puro fue luego abandonado por las reacciones adversas y los riesgos de hipoxia asociados (3).

Debido a los efectos adversos producidos durante su administración como único gas, en la década de 1860 comenzó a ser utilizada la mezcla de óxido nitroso con oxígeno, aumentando su uso en las clínicas odontológicas (3).

Después del descubrimiento y utilización del clorhidrato de lidocaína en 1940 para disminuir el dolor, decayó el uso en odontología de la sedación inhalatoria, hasta que en 1976 Langa demostró que la utilización de la anestesia local combinada con sedación inhalatoria disminuía el dolor, la ansiedad, el miedo y los reflejos nauseosos de los pacientes (3). En la década de los 80 el tema de sedación empieza a tomar de nuevo fuerza y en 1984 la Sociedad Americana de Anestesiología (ASA) inicia curso acerca del uso del midazolam para sedación. En 1985, la Asociación Americana de Pediatría, en conjunto con la Asociación Americana de Odontología Pediátrica publica las primeras guías para el uso efectivo de la sedación consciente, sedación profunda y anestesia general en niños, por no anesthesiólogos. Posteriormente en el año 2002 la ASA publica las guías para sedación y analgesia para no anesthesiólogos, lo que genera aún más controversia alrededor de este tema dentro del gremio de anesthesiólogos a nivel mundial. En el 2010 el Consejo Europeo de Anestesiología, la Sociedad Europea de Anestesiología y representantes científicas de anestesiología europeas firmaron la declaración de Helsinki para la seguridad del paciente, la cual avalaron otras organizaciones como la Organización Mundial para la Salud, la Federación de Pacientes Europeos, La Federación Mundial de Sociedades de Anestesiología (2).

Dicha declaración expone de manera clara el papel fundamental de la anestesiología en el cuidado preoperatorio seguro y a las instituciones que suministran sedaciones las invita a cumplir con los modelos de sedación reconocidos por la anestesiología como estándar de una práctica segura (2).

Lo más reciente a nivel mundial es el consenso de expertos de la Sociedad Española de Anestesiología, del año 2016 utilizando la metodología Delphi, los expertos entregaron sus recomendaciones a partir de los temas propuestos: exponer las circunstancias concretas y diferenciadoras que comprometen la seguridad del paciente en entornos fuera del quirófano, categorizar los niveles de sedación, definir como evaluar a estos pacientes previo a la se-



dación, establecer unas recomendaciones mínimas de medios humanos y materiales para la sedación fuera del quirófano, conservar recomendaciones posteriores al procedimiento y criterios básicos de calidad asistencial en sedación para procedimientos diagnósticos y terapéuticos fuera de las áreas quirúrgicas (2).

### Niveles de Sedación

La sedación debe entenderse como un proceso continuo que puede ir desde la ansiolisis o sedación mínima hasta una sedación profunda y eventualmente llegar a la anestesia general (4).

Los profesionales involucrados en la administración de sedación deben ser capaces de reconocer el nivel de sedación actual de sus pacientes, tener los conocimientos adecuados para recuperarlos al nivel de sedación inicialmente planificado y las complicaciones evitando o minimizando efectos adversos (4). La Sociedad Americana de Anestesiología (ASA) ha definido los niveles de Sedación de acuerdo a los siguientes parámetros:

- Respuesta a estímulos
- Vía aérea
- Ventilación espontánea
- Función cardiovascular

Grado I: sedación mínima o Ansiolisis. Estado inducido por una droga en el cual los pacientes responden normalmente a órdenes verbales, aunque algunas funciones cognitivas y de coordinación física pueden estar alterados, los reflejos de mantención de la vía aérea y las funciones respiratoria y cardiovascular.

Grado II: sedación consciente. Es una depresión de la conciencia inducida por drogas durante la cual los pacientes responden adecuadamente a estímulos verbales, ya sea solo o acompañado de suaves estímulos verbales, ya sea solo o acompañado de suave estímulo táctil. No se requieren intervenciones para mantener la vía aérea permeable y la ventilación espontánea es adecuada. La función cardiovascular esta usualmente mantenida.

Grado III: sedación profunda. Es una depresión de

la conciencia inducida por drogas durante la cual los pacientes no pueden ser despertados fácilmente, pero responden adecuadamente a estímulos repetidos y dolorosos. La habilidad de mantener la función respiratoria espontánea independientemente puede estar comprometida. Los pacientes pueden requerir asistencia para mantener la vía aérea permeable y la ventilación espontánea puede ser inadecuada. La función cardiovascular usualmente está mantenida. Grado IV: anestesia general. Es la pérdida de conciencia inducida por drogas durante la cual los pacientes no responden, aun ante la estimulación dolorosa. La capacidad de mantener la función ventilatoria independiente, está a menudo comprometida. Los pacientes frecuentemente requieren asistencia para mantener la vía aérea permeable y puede requerirse ventilación a presión positiva debido al uso de depresores de la ventilación espontánea o depresión de la función neuromuscular inducida por drogas (4,5).

### Uso de óxido nitroso

El uso de sedación consciente es mundialmente utilizado en el ámbito médico, especialmente en ginecología, siendo la forma de administración más frecuente una pre-mezcla de óxido nitroso (50/50% Entonox) sin embargo, la dosis y concentraciones de óxido nitroso requeridas para el uso odontológico son aun menores por lo que se recomienda el uso de la pre-mezcla en procedimientos dentales (3).

En varios países, incluidos Estados Unidos, Canadá, Australia, Nueva Zelanda y el Reino Unido, la anestesia relativa (término introducido en odontología por Harold Langa, en 1968, para representar la sedación por inhalación con un flujo continuo y concentraciones variables de óxido nitroso y oxígeno para producir sedación y analgesia) es una técnica utilizada en diversas especialidades médicas, incluida la odontología y puede considerarse la forma mas popular de sedación entre la odontología pediátrica especialista (6).

Otros estudios realizados en Colombia por Bentancur y colaboradores en 2006 evaluaron la

técnica farmacológica con óxido nitroso por parte de los padres de niños entre 4 y 12 años, la cual fue aceptada en un 82% como alternativa para el manejo de pacientes durante la consulta odontológica, haciéndola más placentera y eficiente (7).

### Óxido nitroso en odontología

El anestésico inhalatorio óxido nitroso es un componente inorgánico, inodoro, de estructura simple y lineal que, a temperatura y presión ambiente, se presenta en fase gaseosa y es químicamente estable. El mecanismo de acción del óxido nitroso todavía es poco conocido, pero con seguridad involucra varios tipos de receptores entre los cuales tenemos los dopaminérgicos, adrenérgicos, benzodazepínicos y N-metil D-aspartato (8).

El óxido nitroso es un agente de inhalación inorgánico que es incoloro e inodoro, apenas visible con un sabor dulce. Es transportado en sangre; no se combina con la hemoglobina y se somete a biotransformación. La eliminación del óxido nitroso se produce por medio de la espiración de manera tal que la reserva o absorción y distribución, y la baja solubilidad del óxido nitroso permite rápida eliminación (9).

La sedación consciente es una depresión de la conciencia inducida por medicamentos durante la cual los pacientes responden a ordenes verbales, ya sea solo o acompañados de una ligera estimulación táctil (10). Entre sus efectos el más importante es la disminución del dolor y de la ansiedad, aunque no puede sustituir a la anestesia local, manteniendo un nivel de seguridad de conciencia (10).

Es un fármaco fácil de manejar, se puede administrar cantidades crecientes, controladas para el paciente hasta alcanzar el nivel de sedación deseada. Una vez que cesó la administración de óxido nitroso, el paciente vuelve a su estado anterior debido a la reversibilidad rápida de los efectos. A la vez es importante proporcionar solo la cantidad necesaria del medicamento para llevar a cabo el proceso, evitando la sedación excesiva y favoreciendo una experiencia positiva (10).

Su administración es sencilla y no dolorosa al utili-

zarse la vía inhalada, su inicio es de acción rápida, como también el cese de su efecto una vez que se suspenden la inhalación y los efectos adversos descritos son escasos y leves. Esto hace que se sitúe como uno de los agentes de primera elección para la realización de procedimientos cortos que producen dolor de intensidad leve-moderada, habiéndose demostrado que puede ser administrado con seguridad incluso por personal de enfermería adecuadamente entrenado. Al igual sucede con otros fármacos sedantes y analgésicos, su uso no excluye del empleo de anestesia tópica o local si esta estuviese indicada (11).

La sedación por inhalación con óxido nitroso/oxígeno es un procedimiento para el manejo seguro y efectivo de la atención odontopediátrica (12).

Su aplicación es muy rápida y sus efectos clínicos se vuelven evidente en pocos minutos. La administración en forma creciente, o sea de pequeñas dosis de óxido nitroso hasta la concentración ideal para cada paciente, observando los efectos clínicos inmediatos (12).

Esa es una de las ventajas de la administración óxido nitroso/oxígeno por vía inhalatoria, el profesional puede ajustar la concentración de la droga para cada paciente, tornándose un método seguro (12,13).

El óxido nitroso mezclado con el oxígeno es muy usado también en los pacientes odontopediátricos. Sus efectos clínicos aparecen en pocos minutos. Permite ir graduando las dosis de forma creciente ya que el profesional puede ir ajustando e ir observando sus efectos clínicos, de manera que resulta un método seguro. Esta técnica permite determinar el tiempo de acción de la droga en relación con el tiempo de duración del tratamiento y proporciona mayor confort y seguridad (13).

Esta técnica consiste en la inhalación del óxido nitroso asociada al oxígeno, a través de un equipo específico (fluxómetro) y de una máscara nasal, que proporciona de manera continua un porcentaje de óxido nitroso en la mezcla con el oxígeno, variable entre 10% a 70% dependiendo de la respuesta clínica de cada paciente (14).



Con el desarrollo de equipos y dispositivos de seguridad más precisos que impiden el suministro de gas de óxido nitroso solos, además de la máscara nasal para evitar volver a respirar gases exhalados, esta técnica se ha usado de forma rutinaria en varios países (14).

La mezcla de óxido nitroso/oxígeno es inhalada por el paciente a través de una máscara nasal que posee un sistema de entrada y otro de salida o extracción de gases. El óxido nitroso tiene olor agradable y no produce irritación de la vía aérea, y posee además un alto valor Mínima Concentración Alveolar (MAC) lo que permite un rápido comienzo de sus efectos, aún en bajas concentraciones, después de un breve período de inducción (3,11).

### **Requisitos para sedación óxido nitroso/oxígeno**

La sedación es una práctica frecuente utilizada para la realización de procedimientos médicos y odontológicos invasivos y no invasivos tanto diagnóstico como terapéutico por imagen, radiología invasiva, urgencias, cateterismos cardíacos y endoscopia, entre otros (15).

En odontología sólo deben utilizarse equipos de sedación por inhalación que permitan dosificar la administración de óxido nitroso y de oxígeno. El sistema de dosificación debe estar diseñado para impedir una dosificación que supere el 70% de óxido nitroso e inferior a 30% de oxígeno. Debe también poseer un sistema de seguridad que impida el flujo de óxido nitroso cuando falle el flujo de oxígeno (3).

El éxito de esta técnica depende de una correcta titulación a las respuestas individuales del paciente, dado por la experiencia del operador sumado a las técnicas de manejo utilizadas (3).

Estas recomendaciones indican explícitamente que la sedación siempre la debe hacer un médico, un odontólogo, una enfermera o un auxiliar de enfermería, bajo la supervisión del operador responsable, y, sobre todo, una persona distinta de la que hace el procedimiento. Esta persona debe tener las competencias mínimas para:

1) Vigilar los signos vitales del paciente: la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la saturación de oxígeno.

2) Debe tener certificación en soporte vital básico si hace sedación grado I o II. Dicha certificación debe renovarse de manera periódica, según los estándares vigentes.

3) Debe contar con la formación básica en sedación, obtenidas en cursos a los que avale la sociedad científica del área (odontología, gastroenterología, radiología, etc.), de manera periódica.

4) La anterior certificación debe incluir entrenamiento en manejo de crisis/complicaciones.

5) Esta certificación debe tener una vigencia de solamente 4 años, y debe renovarse con la misma periodicidad (5).

Se recomienda que los profesionales que administran sedación fuera del quirófano desarrollen competencias en el uso de los dispositivos utilizados para soporte vital básico o avanzado, mediante el reconocimiento del funcionamiento e interpretación de los dispositivos (14).

En Brasil, el uso de analgesia relativa en odontología fue respaldada por el Colegio de Dentistas de Brasil en 2004. La legislación vigente establece que los dentistas pueden proporcionar la analgesia relativa después de un curso de capacitación de 96 horas y presentar un comprobante de finalización al Colegio de Dentistas de Brasil (6).

Su administración, al 50% junto con oxígeno, se realiza de manera habitual en países como Canadá, Inglaterra, Finlandia, Suecia y Australia que describen la utilización de la técnica analgésica (15).

Reino Unido establece que los dentistas pediátricos especializados hayan adquirido las habilidades y la competencia necesaria para la sedación consciente de la inhalación de óxido nitroso, pero estas personas están obligadas a actualizarse regularmente y adherirse a las políticas de procedimientos nacionales y regionales. La formación de soporte vital básico anual es obligatoria para todos los profesionales de salud (16).

En Uruguay la administración de cualquier forma de Sedación consciente se debe realizar por un médico anesthesiólogo habituado a los requerimientos de los procedimientos odontológicos (17).

La historia clínica completa del paciente es esencial para evaluar y poder ser sometido a la sedación (12,14).

La valoración del paciente previo al procedimiento con sedación es básica para tomar decisiones sobre el manejo que se le ofrece, permitiendo ejecutar con seguridad y calidad. Por consiguiente, debe realizarse una cuidadosa historia que incluya: comorbilidades del paciente, antecedentes sobre uso de medicamentos, adicciones, alergias e historia familiar relacionadas con complicaciones por anestesia, examen físico, enfocado en los sistemas cardiorrespiratorio, estado neurológico y vía aérea (14,18).

El paciente que va a ser sometido a sedación de cualquier magnitud debe contar con una oportuna evaluación preanestésica que contenga:

Clasificación ASA del estado funcional:

ASA I - paciente normal sano

ASA II - paciente con enfermedades sistémicas controladas (ej. enfermedades de vías aéreas reactivas controladas)

ASA III - paciente con enfermedad sistémica de grado moderado o grave que origina cierta limitación funcional

ASA IV - paciente con enfermedad sistémica grave, que amenaza constante la vida (ej. paciente con estatus asmático).

ASA V - enfermo moribundo que no se espera que sobreviva 24 horas con o sin cirugía (19,20).

Independientemente del riesgo médico de cada paciente, durante el tratamiento odontológico con sedación deben ser controlados o monitorizados los signos vitales, como la frecuencia cardíaca y respiración, presión sanguínea, temperatura y saturación de oxígeno (12).

Antes de realizar una sedación necesitamos explicar, en caso de niños a padres y/o tutores e igualmente al sujeto adulto paciente, los objetivos de la seda-

ción, planes alternativos, riesgos, contraindicaciones y obtener un consentimiento informado (3,19).

Es importante explicar y dar por escrito instrucciones de ayuno. Las normas de ayuno varían muy poco en los países europeos. En general se recomienda no beber líquidos claros como agua, zumos (sin pulpa), té y café 2 o 3 horas antes de la sedación. No ingerir comida sólida desde cuatro horas antes de la sedación (inclusive leche y todos los lácteos) (3,19).

Es recomendable también explicar y mostrar al paciente el equipo de sedación, los objetivos de su utilización y el comportamiento y ayuda que se espera de él para que el tratamiento pueda llegar a buen término (3).

### Protocolo de aplicación del Óxido nitroso

Puede ser utilizado en la consulta dental o en ambientes hospitalarios. Los pacientes ASA I o II no presentan inconvenientes para ser tratados en el consultorio, mientras el resto de los pacientes deben ser tratados en el ambiente hospitalario. Se debe tener una consulta previa para realizar la valoración del paciente. Realizar una historia clínica, un examen físico completo y merecen especial atención la evaluación de la vía aérea (5, 17, 19, 20).

Se debe realizar consentimiento escrito y firmado, el paciente y sus familias deben estar informados sobre la técnica de sedación, los beneficios, riesgos y limitaciones del procedimiento (5, 17, 19, 20).

Antes del procedimiento se darán las indicaciones pre y post operatorias por escrito, en caso del óxido nitroso/oxígeno no se recomienda ayuno de 6 horas, pero si se recomienda una ingesta liviana 2 horas antes (17).

El monitoreo se impone en todas las formas de sedación consciente. Comprende la valoración sistema nervioso central, sistema cardiovascular y del aparato respiratorio. Se realiza contacto verbal con el paciente y por observación constante del color de la piel y de la profundidad y frecuencia respiratoria. Se utilizan métodos no invasivos para registrar el pulso, la saturación del oxígeno y la presión arterial (4,5,15,16).

La técnica es sencilla pero solo con experiencia se



aprende a determinar el grado de sedación apropiado para cada paciente (18).

En odontología solo deben usarse equipos de sedación por inhalación que permita dosificar la administración de óxido nitroso y oxígeno (fluxómetro) y una máscara nasal. El sistema debe estar diseñado para impedir una dosificación que supere el 70%, debe también poseer un sistema de seguridad que impida el flujo de óxido nitroso cuando falle el oxígeno. El profesional debe estar familiarizado con las características de seguridad. Con el desarrollo de equipos y dispositivos de seguridad más precisos que impiden el suministro de gas óxido nitroso solos, además de la máscara nasal, para evitar volver a respirar gases exhalados (3, 9,14,18).

Los efectos clínicos de la mezcla oxido nitroso oxígeno aparece en pocos minutos, los equipos permiten ir graduando las dosis en forma creciente ya que el profesional puede ir ajustando e ir observando los efectos clínicos (3,13).

En la mayoría de los casos la analgesia promovida por el óxido nitroso no es suficiente para garantizar un tratamiento dental indoloro y la suplementación con anestesia local se hace necesaria (8,12).

### **Contraindicaciones**

Aunque no existe una contraindicación absoluta, se debe restringir este tipo de sedación a pacientes con obstrucción de las vías aéreas superiores, pacientes clasificados en el grupo III, IV, V de acuerdo con la clasificación ASA, pacientes psicóticos, mujeres en el primer trimestre de embarazo y los pacientes con problemas pulmonares crónicos (3,12).

Hay pocas preocupaciones médicas importantes asociadas con el uso del óxido nitroso, no hay alergias conocidas, no obstante, es recomendable que el médico tenga en cuenta ciertas afecciones clínicas: cirugías oculares recientes, otitis media, obstrucciones intestinales y afecciones pulmonares (21).

Los efectos adversos relacionados con la inhalación de óxido nitroso incluyen hipoxia, náuseas, vómitos y sobre sedación, sin embargo, todos estos efectos son de baja ocurrencia, aumentando su frecuencia en

edades extremas y en pacientes ASA II (3, 20, 22).

El óxido nitroso tiene un bajo nivel en sangre: el coeficiente de solubilidad del gas, por lo tanto, se difunde fuera de la sangre en grandes volúmenes que diluyen el oxígeno en los alvéolos pulmonares y reducen la tención alveolar del oxígeno, lo que produce hipoxia. Esto se produce a altas concentraciones y cuando se combina con otras drogas (23).

Las principales desventajas caen sobre el coste de los equipos necesarios, espacio para el equipo, necesidad de formación y cualificación del dentista y su equipo, y la variación individual de la dosis para cada paciente (12).

### **CONCLUSIONES**

El óxido nitroso es una técnica segura y efectiva para el tratamiento de aquellos pacientes que presentan rechazos a la atención odontológica, es un complemento de las técnicas de manejo convencional. Es una técnica no agresiva para el paciente y la recuperación tras su administración es muy rápida.

La seguridad del paciente ha de ser en todo momento la prioridad del profesional que ofrece sedación.

La sedación por inhalación de óxido nitroso es considerada sedación mínima. Una concentración de 30 a 40% de óxido nitroso es suficiente para reducir la ansiedad y lograr el comportamiento deseado.

Actualmente con los avances de la medicina y de la odontología el óxido nitroso es una técnica muy utilizada en los consultorios odontológicos, se deben utilizar equipos de sedación específicos que dan seguridad y eficacia a la técnica; siguiendo los protocolos de aplicación y además teniendo profesionales adecuadamente formados y aptos para indicarla, llevarla a cabo y evaluar la relación de riesgo.

No hay una técnica ideal, sino la mas adecuada para cada tipo de paciente. Es una buena técnica para el manejo de paciente con estrés, nerviosismo, ansiedad, tanto niños, adultos o pacientes especiales.

El objetivo final del uso de la sedación consciente es no solo tener al paciente relajado, sino también brindar atención dental eficiente y de calidad.

## REFERENCIAS

- (1) Fernández P, Andruskevicius M, Cristiani F. Utilización de óxido nítrico en Uruguay. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 2010; 57(2):71-78.
- (2) Moreno-Guzmán. Breve historia de la anestesia. *Rev Sanid Milit Mex* 2012; 66(4):189-194.
- (3) Mezzano S, Carraco M, Ramírez C, Paz M, Srandoni G. Sedación Consciente con Óxido Nítrico, una nueva herramienta en la práctica clínica Odontológica. *Rev Soc Odontopedía V Región* 2016; 16:29-36.
- (4) Leiva A. Anestesia Fuera de Pabellón. *Rev Med Clin Condes* 2017; 28(5):738-746.
- (5) Ibarra P, Galindo M, Molano A, Niño C, Rubiano A, Echeverry P, et al. Recomendaciones para la sedación y la analgesia por médicos no anestesiólogos y odontólogos de pacientes mayores de 12 años. *Rev Colomb Anesthesiol* 2012; 40(1):67-74.
- (6) Daher A, Pinheiro R, Rezence L, Rodrigues C. Practices and opinions on nitrous oxide/oxygen from dentists licensed to perform relative analgesia in Brazil. *BMC Oral Health* 2012; 12:21.
- (7) Cordero N, Cadenas J, Álvarez G. Parental acceptance of pharmacologic and non-pharmacologic behavior management techniques in pediatric dentistry. *Rev CES Odont* 2012; 25(2):24-32.
- (8) Texeira L, Fernandes G, Fernandes F. Uso del Óxido Nítrico en Pediatría. *Rev Bras Anesthesiol* 2012; 62(3):451-467.
- (9) Donaldson M, Donaldson D, Quarnstrom F. Nitrous oxide-oxygen administration. *JADA* 2012; 143(2):134-14.
- (10) Bonafé-Monzó N, Rojo-Moreno J, Catalá-Pizarro, M. Analgesic and physiological effects en conscious sedation whit different Nitrous oxide concentrations. *J Clin Exp Dent* 2015; 7(1): e63-8.
- (11) Gómez B, Capapé S, Benito F, Landa J, Fernández Y, Luaces C, et al. Efectividad y seguridad del uso de óxido nítrico para sedoanalgesia en urgencias. *An Pediatr (Barc)* 2011; 75(2):96-102.
- (12) Becerra L, Sanabe M, Marega T, Goncalves J, Braga de Abreu C. Sedacao conciente: um recurso codjuvante no atendimento odontológico de crianca nao cooperativas. *Arq Odontol Belo Horizonte* 2011; 47(1):45-50.
- (13) Rodríguez H. Tratamientos farmacológicos y no farmacológicos para la ansiedad al tratamiento estomatológico. *Rev Cubana Estomatol* 2016; 53(4):277-290.
- (14) Rubiano A, Burbano C, Hernández A, Rincón D, Benavides C, Restrepo S. Currículo para la administración de sedación fuera del quirófano en pacientes mayores de 12 años. *Rev Colomb Anesthesiol* 2017; 45(3):239-250
- (15) Ruiz J, Rodríguez R, Romero A. Eficacia y seguridad de la utilización del óxido nítrico al 50% como analgesia en el parto. *Prog Obstet Ginecol* 2011; 54(3):121-127.
- (16) Woolley SM, Hingston EJ, Shah J, Chadwick BL. Paediatric conscious sedation: views and experience of specilists in paediatric dentistry. *Br Dent J* 2009; 207(6):E11; discussion 280-1.
- (17) Crestanello J, Fernández C, Arismendi C. Sedación consciente: una alternativa en el manejo del dolor y la ansiedad en odontología. *Actas Odontol* 2005; 2(1):15-24.
- (18) Pérez P. Sedación en odontología: Sedación inhalatoria con óxido nítrico. *Gaceta Dental* 2017; 295:154-160.
- (19) ASA physical status classification system. Last approved by the ASA House of Delegates on October 15, 2014. Disponible en: file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/asa-physical-status-classification-system.pdf [Consulta 04/05/2018].
- (20) ASA. Standards for Basic anesthesia monitoring: committee of origin: standars And practice parameters (approved by the ASA house of delegates on October 21, 1986, last amended on October 28, 2015). ASA; 2015. Disponible en: file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/standards-for-basic-anesthetic-monitoring%20(1).pdf [Consulta 04/05/2018].



(21) Wilson S. Management of child patient behavior: quality of care fear and anxiety, and the child patient. *J Endod* 2013; 39(3 Suppl):S73-7.

(22) Hennequin M, Collado D, Faulks D, Koscielny S, Onody P, Nicolas E. Un ensayo clínico de eficiencia y seguridad de la sedación por inhalación con una mezcla de 50% de óxido nitroso/oxígeno en la práctica general. *Invest Clín Orales* 2012; 16(2):633-642.

(23) Khinda VI, Bhuria P, Kallar S, Brar GS. Evaluación comparativa de la hipoxia por difusión y habilidades psicomotoras con o sin oxigenación posterior a la administración de óxido nitroso en niños sometidos a procedimientos dentales: estudio clínico.

*J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2016; 34:217-22.



# Ergotismo y antirretrovirales inhibidores de proteasa

## Ergotism and antiretroviral protease inhibitors

Rosa Almeida <sup>a</sup>, Leonardo Tolosa <sup>b</sup>.

(a) Servicio de Anestesiología. Hospital Central de las Fuerzas Armadas. Montevideo. Uruguay.

(b) Centro de tratamiento intensivo. Hospital Central de las Fuerzas Armadas. Montevideo. Uruguay.

### RESUMEN

El Ergotismo es una entidad caracterizada por vasoespasmo secundario a ingestión de sustancias derivadas de los alcaloides del cornezuelo (Ergotamina). Presentamos un caso clínico de una paciente joven portadora del Virus de la Inmunodeficiencia Humana, tratada con antirretrovirales inhibidores de la proteasa, que luego de automedicarse con ergotamínicos sufre isquemia severa de miembros inferiores, requiriendo ingreso a Centro de Cuidados Intensivos, mejorando con vasodilatadores por vía endovenosa, logrando egreso a sala con resolución prácticamente completa.

**PALABRAS CLAVE:** Antirretrovirales; Ergotismo; Extremidad Inferior; Isquemia; Vasoespasmo Coronario.

### ABSTRACT

Ergotism is an entity characterized by vasospasms secondary to the ingestion of substances derived from ergot alkaloids (Ergotamine). We present a clinical case of a young patient with the Human Immunodeficiency Virus, treated with antiretroviral protease inhibitors, which after self-medication with ergotamins suffered severe ischemia of the lower limbs, requiring admission to the intensive care center. This improved with intravenous vasodilators, achieving discharge to the ward with a virtually complete resolution.

**KEY WORDS:** Anti-Retroviral Agents; Ergotism; Lower Extremity; Ischemia; Coronary Vasospasm.

### INTRODUCCIÓN

El Ergotismo se caracteriza por generar vasoespasmo arterial periférico, más frecuentemente a nivel de los miembros inferiores. Tiene baja incidencia (0,01% de pacientes que consumen ergotamina) (1,2). La entidad se produce debido a la acción vasoconstrictora de los derivados de los alcaloides del cornezuelo. Este es un componente estructural de ciertos hongos del género *Claviceps Purpúrea*, que parasitan el centeno y otras gramíneas (2,3). Librado a su evolución puede producir una isquemia grave, comprometiendo la vitalidad del miembro y hasta la vida del paciente. Si bien hay históricamente casos de intoxicaciones por consumo de granos contaminados, hoy en día los casos reportados son yatrogénicos, vinculados a la administración de fármacos que contienen derivados de los alcaloides del cornezuelo (Ergotamina) usados para el tratamiento de la migraña, de las hemorragias posparto e incluso, en algunos lugares, en la profilaxis de las trombosis venosas profundas (2,3).

### CASO CLÍNICO

Presentamos el caso de una paciente de sexo femenino de 22 años. Antecedentes Personales: Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) diagnosticado en 2016, en tratamiento con terapia antirretroviral (TARV) (kivexa, abacavir, lamivudina y ritonavir). Consumidora habitual de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y Ergotamina (3 veces por semana en el último año). Tabaquista.

Enfermedad Actual: Veinte días previos al ingreso instala dolor en miembros inferiores (MMII), a nivel de pantorrilla, que aumenta con su elevación, y que se

Recibido para evaluación: Setiembre 2018

Aceptado para publicación: Octubre 2018

Correspondencia: Av. 8 de Octubre 3020. C.P.11600. Montevideo. Uruguay. Tel.: (+598)24876666 int. 8110.

E-mail de contacto: almeidandrea@gmail.com

extiende a toda la pierna en forma bilateral. La paciente incrementa el consumo de Ibuprofeno y Ergotamina en la última semana. En la evolución agrega parestesias y frialdad por lo que consulta en emergencia del hospital de Mercedes, Dpto. de Soriano, Uruguay. Se traslada al Hospital Central de las Fuerzas Armadas el día 2 de enero de 2018 e ingresa a sala. Eco doppler arterial: arterias femoral común, profunda, superficial y poplítea permeables bilateralmente con marcada reducción del calibre en forma progresiva (vasoconstricción), hacia sectores distales. La señal en la poplítea es de perfil monofásico, con caída del flujo significativa. En ejes de las piernas no se registra flujo. El 03/01 ingresa al Centro de Tratamiento Intensivo (CTI). Lúcida, sin síndrome focal neurológico. Hemodinamia estable, normotensa, sin apoyo de vasopresores, Presión arterial sistólica (PAS) 120 mmHg, Frecuencia cardíaca (FC) 90 cpm, sin elementos de falla cardíaca. Eupneica, saturando 98% ventilando al aire. MMII: palidez y frialdad periférica, cianosis distal, no se palpan pulsos pedios ni tibial posterior (figura 1).

Se inicia Nitroprusiato de sodio intravenoso (i/v) en bomba de infusión continua (BIC), pentoxifilina y nifedipina. Analgesia con fentanyl i/v en BIC.

Se repite ecodoppler el 05/01 que informa: Estudio similar al anterior. Se mantiene sin evidencia clínica de isquemia arterial en otros sectores. Se mantiene terapia antirretroviral (TARV) por indicación de infección. Rabdomiolisis con CPK en torno a 4000, sin disfunción renal. Cursa 6 días en la unidad. Mejoría de la perfusión. Pulso pedio y tibial posterior presente bilateralmente (figura 2). Persistiendo con parestesias en planta del pie izquierdo. Alta a sala con nitroglicerina en forma de parche, nifedipina y pentoxifilina v/o.

## DISCUSIÓN

El principal efecto farmacológico de los alcaloides del cornezuelo y sus derivados directos son la estimulación de receptores alfa-adrenérgicos de las células musculares lisas vasculares, con la consecuente vasoconstricción. El Vasoespasmo prolongado puede producir lesión endotelial y consecuentemente favorecer lesiones trombóticas con isquemia irreversible.



**Figura 1.** Se muestra la palidez de los pies con cianosis distal, en miembros fríos, sin pulsos pedios ni tibiales posteriores.



**Figura 2.** Progreso clínico del pie: con mejoría de la perfusión y el retroceso de la cianosis.

También puede ocurrir fibrosis del músculo liso vascular por vasoconstricción de la vasa vasorum. El efecto

vasoconstrictor curiosamente afecta a vasos de mediano calibre. El efecto es notable a nivel de la arteria ilíaca externa y la arteria femoral superficial (2).

La biodisponibilidad de la ergotamina luego de la ingestión es del 5% debido a un importante primer paso hepático, mediante la isoenzima 3A4 del citocromo P450 (CYP3A4). Existen múltiples fármacos de metabolismo hepático que pueden incrementar su potencial vasoconstrictor, tales como antibióticos, contraceptivos orales y antirretrovirales. Particularmente nos ocuparemos de los inhibidores de proteasa del VIH. El ergotismo puede ocurrir cuando se administra cualquier dosis (aún pequeña y única) de ergotamina o dihidroergotamina, asociada a otra sustancia que inhiba su metabolismo hepático (4). Tal es el caso de los antirretrovirales inhibidores de proteasa (Ritonavir entre otros) utilizados para el tratamiento de virus como el HIV. Todos los inhibidores de proteasa del VIH se metabolizan primariamente por la isoenzima CYP 3AR del citocromo P450. El Ritonavir, a su vez, también es metabolizado por la isoenzima CYP 2D6 y CYP 2C9/10, y es el único inhibidor de proteasa VIH que inhibe esas 3 isoenzimas. Por tal motivo, el Ritonavir enlentece el metabolismo de varias drogas, e incrementa la biodisponibilidad de otros inhibidores de proteasa de VIH cuando se dan en forma concomitante, y también explica el incremento de la concentración plasmática de la ergotamina o dihidroergotamina a niveles tóxicos (4).

La clínica ergótica se caracteriza por manifestaciones vasculares que pueden afectar a cualquier territorio, órgano o sistema, siendo más frecuente en las extremidades inferiores, con palidez, frialdad, pérdida de pulsos y clínica de claudicación intermitente dolorosa de miembros inferiores y hasta fenómenos de Reynaud (2).

El diagnóstico es clínico, complementado con Doppler de los miembros afectados, y noción de consumo de los fármacos en cuestión (1).

Nuestra paciente tuvo una presentación clínica típica, confirmándose asimismo con estudios doppler la afectación isquémica de MMII.

El tratamiento consta en la administración de vaso-

dilatadores arteriales como el nitroprusiato de sodio, aunque en muchos centros prefieren utilizar nitritos orales o en infusión intravenosa, y se reserva el nitroprusiato sódico para los casos más graves. Se han utilizado con éxito otros vasodilatadores orales, como los antagonistas del calcio de tipo nifedipina (actúan sobre el músculo liso) o nitroglicerina. También se ha ensayado el uso de anestésicos epidurales o espinales, bloqueo simpático, papaverina, tolazolina, procaína, prazosina ( $\alpha$ -bloqueador) y oxígeno hiperbárico. Esta última se recomienda para aquellos pacientes con isquemia aguda provocada por derivados ergóticos que no cede con el tratamiento conservador. Otros fármacos que se han comunicado como vasodilatadores efectivos en estos cuadros son la prostaglandina E1 (aloprostadil) y la prostaciclina I2 (epoprostenol, iloprost, treprostinil, beraprost). Al tratamiento vasodilatador se le asocia antiagregación plaquetaria con ácido acetil salicílico y se puede usar además pentoxifilina 400 mg cada 8 horas vía oral. Como trombotilaxis durante los períodos de espasmo vascular está indicada la heparinoterapia de bajo peso molecular. Algunos autores sugieren los inhibidores de la glicoproteína IIb/IIIa como segunda línea de tratamiento (5). En casos de refractariedad son anecdóticos los casos donde podría considerarse tratamiento intervencionista como angioplastia con balón, aunque ésta puede generar daño vascular e incluso fracasar por el riesgo incrementado de vasoespasmo recurrente en la fase aguda de la enfermedad (2). Nuestra paciente mejoró con tratamiento conservador, básicamente con vasodilatadores arteriales endovenosos en la etapa aguda, continuando luego con medicación de mantenimiento por vía oral, anticálcicos y nitritos transdérmicos. Asimismo se complementó el tratamiento con profilaxis antitrombótica con heparina de bajo peso molecular (HBPM) y pentoxifilina; se mantuvo en todo momento la TARV, como está indicado logrando resultados satisfactorios.



## CONCLUSIONES

El ergotismo es una enfermedad potencialmente reversible, por lo que es clave el diagnóstico precoz, para evitar la isquemia irreversible de los órganos afectados y para ello, es importante tener en mente la asociación farmacológica que favorece el cuadro particularmente el paciente portador de VIH tratado con antirretrovirales.

Debe advertirse al paciente por parte de los médicos tratantes desaconsejando firmemente el uso de derivados ergotamínicos.

## REFERENCIAS

- (1) Cinfuentes MD, Blanco LS, Ramírez FC. Ergotismo por uso simultáneo de ergotamínico y terapia antirretroviral. Rev méd Chile [Internet]. 2016 June [citado 2018 Jun 12]; 144 ( 6 ):807-812. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872016000600017&lng=en](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872016000600017&lng=en). <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872016000600017>.
- (2) Liegl C, Mc Grath M. Ergotism: Case Report and Review of the Literature. Int J Angiol 2016; 25(5):e8-e11.
- (3) Avihingsanon A, Ramautarsing RA, Sawanpimolkul G, Chetchotisakd P, Bowonwatanuwong C, Jirajariyavei S, et al. Ergotism in Thailand caused by increased Access to antiretroviral drugs: a global warning. Top Antivir Med 2014; 21(5):165-8.
- (4) Blanche P, Rigolet A, Gombert B, Ginsburg C, Salmon D, Sicard D. Ergotism related to a single dose of ergotamine in AIDS patient treated with ritonavir. Postgrad Med J 1999; 75 (887):546-7.
- (5) Finn BC, Vadalá S, Meraldi A, Bruetman JE, Martínez JV, Young P. Ergotismo y HIV. Medicina (Bs As) 2013; 73(4):346-8.



## Micetoma sobre cavidad neoformada

### Mycetoma on a neoformed cavity

Magdalena de Torres <sup>a</sup>, Diego Alonso <sup>a</sup>, Verónica Cedrés <sup>a</sup>.

(a) Servicio de Neumología. Hospital Central de las Fuerzas Armadas. Montevideo. Uruguay.

#### RESUMEN

Se reporta un caso de aspergilosis pulmonar, bajo la presentación de micetoma pulmonar, aislándose como agente *Aspergillus Flavus*, asistido en sala de medicina y servicio de neumología del Hospital Central de las Fuerzas Armadas del Uruguay.

El paciente tenía secuela cavitaria postinfecciones en mismo pulmón donde presentó un carcinoma bronco pulmonar estadio IIIB asistido con quimioterapia y radioterapia el año anterior.

**PALABRAS CLAVE:** *Aspergillus flavus*; Enfermedades Pulmonares Fúngicas; Micetoma.

#### ABSTRACT

It is reported a case of pulmonary aspergillosis, under the presentation of a pulmonary mycetoma, isolated as agent *Aspergillus Flavus*; it was attended in the medicine ward and Pulmonology Service of the Armed Forces Central Hospital of Uruguay.

The patient had a post-infections sequela cavity in the same lung where he had shown a bronchopulmonary carcinoma stage IIIB, assisted with chemotherapy and radiotherapy in the previous year.

**KEY WORDS:** *Aspergillus flavus*; Lung Diseases, Fungal; Mycetoma.

#### CASO CLÍNICO

G.S. 64 años. Procedente de Treinta y Tres.

Antecedentes personales de ser fumadora moderada hasta hace dos años. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fenotipo Bronquitis crónica. Enfisema, exacerbador, con funcional respiratorio desde 16 de octubre de 2013: Capacidad vital (CV) de 84%, capacidad vital forzada (CVF) 85%, volumen espiratorio forzado en primer minuto (VEF1) 62%, VEF1/CVF 77%, obstrucción fija del flujo espiratorio de grado moderado sin respuesta positiva a salbutamol, saturación de oxígeno de 96%. Diabetes Mellitus Tipo 2.

Cirugía de cuerda vocal izquierda en el 2001 (lesión hiperqueratósica acantopapilomatosa) en control endoscópico trimestral.

En octubre 2013 diagnóstico de carcinoma broncopulmonar a células pequeñas de lóbulo superior izquierdo (LSI), estadio IIIB según clasificación TNM de 2017 (1) (figura 1). Recibió tratamiento con radioterapia y quimioterapia hasta abril del 2014 con buena respuesta en lo oncológico (figura 2). Sin actividad tumoral actual.

En setiembre 2014 presentó Neumonía comunitaria en paciente inmunocomprometido, en Lóbulo inferior izquierdo (figura 3), con buena respuesta clínica bajo antibioticoterapia empírico.

Nuevo ingreso en febrero de 2015 por cuadro catalogado como neumonía en pulmón patológico. Recibió tratamiento antibiótico empírico en base a ampicilina sulbactam + clindamicina por 12 días. Del balance lesional se destaca valoración por tomografía de tórax (TAC Tx) que mostró: disminu-

Recibido para evaluación: Octubre 2017

Aceptado para publicación: Junio 2018

Correspondencia: Av. 8 de Octubre 3020. C.P.11600. Montevideo. Uruguay. Tel.: (+598)24876666 int. 1840.

E-mail de contacto: magdadet@gmail.com

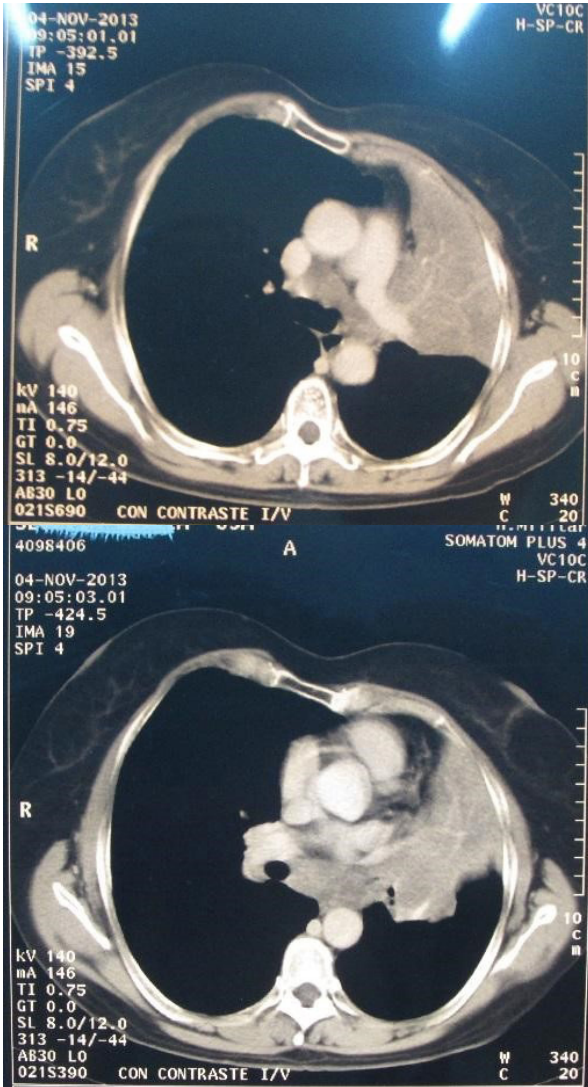


Figura 1. Cancer broncopulmonar en LSI, 11/2013.

ción volumétrica del hemitorax izquierdo, múltiples cavidades con elementos de Fibrosis pulmonar izquierda de tipo secular (figura 4). Funcional respiratorio con descenso de CV de grado moderado de 66,2%, descenso de VEF1 de grado moderado en igual proporción sin respuesta al salbutamol.

En julio de 2015 reingresa por broncorrea persistente y repercusión general progresiva por lo que se realiza relevo microbiológico del cual destacamos cultivo bacteriológico de expectoración negativo. Zhiel Nielsen negativo. Cultivo micológico de la expectoración: *Aspergillus Flavus*. TAC TX: En lóbulo superior izquierdo (LSI) cavidad irregular de paredes gruesas con imágenes nodulares en su interior com-

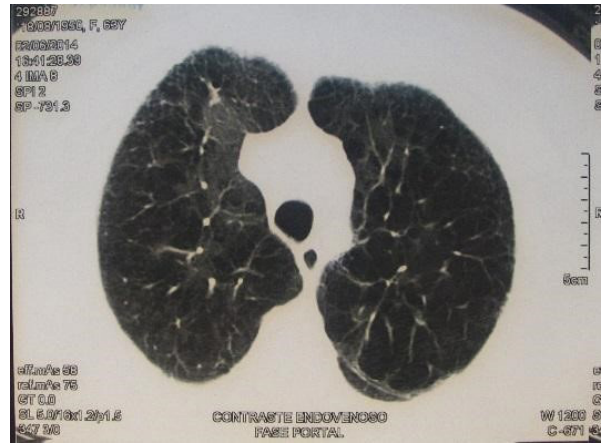


Figura 2. Buena respuesta al tratamiento oncológico, 6/2014.

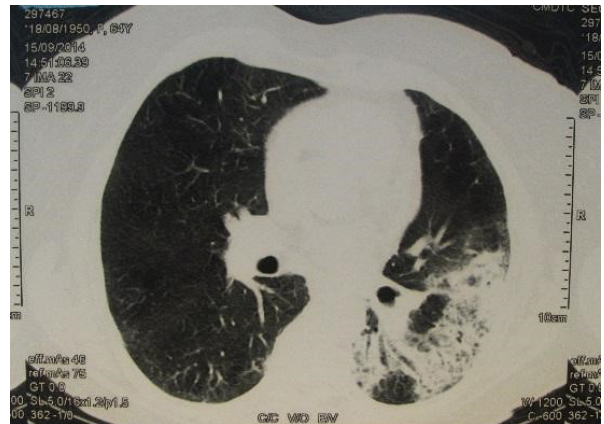
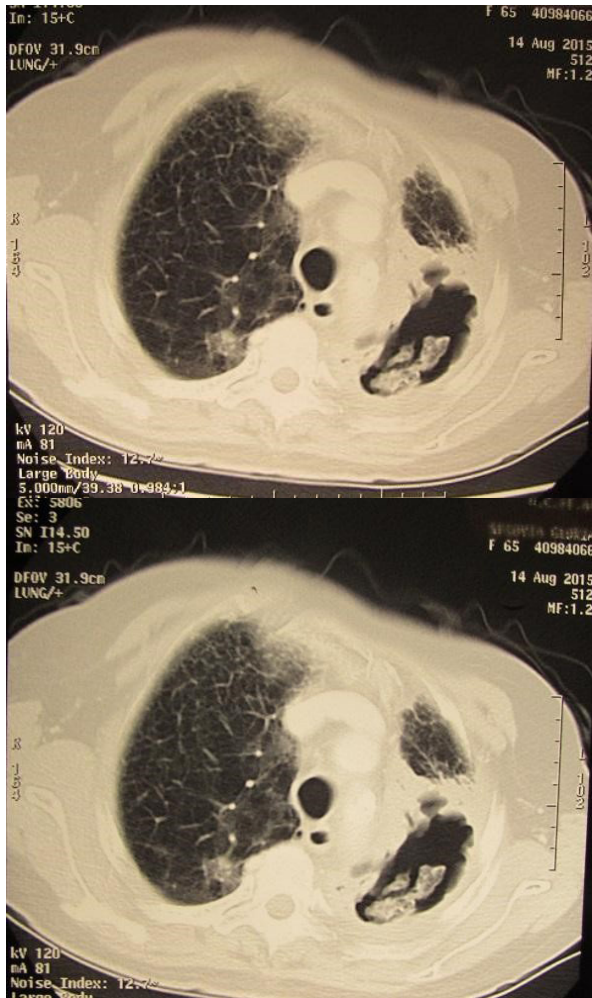


Figura 3. Neumonía LII, 9/2014.



Figura 4. Neumonía LII con multicavidades, 2/2015.

patible con aspergiloma pulmonar. Adenomegalias precarinales y paratraqueales (figura 5).



**Figura 5.** Cavidad con imágenes nodulares en su interior, 8/2015.

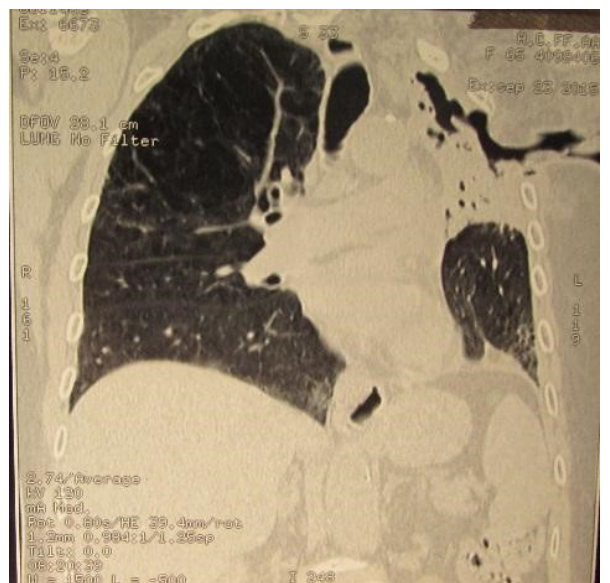
Se inició tratamiento médico antifúngico con Anfoterina B liposomal 120 mg/día.

Tomando en cuenta el estado general del paciente y el resultado de estudio espirométrico se descartó realizar lobectomía superior derecha por lo que se optó por plan de cavernostomía en setiembre 2015 (figura 6).

Luego de la cirugía presentó buena evolución clínica, sin fiebre, sin broncorrea, sin hemoptisis, mejoría de su disnea de esfuerzo y recuperación paulatina de su repercusión general.

Se solicitó TAC de tórax en la evolución alejada para valoración de balance lesional anatómico.

En TAC de noviembre de 2015 no se evidencia contenido en la cavidad (figura 7).



**Figura 6.** Cavernostomía, 9/2015.



Figura 7. Cavidad sin contenido, 11/2015.

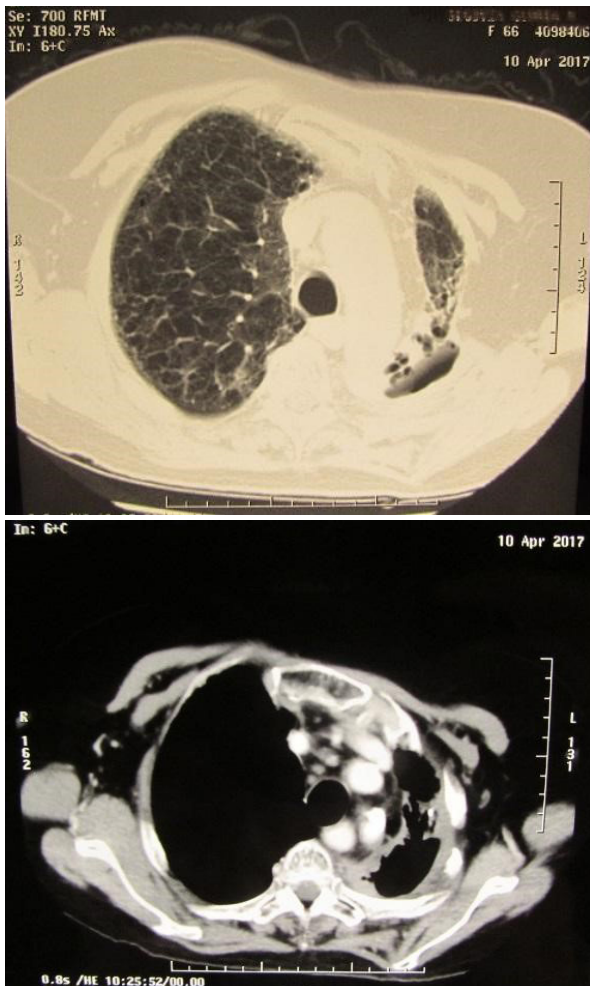


Figura 8. Cavidad sin contenido, 4/2017.

Actualmente sin elementos de malignidad ni infecciosos (figura 8).

## DISCUSIÓN

Se aisló e identificó el hongo *Aspergillus flavus* en un paciente con secuela cavitaria por infecciones en pulmón donde presentó cáncer bronco pulmonar estadio IIIB (1).

Tomográficamente se evidenció en el LSI cavidad irregular de paredes gruesas con imágenes nodulares en su interior compatible con aspergilosis pulmonar y se aisló dicho germen en el cultivo de la expectoración.

El hongo *Aspergillus flavus* está en el ambiente, y la inhalación de las esporas es inevitable. Un sistema inmunológico intacto, con función respiratoria normal, protege a la mayoría de las personas de la enfermedad (2).

Se debe distinguir entre la colonización (AC), la infección (AI) y la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA). AC se define como el cultivo del germen en más del 50% de las muestras obtenidas por 6 meses a 1 año sin observar deterioro de la función pulmonar. AI se diagnostica en pacientes con AC y un deterioro en la función pulmonar, exacerbación de síntomas respiratorios crónicos o respuesta insuficiente a tratamiento antibiótico correcto por 2-4 semanas. El diagnóstico de ABPA es cuando ocurre una respuesta inmunoalérgica en un paciente expuesto al aspergillus con antecedentes de asma enfermedad con corticodependencia, fibrosis quística conocida (3)

El micetoma es causado por estos hongos oportunistas que existen en los tejidos como microcolonias o granos resistentes. Es la infección más común en pacientes inmunocompetentes. En cambio, las infecciones invasivas en pacientes inmunocomprometidos son usualmente ocasionadas por implantación traumática.

Otras manifestaciones incluyen queratitis micótica e infecciones cutáneas y subcutáneas. Las infecciones invasivas han sido también reportadas en pacientes que recibieron tratamiento con corticoides o una terapia inmunosupresora por trasplante de órganos, leucemia, linfoma, lupus eritematoso sistémico o enfermedad de Crohn. Las infecciones incluyen

sinusitis invasiva, neumonía, artritis con osteomielitis, granulomatosis cutánea y subcutánea, meningitis, abscesos cerebrales, endoftalmitis y enfermedad sistémica diseminada (3).

Los micetomas pulmonares son masas de hongos que resultan de la colonización de las cavidades pulmonares. Están formados por elementos fúngicos vivos o muertos, moco, sangre, células remanentes y células inflamatorias (4).

En un 10 a 20% ocurre en cavidades secundarias a tuberculosis. Menos frecuentemente en cavidades resultantes de infecciones necrotizantes, bronquiectasias, bullas de enfisema, radioterapia y cáncer de pulmón cavitado. Si el paciente no presenta cavidades previas a la infección, se dice que es cavidad neo formada.

La cavidad presenta condiciones favorables para el crecimiento del hongo, como ser temperatura ideal, ausencia de luz, presencia de secreciones producidas por el epitelio bronquial que actúan como medio de cultivo. Inicialmente el hongo se adhiere a la pared de la cavidad donde prolifera, pero luego se desprende por su propio peso.

El agente mas comunmente aislado es *Aspergillus fumigatus* (90% de los casos) (5).

En esta paciente se aisló *Aspergillus flavus*.

El diagnóstico se sospecha por la presencia de cavidad pulmonar, terreno de inmunocompromiso del paciente, repercusión general, broncorrea con o sin hemoptisis y presencia de imagen patología intracavitaria. Se puede confirmar con el cultivo de las piezas de resección pulmonar o mediante punción con aguja fina.

El aspergiloma pulmonar se puede clasificar en simple o complejo. La forma simple se presenta como una cavidad aislada, de paredes finas, rodeada de parénquima pulmonar sano. La forma compleja, la más habitual, presenta paredes gruesas, rodeadas de tejido fibrótico, con adherencias vasculares y obliteración de la cavidad pleural.

Generalmente el micetoma se localiza en cavidades en los segmentos apicales y posteriores de los lóbulos superiores (5).

En esta paciente se trata de un aspergiloma complejo localizado en el lóbulo superior izquierdo.

Con respecto al tratamiento, la Anfotericina es el antifúngico de elección. Pero recientes publicaciones han incrementado el interés en la combinación de terapias contra dicho agente (1,2).

Se ha publicado la importancia de la genética en predecir que huésped se beneficiaría de tratamiento profiláctico. Esto puede guiar opciones terapéuticas y desarrollar nuevas líneas de investigación (6).

Recientemente algunos autores enfatizan la dificultad terapéutica de la aspergilosis pulmonar, por la baja eficacia del tratamiento conservador junto a la alta morbilidad del tratamiento quirúrgico. Debido a la alta tasa de complicaciones, la cirugía debería restringirse en pacientes sintomáticos en los que se pueda realizar una lobectomía. Los resultados a largo plazo de la cirugía son buenos en casi todos los pacientes, encontrándose baja frecuencia de recurrencia de aspergilosis (2,7).

La mortalidad operatoria de la resección pulmonar es baja. La cavernostomía está asociada con mayor mortalidad y morbilidad. Por lo tanto, solo debería indicarse en pacientes con riesgo de vida donde no se puede realizar la resección (8).

Es una técnica fácil, que salva parénquima y puede ser realizada en un solo tiempo quirúrgico (5).

La mortalidad del tratamiento quirúrgico es mayor en el aspergiloma complejo dada la mayor frecuencia de complicaciones postoperatorias (4).

Los autores declaran no tener conflictos de interés.



## REFERENCIAS

- (1) Detterbeck FC1, Boffa DJ, Kim AW, Tanoue LT. The Eighth Edition Lung Cancer Stage Classification. *Chest* 2017; 151(1):193-203.  
doi: 10.1016/j.chest.2016.10.0108.
- (2) Muldoon EG, Streck ME, Patterson KC. Allergic and Noninvasive Infectious Pulmonary Aspergillosis Syndromes. *Clin Chest Med* 2017; 38(3):521-534.
- (3) Walicka-Serzysko K, Sands D. The clinical presentations of pulmonary aspergillosis in children with cystic fibrosis - preliminary report. *Dev Period Med* 2015; 19(1):66-79.
- (4) Lopes Ruiz Júnior R, Sobral de Oliveira F, Burgos Piotto B, Lopez Muniz F, Cataneo D, Cataneo A. Surgical treatment of pulmonary aspergilloma. *J Bras Pneumol* 2010; 36(6):779-783.
- (5) Dos Santos Marsico Pereira Da Silva P, Marsico G, Ferraz Araujo M, Soares Vannucci Braz F, Teixeira Andrade dos Santos H, Loureiro G, Fontes A. Complex pulmonary aspergilloma treated by cavernostomy. *Rev Col Bras Cir* 2014; 41(6): 406-411.  
doi: 10.1590/0100-69912014006005.
- (6) Thompson GR 3rd, Patterson TF. Pulmonary aspergillosis: recent advances. *SeminRespirCrit Care Med* 2011; 32(6):673-81.  
doi: 10.1055/s-0031-1295715.
- (7) Kasprzyk M, Pieczyński K, Mania K, Gabryel P, Piwkowski C, Dyszkiewicz W. Surgical treatment for pulmonary aspergilloma - early and long-term results. *Kardiochir Torakochirurgia Pol* 2017; 14(2):99-103.  
doi: 10.5114/kitp.2017.68738.
- (8) Oakley R, Petrou M, Goldstraw P . Indications and outcome of surgery for pulmonary aspergilloma. *Thorax* 1997; 52(9):813-5.



## El humor en medicina. Parte 1 “Memorias de una ambulancia”

### Humor in medicine. Part 1 “Memories of an ambulance”

Dr. Augusto Soiza Larrosa

Médico. Miembro y vicepresidente del Instituto Histórico y Geográfico del Uruguay.  
Miembro de Honor y ex presidente de la Sociedad Uruguaya de Historia de la Medicina.

*“La ambulancia es lo más parecido a un soutien.  
Levanta todo caído”.*  
(sentencia de un chófer veterano)

#### RESUMEN

*Memorias de una ambulancia*, un raro y ameno libro, escrito con total desparpajo, en el cual cada uno de nosotros, médicos, nos reconocemos. Y en nuestra intimidad recordamos tantas anécdotas y confianzas que no saldrán a luz, de una época que no se repetirá, donde todo era más sencillo, casi de entrecasa. Vida de estudiante, de leucocito y de practicante interno vagando por aquellos fríos, poco iluminados y silenciosos, desiertos pasillos de hospital a la busca del llamado enigmático de la cama número...

**PALABRAS CLAVE:** Historia de la Medicina.

#### ABSTRACT

*Memories of an ambulance, a rare and entertaining book, written with total audacity, in which each one of us, doctors, recognize ourselves. And in our privacy, we remember so many anecdotes and confidences that will not come to light, from a time that will not be repeated, where everything was simpler, almost homely. The life of a student, a “scrub” and internal practitioner wandering through those cold, dimly lit and silent, deserted hospital corridors in search of the enigmatic call of bed number...*

**KEY WORDS:** Medicine History.

#### *El humor como intención*

La sentencia del acápite, a cargo de un experimentado conductor de ambulancia al novato médico acompañante (o practicante de medicina) nos introduce al humor médico y al espíritu que animó al (anónimo) autor de este raro y pequeño libro (1).

El humor derivado del ejercicio médico debe ser tratado con cautela. El sufrimiento no puede ser objeto de burla ni de mofa. Pero hay circunstancias en la actividad de los galenos que, sin lesionar su ética, se prestan de maravillas para la anécdota jocosa. Tal una jornada completa a bordo de una ambulancia, como la que relata aquí un ignorado tripulante.

¿Qué es el humor?. **El vocablo tiene un origen médico.** La palabra “humor” procede del latín *humoris* que significa líquido o humedad. La medicina galénica (por el médico Galeno de Pérgamo) adoptó para la salud y la enfermedad el principio griego del equilibrio de los *cuatro líquidos (humores) contenidos en el cuerpo humano que eran vinculados con cuatro elementos*: sangre/aire; bilis amarilla/fuego; bilis negra/ tierra; flema/agua. La salud o enfermedad dependía en esa concepción del balance de los líquidos o *humores*. Se podía estar de “buen humor” equivalente al estado de salud (equilibrio de los cuatro líquidos) o de “mal humor”, es decir, enfermo (desequilibrio de los cuatro líquidos). De estar de “buen humor” a ser



“humorístico” (que podríamos entender como el grado máximo de salud) no hubo más que un paso.

La actividad médica se presta de maravillas para la sátira y la burla cuando es transitado con dignidad y ética. No ha estado ausente en nuestros grandes médicos rioplatenses. Falta sin duda un estudio amplio de esta vertiente de la cultura médica. A modo de ejemplo cultivaron esa suerte de literatura - entre otros - los doctores Florencio Escardó en la Argentina, e Isidro Mas de Ayala, Rodolfo Tálce y Juan J. Ravera en Uruguay.

### **Florencio Escardó**

*“En la Argentina no hay humoristas porque los argentinos sólo creemos en la trascendencia de lo trascendental. Así como en los Estados Unidos no hay analfabetos porque los han ascendido a millonarios”.*

Florencio Escardó (Ciudad de Mendoza, 1904 – Buenos Aires, 1992) (figura 1) fue un destacado pediatra argentino egresado en 1929 de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires. Su vida profesional transcurrió en el Hospital de Niños “Dr. Ricardo Gutiérrez” durante 45 años, donde fue Jefe de Servicio y Director del establecimiento. También fue Decano de la Facultad de Medicina y luego vicerrector de la Universidad de Buenos Aires. Presidió la Sociedad Argentina de Escritores y se le nombró miembro titular de la Academia Porteña del Lunfardo.

En el rubro “humor” usó el seudónimo: *“Piolín de Macramé”* como antes había usado el de *“Juan de Garay”*. Como «Piolín de Macramé» comenzó desde 1921 a publicar una columna satírica, repleta de humor e ironía en los diarios *Crítica*, *La Razón* y *La Nación* titulada *“Palabras sin objeto”*, luego llamada *“¡Oh!”*, *“Cosas de argentinos”* y *“Cosas de porteños”*. Hay varias compilaciones editadas de estos artículos.

“El médico”, por Florencio Escardó (1957).

*“El Médico es el profesional que llamamos para que confirme el diagnóstico que previamente nos hemos hecho.*



**Figura 1.** Florencio Escardó (Wikipedia).

*Si coincide con nosotros, nos preguntamos por qué lo hemos llamado; si no coincide, dudamos de su valor. Si nos receta, pensamos que es mejor que el organismo se defienda solo. Si no nos receta, pensamos cómo es que nos va a pasar la enfermedad. Cuando nos curamos, nos enorgullecemos de nuestra naturaleza. Cuando nos empeoramos, maldecimos la torpeza del médico” (2).*

### **Isidro Mas de Ayala**

Isidro Mas de Ayala (Montevideo, 1899 - 1960) (figura 2) fue un médico uruguayo egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad de la República y se especializó en psiquiatría. Fue jefe de clínica psiquiátrica en la Facultad, Inspector General de Psicópatas, profesor de Psiquiatría, director de la Colonia de Asistencia Psiquiátrica “Dr. Bernardo Etchepare” y presidente de la Sociedad de Psiquiatría del Uruguay. Mantuvo una columna humorística titulada *“La Torre del vigía”* en el periódico montevideano *El Plata* que firmó indistintamente como *“Fidel González”* o *“Zoiló Camargo”*. En *“Leer es partir un poco”* (1954), con *“Prólogo del Dr. Isidro Mas de Ayala”* (sic) recopiló varias de esas columnas, en particular las referidas a un viaje que realizó por Europa. Fue editado como *“El inimitable Fidel González. Relatos”* por el Palacio del Libro (Montevideo, 1947).



**Figura 2.** Isidro Mas de Ayala (Wikipedia).

Su narrativa y sus crónicas se caracterizan por el humor, artículos de costumbres y descripciones paisajistas, que fueron conformando su sólida reputación de hábil y sagaz escritor. Su obra puede ser consultada en Internet.

"La alegría de vivir o el poder de la radiotelefonía", por Isidro Mas de Ayala (1960).

*"Por más que pensamos no podemos darnos cuenta cómo podíamos vivir antes sin la radiotelefonía. Porque, desde que tan maravilloso invento se ha difundido y ha penetrado en nuestro hogar, no podemos pasar un instante sin escuchar sus generosas y diversas ondas, a que, a cualquier hora, nos traen la noticia sensacional, el bolero de moda, el episodio teatral que sacudirá nuestros nervios, sin contar con los jabones, aceites, solares y liquidaciones que, entremezclados con música española, nos harán saber dónde está la pichincha de nuestra conveniencia o la tienda donde, casi regalado, encontraremos de todo para el hogar. Si os quedáis todavía en el hogar, podéis, para vuestro placer, escuchar en todas las radios los noticieros de la hora 9. Niños muertos en la China, inundaciones en el Japón, las estadísticas de accidentes de tránsito de la última semana, la débil cotización del peso uruguayo, la baja de precios en Tablada, la garrapata del ganado, huelgas en la F.I.L.C.U. y en la A.N.D.A., terremotos en Chile, el atraso en el pago*



**Figura 3.** Rodolfo Vicente Tálce Ruiz (El Tranvía 35).

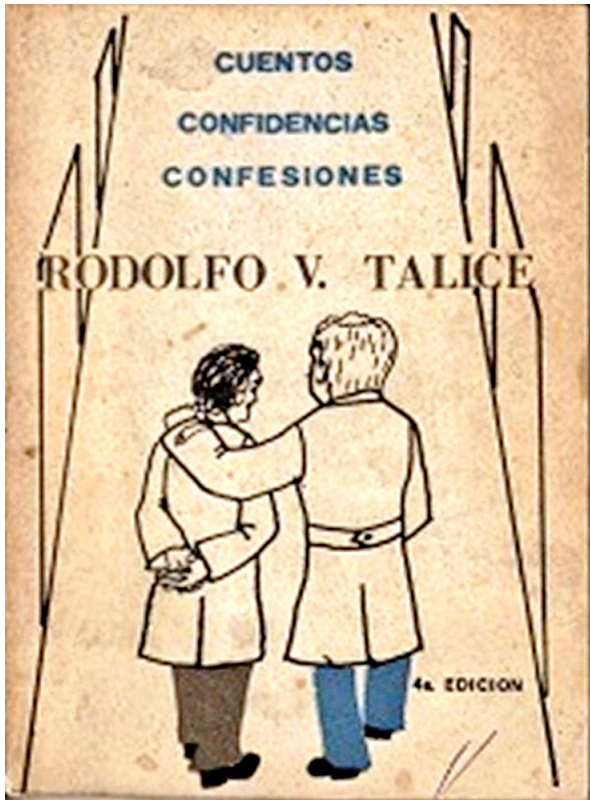
*del presupuesto: son el néctar delicioso que os escancian las diversas radios que se disputan vuestra oreja para verter en ella la noticia deleitosa que os hará feliz, Y así con la cara reboante de alegría, podéis lanzaros a la calle a comenzar el día. ¡El mundo es vuestro!"* (3).

### **Rodolfo Tálce**

Rodolfo Vicente Tálce Ruiz (Montevideo, 1899-1999) (figura 3) fue un médico, profesor de la Facultad, político y escritor uruguayo. Cursó en la Facultad de Medicina de la Universidad de la República, de la cual se graduó en 1924. Fue el primer parasitólogo académico uruguayo, profesor titular durante treinta años de esa disciplina. Publicó el primer caso de la enfermedad de Chagas en Uruguay. Fue decano de la Facultad de Humanidades y Ciencias de la Universidad de la República en dos períodos consecutivos, de 1959 a 1963 y entre 1963 y 1968. Escribió y publicó extensamente. Jugó al golf hasta su muerte, ya centenario. Creó el vocablo "vejentud" para referirse a la edad provecta como un tesoro de vida. Plenamente optimista dejó páginas escritas de notable humor.

"La aguja de la morena (o mejor en la morena)" del libro "Cuentos, confidencias, confesiones" (figura 4), por Rodolfo Tálce (1969):

*"La jornada de guardia en el "Servicio de Urgencia"*



**Figura 4.** Portada de “Cuentos, confidencias, confesiones”, por Rodolfo Tálíce.

- *sito en una casa de la calle Mercedes - iba transcurriendo sin mayores incidencias.*

*Sonó la campanilla de una de aquellos ya desaparecidos aparatos telefónicos:*

- *“Un llamado para el “conventillo del Medio Mundo” anunció la empleada. Alguien se clavó un largo agujón en el cuerpo”.*

*Era mi turno. En marcha. Minutos después la ambulancia se detenía frente al edificio lugar del accidente.*

- *“Allá, doctor, en el cuarto N°... a la derecha, casi al fondo”.*

*Una vez adentro se me presentó la víctima rodeada de familiares compungidos: una morena enorme y gruesa, semivestida (o mejor, semidesnuda) de amplias asentaderas, tirada sobre un desvencijado sofá, acusaba dolores agudos mientras bebía una tisana calmante.*

- *“Qué le pasó a la señora?”*

- *“Doctor, haga el bien, sáquemela pronto, figúrese*

*que me senté sobre una aguja de tejer (de crochet). Se me rompió y quedó casi toda adentro, aquí”*

*Y la matrona señalaba uno de sus opulentos traseros. Conseguí hacerla incorporar, o más bien, ladear, penosamente, para efectuar una rápida exploración. El extremo de la aguja (metálica) parecía efectivamente tocarse a través de un espeso colchón adiposo, pero no había ni que pensar en intentar una extracción.*

*Decidí transportarla hasta el hospital Maciel para mejor proceder. No fue fácil el traslado de aquella sufriente cuan voluminosa mole humana.*

*La morena extendida boca abajo toleró prolongadas tentativas de recuperación de la aguja. Primeramente fueron unidigitales; luego –previa una ligera ampliación de la herida- bidigitales. Sucesivamente fueron mixtas (dedos + pinzas), éstas cada vez más largas. Los quejidos de la paciente incrementaban en intensidad a medida que el tiempo corría y la aguja se introducía (o la reintroducíamos) más y más en aquella grasitud, resbaladiza a causa del calor de las lámparas iluminantes.*

*Tomamos por fin una nueva decisión. Desplazarla hasta un aparato de rayos X en un Servicio vecino.*

*La morena, colocada ahora de pie, de espaldas a nosotros. Entre sus nalgas y la pantalla, interpuestos dedos y pinzas de unos y otros operadores, empeñados en atrapar la fugitiva extremidad de la aguja quebrada, varias veces alguien cantó victoria, pero siempre resultó un falso anuncio.*

*Súbitamente un grito agudo, estridente resonó en el cuarto oscuro...*

*-“¡Aquí, aquí...!”*

*insistía la pobre morena. Estaba señalando un punto – no ya de su trasero- sino por delante, en la misma ingle, donde visiblemente la aguja punteaba en la piel después de haber atravesado (¿por dónde?) en sentido antero-posterior los tejidos de aquella tolerante criatura.*

*Salió al fin por su punta ganchuda mediante una mínima incisión.*

*Conclusión: un dilema a plantear; o el aparato de rayos X era muy malo... o los practicantes no eran muy buenos” (4).*

**Juan Jorge Ravera Cametti** (figura 5)

Nacido en Montevideo en 1920, se graduó como médico cirujano en 1949. De ascendencia italiana por ambas ramas, su bisabuelo vino del Piamonte como inmigrante en 1862, y se afincó en el pueblo de "Los Pocitos", al cual dedicará el bisnieto médico su más importante memoria publicada. Había un arroyo y a su vera se cavaban los pozos que manaban agua limpia para lavar allí la ropa (figura 6). Las lavanderas llevaban las entregas al centro de la ciudad en carros de cuatro ruedas. De ahí el nombre del pueblo. La madre de Juan Jorge era maestra y su padre un modesto industrial fabricante de dulces. Juan Jorge Ravera nació en Pagola y Chucarro, en la zona humilde del barrio de Pocitos, el "Pocitos p'abajo" (como le gustaba llamar, en referencia a la calle Gabriel Pereyra que ejercía una suerte de límite con el "Pocitos p'arriba", el distinguido). Fue discípulo del profesor Juan César Mussio Fournier (fundador y primer profesor de endocrinología) que lo trató siempre con el afecto que se prodigaba a los hijos y de quien fue practicante interno en el hospital Pasteur por dos rotaciones. Ya médico fue Jefe de Clínica con cargo en el Servicio de su otro Maestro, el profesor Pablo Purriel, al que estuvo unido muchos años y donde ejerció la mayor parte de su actividad docente. Fue de los primeros médicos que migraron al flamante Hospital de Clínicas cuando se inauguró el 21 de setiembre de 1953 y quien llevó al primer paciente que allí se asistió: Radamés Piendibene, sobrino del famoso futbolista. Así narra el hecho Ravera:

*"El reparto, como digo, lo hacía Rada, Radamés Piendibene, hijo de Carlos Piendibene el pintor, y por lo tanto sobrino de Domingo y de José "el maestro" [el futbolista]. Radamés, a quien también llamábamos "Radicha" era lo más parecido a un santo que pude haber conocido, mayor que nosotros, tenía una gran paciencia con toda la chiquilina, y los domingos barría y preparaba bien el carro, cepillaba al caballo luego de bañarlo, que quedaba más cuidado que una persona y nos llevaba por el repecho de Pereyra hasta la Estación Pocitos, donde estaba el [cine]*



**Figura 5.** Juan Jorge Ravera Cametti (Wikipedia).

*Latino [avenida Rivera y la proa que forman Gabriel Pereyra y Francisco Soca]. No puedo dejar de tributarle mi homenaje a Rada, un muchacho de poca salud, portador de una cardiopatía congénita a quien atendí durante tantos años, y con quien se inauguró el Hospital de Clínicas en 1953. Yo que fui uno de los seis primeros médicos del servicio del profesor Purriel que empezamos a atender y hacer guardias en el enorme hospital, llevé a mi viejo amigo para que allí recibiera los mejores cuidados. Si alguien investiga en el Archivo General de nuestro hospital encontrará que el Registro No. 000001 le corresponde a Radamés Piendibene. Noble y agradecido el viejo amigo me obsequió una linda volantita para pasear a mi primogénito el Dr. Jorge Ravera (hijo)"*

Fue el médico de la barriada, que tanto lo quería, donde había nacido y crecido y era el conocido de todos. Escribió por ello, en su retiro, un libro "Pocitos, de Pereyra p'abajo", que describe lo que era la parte más modesta de este conocido barrio, en los años 30.

*"Debo reconocer que comencé un poco tarde mi trayectoria como escritor. Recién después del retiro profesional me decidí a encarar el género literario... fue con el libro "Pocitos de Pereyra p'abajo". Las lindas repercusiones de ese trabajo me animaron, me entusiasmaron y me dieron ganas de seguir escribiendo. ¿Entre nosotros? (sonríe con picardía) me*



**Figura 6.** El arroyo de los Pocitos del barrio de Juan J. Ravera (I.M.M. - Centro de Fotografía).

*he dado cuenta un poco tarde de que mi vocación no era la medicina, sino la literatura”.*

Murió en Montevideo en 2015, a la edad de 94 años. Siendo el suyo también mi barrio, le conocí y traté con enorme admiración.

De él se ha dicho que *“como escritor sus crónicas están repletas de humor, zafaduría y nostalgia. Desde el minúsculo escenario de su pueblo, los “Pocitos p’abajo” se extendió su memoria sobre la infancia y adolescencia, y algunas veces sobre su madurez. Hizo desfilar sin orden alguno, hechos y personajes cuyo historial despierta simpatía y afecto, sobre todo en aquellos que conocieron o arañaron ese mundo de inmigrantes italianos. Hoy, que todo eso ya quedó atrás, revive en el luminoso y sano optimismo de las buenas cosas auténticamente vividas”.*

“Otro caso de sueño profundo”, por Juan Jorge Ravera (1995).

*“Sí, como les decía, hay gente que tiene un sueño inamovible. Para eso... mi señora. Cuando nos casamos, hace 43 años ella se vino desde su barrio nativo, Agraciada y Buschental para aquí, a Pocitos de Pereyra p’abajo a la casa grande que me cedieron mis padres para que siguiera sin cambiar el con-*

*sultorio de lugar, no fuera cosa que con el cambio de querencia... perdiera los pacientes. Pero mi esposa con sus 20 años tenía un sueño poderoso, profundo, imperturbable, inamovible, total. Cuidado con que me olvidara de llevar llave cuando salía de madrugada con algún llamado de urgencia, cosa que me ocurrió más de una vez. Entonces tocaba timbre una vez, varias veces, una vez pero prolongadamente, una vez sin despegar el dedo por diez minutos... y nada. Entonces me iba al boliche, si lo encontraba abierto, y meta teléfono, pero nada. Al final la táctica era irme a lo de doña Rosa Ponasso, la vecina del fondo, gente que por suerte, se acostaba muy tarde. Siempre encontraba luz y llamaba a la puerta:*

*- Jorge! Es el doctor! Qué te pasa?.*

*- Perdone doña Rosa, no me deja saltar por el gallinero?*

*- Sí m’hijito entrá nomás!*

*Y así iba yo con la escalera de mano apoyada contra el muro de piedra que separaba los gallineros linderos, trepaba sintiendo la humedad y el verdín, que todavía recuerdo, también alguna babosa que aplastaba con mi mano sin querer, y con mucho asco me montaba en el borde redondeado para dejarme caer del otro lado.*

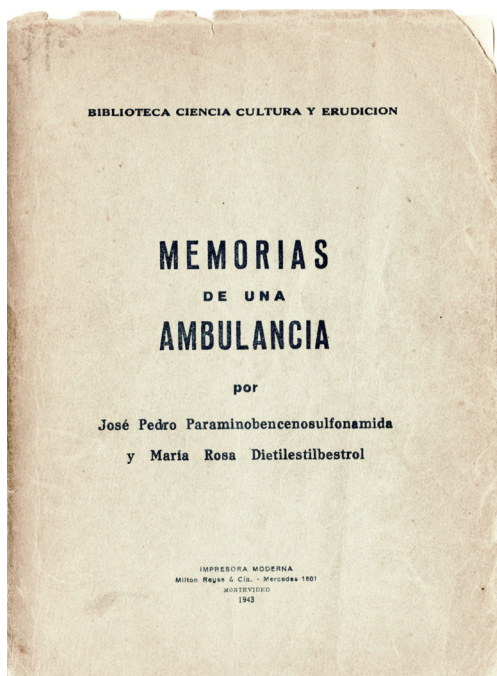


Figura 7. Carátula de "Memorias de una Ambulancia".

-¡Gracias doña Rosa!

...y el alboroto de las gallinas provocado por mi caída. Entrar a la casa era otra odisea, totalmente cerrada por los fondos; tenía que romper un vidrio y luego, forzando el postigo, abrir con la llave que quedaba puesta por dentro. Me iba a acostar sin hacer ruido. Mi señora ni se enteraba.

Yo admiro esta capacidad de sueño de mi media naranja, si se levanta de noche no abre los ojos para no despertarse, vuelve a la horizontalidad y sigue como si tal cosa" (5).

### Las "Memorias de una ambulancia"

Esta publicación puede clasificarse como obra de humor médico y accesoriamente como memoria o anecdotario.

El libro tiene curiosidades. Es un volumen de 244 páginas numeradas, pero alertamos que su autor lo inicia en la 179 y lo finaliza en la 323 (?), tamaño en 8vo, impresión rústica, de 110 x 150 mm, con tapas blandas a un solo color, y que muestra un mal estado de conservación. En su carátula ( figura 7) se lee: "Biblioteca Ciencia, Cultura y Erudición. Memorias de una Ambulancia por José Pedro Paramino-

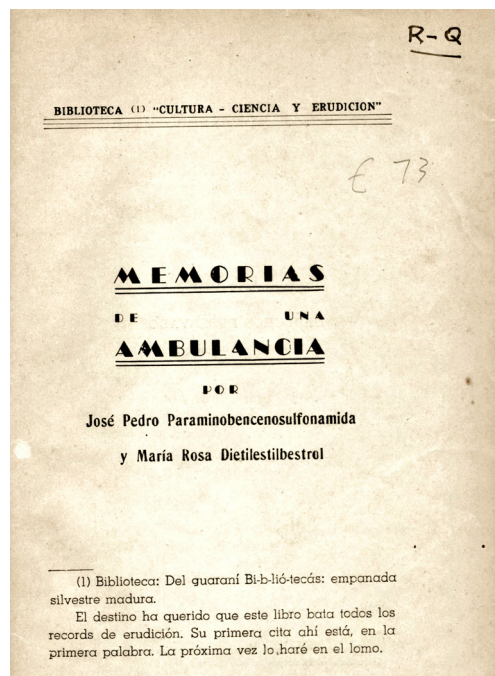


Figura 8. Portada del libro.

bencenosulfonamida y María Rosa Dietilestilbestrol. Impresora Moderna, Milton Reyes y Cía., Mercedes 1501, Montevideo, 1943". El sumario divide el texto en cuatro partes que titula "Entrando en el tema"; "Tipos de llamado"; "Pinceladas y sonatas"; "Tutti fruti y divertissements".

Es además rara obra. Tanto que un ejemplar de la misma en buen estado, encuadernado en medio cuero, sin fecha, sin editor (con error en el número de páginas) es ofrecida por Internet en el sitio web para la comunidad de bibliófilos on line, *Biblio.com*.

¿Biblioteca Ciencia, Cultura y Erudición? (figura 8). Obviamente, tal "Biblioteca" no existió, sino en la mente del autor; es una *boutade* propia de su intención humorística.

El origen del volumen es tan incierto como su autor; hemos tenido versiones diferentes: que fue comprado en una feria dominical por un estudiante; que fue encontrado en un anaquel del Departamento de Historia de la Medicina de la Facultad sin saber su origen. No consta tiraje y desconocemos si existe algún ejemplar en biblioteca pública o privada. No me consta crónica publicada sobre esta obra.



Tampoco conocemos antecedentes de la publicación. La *Impresora Moderna*, que fue en realidad un taller gráfico a nombre de Milton Reyes, editó varios libros en las décadas de los años 30s y 40s sin un rubro específico, aunque mayormente del ramo Derecho y Ciencias Sociales. Fue editor de los juriscónsultos y recopiladores del Derecho, Aníbal y Horacio Abadie-Santos; también de Jorge Peirano Facio y de José Claudio Williman. Con el nombre de Milton Reyes al frente de la imprenta, seguía editando libros en la década de los años 60.

### ¿Los autores?

Su primer autor se identifica con el nombre de José Pedro seguido del seudónimo *Paraminobencenosulfonamida*. La p-aminobenceno-sulfonamida (que obraría a modo de apellido) es la *sulfanilamida*, base de todas las demás sulfamidas de uso farmacológico. Se desprende del texto que José Pedro escribió un libro anterior, *Amores diabéticos* del cual no aporta más datos.

Hay un segundo autor (aunque el texto parece escrito por sólo uno), éste femenino, María Rosa, también con apellido seudónimo, *Diethylbestrol*, un estrógeno sintético por vía oral que fue muy indicado como preventivo del aborto espontáneo y parto prematuro entre 1940 y 1971 en EEUU (en Europa se utilizó hasta 1978), pero reconocido carcinógeno genital. Este estrógeno fue sintetizado en 1938 por Sir Edward Charles Dodds (1899-1973), un bioquímico inglés, que lo descubrió de forma accidental. Fue el primer producto hormonal, sintético, similar a una hormona natural y efectivo que se pudo administrar por vía oral. El libro recoge el seudónimo a pocos años de la introducción del fármaco en medicina.

No hay datos que hagan posible conocer quienes fueron en realidad los autores, aunque el texto está redactado en forma unipersonal y éste es un hombre. Al final del libro se insertó un soneto con dos iniciales al pie: *D.P.* En la lista alfabética de graduados en la Facultad de Medicina de Montevideo formada por el doctor Washington Buño sólo encontramos

tres nombres de médicos que tienen esas iniciales: Dalmiro Pérez (graduado 30/12/43), Dionisio Pérez (17/8/49) y Darío Pizzolanti (9/3/46). Pero nada nos permite identificar con seguridad al autor en alguno de ellos. Incluso quien escribió la poesía pudiera no ser el responsable del libro. Es seguro que José Pedro tenía condición de estudiante de medicina o ya médico, y ejercía como uno de los tres practicantes masculinos del Servicio de Primeros Auxilios de la Asistencia Pública Nacional en el año 1933 (no los había femeninos). De los 15 meses que desempeñó ese cargo extrajo el anecdotario que dio lugar al libro.

### Las ambulancias

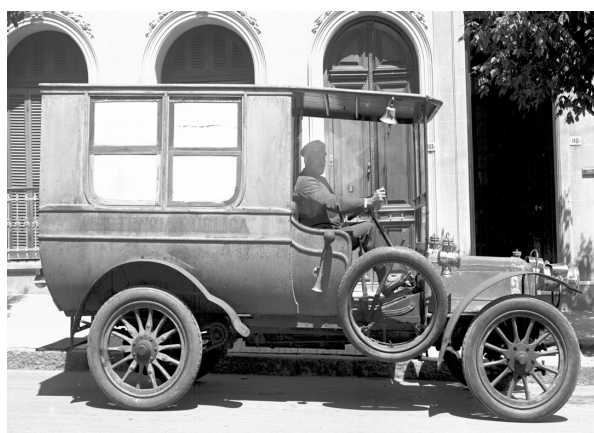
La *Asistencia Pública Nacional* (A.P.N.) surgió de la Ley de Asistencia Pública de 1910 (Ley N° 3724 del 10/11/10) en el marco de los cambios sociales del batllismo que, en el rubro medicina impulsó el doctor José Scoseria. La ley estableció un Consejo y una Dirección General cuyo primer director fue precisamente José Scoseria. En 1932 la APN pasó a depender de un organismo complejo, el *Consejo de Salud Pública* en el que se fusionó con el ex - Consejo Nacional de Higiene y el ex Instituto Profiláctico de la Sífilis (Ley N° 8766 del 15/9/32). En la fecha en que ocurre esta memoria del practicantado en ambulancia (1933, no el de su edición que es de 1943), se estaba a las puertas del inminente Ministerio de Salud Pública en reemplazo de aquel Consejo, creado bajo el gobierno de Gabriel Terra (Ley N° 9202, del 12/1/34), que sería dirigido por su primer ministro el médico Eduardo Blanco Acevedo.

La A.P.N. tuvo un *Servicio de Asistencia Externa* (en realidad se llamó *Asistencia Pública Nacional de Urgencia*), popularmente conocido como "Primeros Auxilios", creado en 1917 siendo director de la A.P.N. el doctor José Martirené. Contaba con una sala para consultas y una flota de vehículos ambulancia para llamados de urgencia (figuras 9 y 10).

En 1931 se inauguró el *Garaje Central de la APN de Urgencia* (ese fue su nombre original), aún hoy (en mal estado de preservación) situado en Arenal



**Figura 9.** Ambulancia de la A.P.N., Protección a la Primera Infancia (cortesía de la Dra. Sandra Burgues).



**Figura 10.** Ambulancia de la A.P.N. (cortesía de la Dra. Sandra Burgues).

Grande 1693 esquina Paysandú (figura 11). Fue obra del arquitecto uruguayo Julio Vilamajó, una de las más austeras de su producción, pero renovadora de la arquitectura vernácula de los años 30s por su estructura abovedada en hormigón armado. Tal vez Vilamajó pasó a sustituir al arquitecto oficial de la A.P.N, que lo fue por muchos años Juan Giuria, ya que llama la atención que no fuera éste el arquitecto. Fue de ese garaje que salieron las raudas ambulancias tripuladas por nuestro memorialista, pues fue practicante-tripulante en 1933, dos años después de la apertura del garage.

### **Los practicantes y el Servicio de Urgencia de la A.P.N.**

Rodolfo Tálce ha recordado su pasaje por este Servicio:

*“Estudiante de medicina, apenas iniciado el 4º año de la carrera, mi experiencia galénica – como la de mis compañeros – tenía que ser reducida. Durante el primer año de tal internado debíamos – obligadamente – desempeñar nuestro cometido en el Servicio de Urgencia. Una guardia semanal de 24 horas en grupos de tres. Cada vez llamados telefónicos, diurnos y nocturnos, a toda hora; una rápida orden escrita del receptor indicando motivo y lugar; y uno de nosotros subía sin tardanza, con su túnica y gorrito blanco, en la vieja ambulancia, junto al conductor. Rumbo hacia el punto del llamado iba uno meditando sobre el “motivo de aquel ... ¿accidente, crimen, catástrofe, suicidio?...” (6).*

El testimonio del doctor Tálce permite conocer que la rotación como practicante del Servicio de Urgencia de la A.P.N. estaba incluida en el régimen del llamado <internado>, “venerable institución de origen francés que prácticamente nació con nuestra Facultad, aunque hay pocos datos sobre los primeros concursos. Su desempeño total duraba tres años y era rotativo por semestres. Se conocen los llamados a concurso publicados en 1900; en ese año se llenaron 18 cargos de interno para desempeñar tareas en las distintas dependencias del Hospital de Caridad” (7).

### **Los recuerdos del practicante en 1933**

Las *Memorias de una ambulancia* son los recuerdos, evocados años después en tono jocoso y burlón, de un médico (ya en 1943) de cuando era un practicante interno del Servicio de Primeros Auxilios de la Asistencia Pública Nacional (en 1933) y que se desplazaba por toda la ciudad en una ambulancia durante las 24 horas de su guardia.

Introdujo una interesante reseña cronológica del desarrollo del Servicio de Urgencia o Primeros Auxilios de la A.P.N.



Figura 11. Garage Central de la A.P.N. (Julio Vilamajó, 1931).

Retrotrajo el inicio del primer Servicio al año 1913. Pero de acuerdo al minucioso trabajo del doctor José María Ferrari, fue en 1917 que la A.P.N. “completó la red de Policlínicas zonales de Montevideo, descentralizando la atención a las poblaciones de los distintos barrios de la ya extensa capital . . . Se complementó con la creación del Servicio de Asistencia Externa con la cobertura las 24 horas. Que representó un adelanto no solo para la población, una fuente de trabajo para médicos, personal auxiliar y administrativo, iniciando muchos brillantes carreras profesionales y docentes” (8). El inicio fue con dos ambulancias, dos practicantes, un auto médico, telefonista y un cuerpo de varios médicos y ocho enfermeros.

En 1919 cita el bautismo de sangre del Servicio de Primeros Auxilios por la huelga del personal de los tranvías montevideanos, con trincheras y disparos de armas de fuego. En realidad la huelga fue más dramática:

“El temor a que los acontecimientos de Buenos Aires [la] semana trágica” desde el 3 de enero de 1919] se extendieran a Uruguay provocó que el gobierno tomara medidas preventivas. Cuatro regimientos se trasladaron desde El Cerrillo hasta zonas cercanas a

la Capital, y la policía requisó las armas de las compraventas y toda la pólvora de las canteras. El despliegue de fuerzas policiales impidió la realización de reuniones de la Federación Obrera Regional Uruguaya, cuyos delegados fueron además agredidos y detenidos por esas fuerzas. (El País, Montevideo, 11 y 12 de enero de 1919, p. 1). En Montevideo, las sedes de distintas instituciones judías fueron allanadas, y el barrio del Cerro -poblado mayoritariamente por inmigrantes- fue ocupado militarmente. Un alto porcentaje de la población judía de Montevideo estuvo bajo arresto en algún momento y un número considerable de obreros israelitas fueron deportados” (9).

En 1922 ¡se hizo justicia!: le sacaron la cama al telefonista que dormía plácidamente “solamente seis horas a la noche” (sic).

En 1926 hubo un aumento notable de los heridos provenientes de las canchas de fútbol, que florecieron como hongos a raíz del campeonato mundial de 1925.

Y en 1933, año de su rotación del internado, “invadieron” el Servicio los “bárbaros” (se refiere a los practicantes).

### Los llamados

En las 24 horas de su guardia, nuestro anónimo autor clasificó los llamados con la particularidad de ajustarlos a un calendario semanal.

Así, los llamados del sábado a la noche los calificó como *médico/alcohólico/policiacos*; los domingos, *médico/policiaco/futbólicos*; los lunes, *accidentes de tráfico y laborales*.

A su vez, durante la jornada construyó un calendario horario: 11 y media, *atropellados en la vía pública*; 12 y media, *los nenes quemados* por el agua hirviendo del puchero; a las 15, *llamados del conventillo*; 17 y media, *ataquecitos* en oficinas públicas y tiendas; 19 y cuarto, los *envenenamientos* "engaña-pichanga"; a las 22, *beodos, grescas, heridas, boliches y cafetines*. El *beodo* (borracho) dice provenir del latín *beo dos* (seguramente por la diplopía); a las 9 de la mañana (del día siguiente) el *accidente del taller*; a las 11 y media se cierra el ciclo (de su guardia) y vuelve a repetirse.

Recuerda así su primer llamado (en verso):

*"Suen a estridente campana / en el garaje. Estremezco / Otra campana se hermana / y al partir suena con ganas / en el carruaje dantesco / Parte veloz la ambulancia / y un practicante enervante va luciendo la arrogancia / que da la estirpe rancia / de practicante flamante / Un herido. Muchedumbres / me aguardarán / Yo con magia bajaré / y desde la cumbre / de mi ciencia daré lumbre / Y... parará la hemorragia [...] Llego al lugar de los tajos / Bajo veloz la camilla.../..... / Y apunto muy cabizbajo / en la hojilla de trabajo / "Erosiones de rodilla".* Fechado el 4/3/1933.

Cuando pasa a desarrollar la *etiología* de los llamados que le tocó asistir:

a) *ataques* ocurridos en plena vía pública: *etílicos, histéricos y epilépticos*,  
 b) *intoxicados* (falsos, qué son los más frecuente; a veces reales) con un ejemplo (también en verso):  
*"Por aquí Don (un pariente) / Le dí aceite (un entendido) / Una silla? (un comedido) / ¡Mi estómago! (la paciente) / Yo ¿pero qué le ha pasado? / La madre*

*"Di por favor!" / La hija "Es que Doctor / sin querer me he intoxicado".* La verdadera historia del llamado a continuación, fue: "parece" que *estaba mal de los bronquios* (sic), fue al médico quien le recetó un jarabe y "*formol para lo otro en un litro de agua*". "Lo otro" era un embarazo no deseado, pero luego vino la fatal equivocación; se irrigó con el jarabe y se bebió el formol,

c) *hemorragia uterina*, un llamado que se incrementó dos a tres meses después del carnaval, porque (nuevamente en verso): "*Ved mortales el final / de una orgiástica noctámbula / Que se corrió una sonámbula / un martes de carnaval / Ved lo que el hada destina / al idilio pastoral / Iniciado en carnaval / por Pierrot y Colombina*" (la metrorragia estaba cantado: embarazo en carnaval; aborto provocado después),  
 d) *llamados de conventillo*,

e) *los quemados*,

f) *el llamado de recién casados* (¿la hemorragia post desfloración?),

g) *el llamado sorpresa*, especie de rarezas como el "mordido una por serpiente" que era en realidad el llamado de un loco (además armado),

h) *los asfixiados*, electrocutados, ahorcados, por escape de gases (¿monóxido de carbono?) y ahogados,

i) *llamado desde las canchas de fútbol*, cuando se termina la fiesta futbolera los hinchas se dividen en dos grupos, el mayoritario, con los destinados al hospital y a la comisaría por revoltosos; el minoritario, con los trasladados a la morgue (y al domicilio sus deudos),

j) *el llamado espectacular*, una muchedumbre alrededor del tísico que escupe sangre "hasta por los cuatro botones del saco",

k) *el llamado rojo*, obviamente hemorragias varias,

l) *la insuficiencia domiciliaria*, enfermedad que reconoce como muy frecuente y aún no descripta en los tratados corrientes; es el paciente que, revisado de arriba-abajo se encuentra ¡NADA!,

ll) *el llamado de las 6 y cinco*, cuando el practicante que atiende hasta las 6 intenta irse a dormir, pero el que entra desde las seis, no se despierta ¿quién se encarga?,

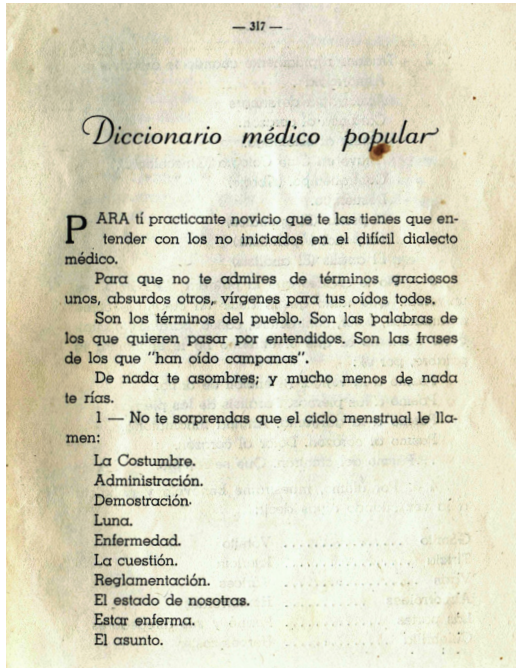


Figura 12. Primera página del Diccionario Médico Popular para el practicante novicio.

m) el llamado de arena gruesa, una mordida de perro, la chispa en el ojo del soldador; la espina en la garganta del comensal, el botón en la nariz del nene; la aguja de la costurera en la mano, una hemorragia dentaria imprevista, una arveja en el oído de otro nene, un hueso de pollo atascado de otro comensal.

**Se termina la rotación como practicante y...**

Luego de un ilustrativo y curioso "Diccionario médico popular" (figuras 12 y 13) viene su despedida del cargo (bajo forma de un soneto) (figura 14):

*"Al son de ambulanciales campanillas / se retiran los viejos practicantes / Se van los sumariados atorantes / con su fama de chinches y polillas / Mas no será por mucho tiempo acaso / que podrán descansar tranquilamente / Pues a secarte vendremos nuevamente / cada uno figurando en este caso / En el cuadro de "Médico Suplente".* (firmado) D.P.

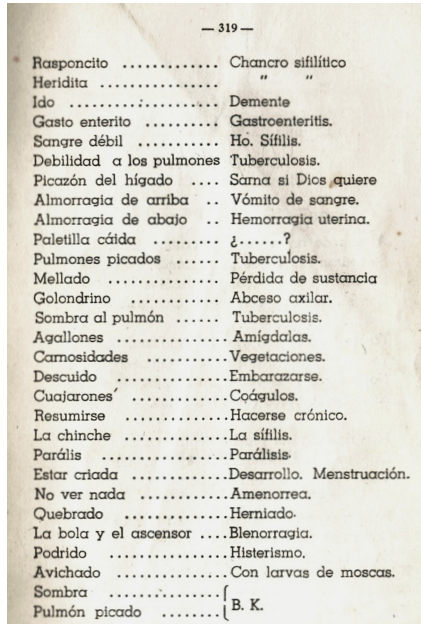
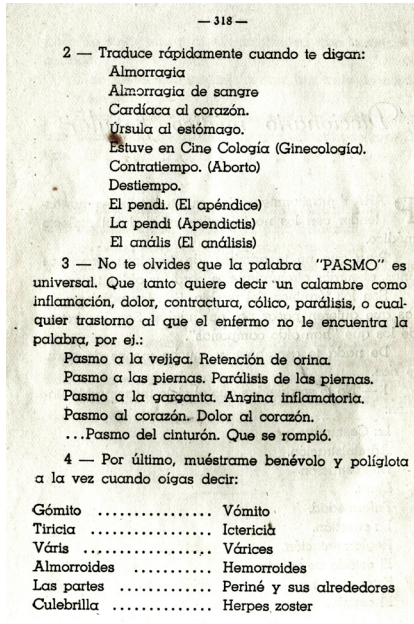


Figura 13. Páginas 318 y 319 del Diccionario Médico Popular.

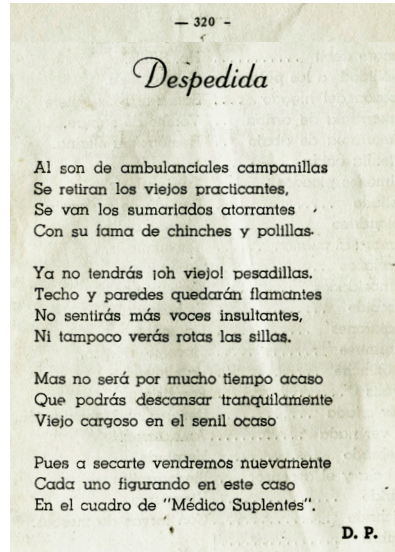


Figura 14. Poema de despedida de "Memorias de una ambulancia" firmado por D.P.

## REFERENCIAS

- (1) *Memorias de una Ambulancia por José Pedro Paraminobencenosulfonamida y María Rosa Dietilbestrol. Impresora Moderna, Milton Reyes y Cía., Montevideo, 1943. 244 págs. [Biblioteca Ciencia, Cultura y Erudición].*
- (2) Pinedo J. *Piolín de Macramé. ¡OH! escogidos de sus primeros 50 años.* Periódico Página 12, Buenos Aires, edición del Domingo, 10 de febrero de 2002. Disponible en: <https://www.pagina12.com.ar/diario/suplementos/libros/10-30-2002-02-10.html> [Consulta 01/09/2018].
- (3) Mas de Ayala I. *Montevideo y su Cerro.* Montevideo: Talleres Gráficos, 1960, pág. 148.
- (4) Tállice R. *Cuentos, confidencias, confesiones.* Prólogo de Francisco Espínola. Montevideo: Arca Editorial, 1969 (Colección Sésamo), pág. 20.
- (5) Ravera JJ. *Pocitos de Pereyra p'abajo.* 1ª edición, Montevideo: Libros del Astillero, 1995, pág. 91.
- (6) Tállice R. *Mis recuerdos y algo más.* Publicación independiente del barrio Pocitos y Punta Carretas (sic). El Tranvía 35, Montevideo 2015; 23(257):10.
- (7) Rizzi Castro M. *Historia de la enseñanza de la otorrinolaringología en el Uruguay.* Rev Med Uruguay 2000; 16:174-192.
- (8) Ferrari JM. *A cien años de la Ley de Asistencia Pública Nacional (1910-2010).* Disponible en: <https://www.smu.org.uy/dpmc/hmed/historia/articulos/100apn.pdf> [Consulta 04/09/2018].
- (9) Lvovich D. *La Semana Trágica en clave transnacional.* Influencias, repercusiones y circulaciones entre Argentina, Brasil, Chile y Uruguay, 1918-1919. Disponible en: <http://cienciassociales.edu.uy/wp-content/uploads/2015/12/LVOVICH-La-Semana-Tragica-en-clave-transnacional.-Argentina-Brasil-Chile-y-Uruguay-1918-1919.pdf> [Consulta 04/09/2018].



## Normas de Publicación

### Publication Rules

La Revista Salud Militar es la publicación científica oficial de la Dirección Nacional de Sanidad de las Fuerzas Armadas. Publica trabajos originales e inéditos referentes a temas en el ámbito de las ciencias médicas, dirigida a todos los profesionales de la salud, los manuscritos recibidos son evaluados Ad Portas por un técnico en estructura de trabajos científicos, seguido por el Editor y Comité Editorial, luego son sometidos a revisión por pares, asesores expertos (árbitros) nacionales e internacionales para su opinión y juicio, con régimen de arbitraje DOBLE CIEGO.

La Revista se adhiere a: "Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas" (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, 5th ed. N Engl J Med 1997; 336(4): 309-15) elaborado por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas o "Grupo de Vancouver" complementado con la Declaración Anexa del Comité cuya versión en castellano reproducida con autorización expresa de: Rev Panam Salud Pública 1998; 3(3):188-96 y 1998; 3(4):257-61.

#### PROCESO DE ADMISIÓN

El manuscrito enviado para publicación será examinado en primera instancia por un evaluador Ad portas, luego el Editor y Comité Editorial, quien valorará si el contenido cumple con los alcances y objetivos de la revista. De ser tenido en cuenta, será sometido a arbitraje, en general por dos expertos designados por el Comité, si hay discrepancia el comité editorial realizará una tercera evaluación (también de forma anónima). Recibida la opinión de los expertos, será evaluado nuevamente por el Editor, de donde puede resultar:

- a) la aceptación del manuscrito sin modificaciones;
- b) la no aceptación, los motivos de la no aceptación serán notificados a los autores;
- c) la no aceptación potencial, condicionada a la revisión del manuscrito por los autores, teniendo en cuenta las sugerencias de modificaciones y el envío de la versión corregida para su nueva evaluación.

Asimismo en el proceso de publicación, los manuscritos podrán ser modificados por la redacción de la Revista. En todos los casos, las decisiones serán comunicadas sin demora a los autores. El proceso de evaluación de un manuscrito que incluya una necesaria revisión, estará acotado a los tiempos establecidos por el comité. Si el autor no cumple con los plazos solicitados por la Revista Salud Militar su

trabajo será retirado, o podrá ser considerado como artículo nuevo y ser sometido otra vez a un arbitraje completo.

Los editores se reservan la propiedad intelectual, de forma que cuentan con la base legal necesaria, actuando en su propio interés y en el de todos los autores cuyos trabajos figuran en sus revistas, para impedir la "autorización no autorizada" de los trabajos publicados. De esta manera, la Revista y los autores están protegidos contra el plagio, la utilización inadecuada de los datos publicados, su reimpresión no autorizada y de otros posibles usos indebidos. El autor no recibirá regalías ni ninguna otra compensación en efectivo por esta cesión de derechos, el autor indicará también en carta enviada (vía e-mail), la aceptación de las condiciones de publicación, luego que su trabajo ha sido aceptado definitivamente para su publicación, aceptando los cambios introducidos por el Comité Editorial, si los hubiera. La ética científica y el derecho de la propiedad intelectual significan que no se pueden publicar nuevamente partes sustanciales del texto, figuras y cuadros, a menos que se haya obtenido autorización del propietario de los derechos de autor.

## REQUISITOS DE ORDEN GENERAL

Es imprescindible que la presentación del trabajo se haga de acuerdo a las normas que a continuación se detallan. De lo contrario, ello podrá ser motivo de su no aceptación o retraso.

Las opiniones o declaraciones expresadas por los autores son de su exclusiva responsabilidad además ceden a la Revista los derechos de reproducción de los textos admitidos.

El envío de un original supone el compromiso por parte del autor de no someterlo simultáneamente a la consideración de otras publicaciones periódicas.

## INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES

### Carta de presentación

Se acompañará de una carta de presentación, firmada por el autor principal, en la que se especifique:

- a) título del trabajo y autores;
- b) ubicación sugerida, dentro de las secciones que comprende la Revista;
- c) declaración de que todos los autores conocen, participan y están de acuerdo con el contenido del manuscrito;
- d) declaración de que el artículo no está presentado simultáneamente en otros medios ni ha sido publicado anteriormente (en su defecto, deberá ser comunicado en carta al Editor, para su consideración);
- e) declaración de que el trabajo ha sido elaborado respetando las recomendaciones internacionales sobre investigación clínica (Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, revisión de 1996);
- f) Nombre, dirección, teléfono y correo electrónico del autor encargado de la correspondencia con la Revista, a los fines de comunicación en la marcha del proceso;
- g) declaración de conflicto de intereses.

### Secciones

La Revista de la D.N.S.FF.AA. (Revista Salud Militar) consta de las siguientes secciones:

1. Editorial
2. Homenaje
3. Artículos originales
4. Revisiones
5. Casos Clínicos
6. Misiones de Paz
7. Historia de la Medicina
8. Jurisprudencia médica
9. Posters e información
10. Cartas al Editor

### Casos clínicos

Se sobreentiende que deben presentar los hechos del caso clínico. La discusión y la bibliografía serán breves y concisas. No deben figurar más de seis autores.

La extensión del texto no superará las seis páginas. No se incluirá más de seis figuras.

### Revisiones

Resumen e introducción, exposición del tema (acorde al formato general) y bibliografía, extensión máxima del texto será de 20 páginas, la bibliografía no será superior a las 100 citas, opcionalmente el trabajo podrá incluir figuras breves.

### Misiones de Paz

Experiencias sobre situaciones médicas vinculadas a las misiones operativas de paz. La extensión máxima será de 10 páginas, se admitirán 6 figuras y la bibliografía no será superior a 10 citas si corresponde.

### Historia de la medicina

La extensión máxima será de 20 páginas, se admitirán 6 figuras y la bibliografía no será superior a 30 citas.

### Jurisprudencia médica

La extensión máxima será de 10 páginas, se admitirán 2 figuras y la bibliografía no será superior a 20 citas.

### Pósters e información

La extensión máxima será de dos páginas, se admitirán 2 figuras y la bibliografía no será superior a 5 citas.



## Cartas al Editor

La extensión máxima será de 2 páginas, se admitirán 2 figuras y la bibliografía no será superior a 10 citas.

## Bibliografía

Las citas bibliográficas son obligatorias. Sólo deben aparecer las citas bibliográficas utilizadas para el artículo y citadas dentro del texto. Se entiende que sólo están referenciadas aquellas que son pertinentes y adecuadas al trabajo y actualizadas a la fecha en que se envía el trabajo.

Las citas bibliográficas deben ser actuales y sólo en trabajos históricos se permite sobrepasar el margen razonable para perder la actualidad y considerarse antiguas. Las referencias bibliográficas deberán estar escritas en la lengua original de publicación.

Se presentará según el orden de aparición en el texto con la correspondiente numeración correlativa, en el texto constará siempre la numeración de la cita.

La no inclusión de citas bibliográficas sobre el mismo tema de los propios autores será considerado como un intento de reproducir total o parcialmente el artículo, lo que constituye una falta de ética por artículo "similar" o "redundante".

Para citar los diferentes materiales bibliográficos se deben emplear los estilos dados como ejemplos más adelante, los cuales están basados en el formato de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos que usa el Index Medicus y en las Normas de Vancouver. Se debe abreviar los títulos de las revistas de conformidad con el estilo publicado en dicho Index, disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>.

No pueden emplearse como citas "observaciones no publicadas" ni "comunicación personal", pero sí pueden citarse entre paréntesis dentro del texto. Los trabajos aceptados, pero aún no publicados, se incluyen en las citas bibliográficas como "en prensa", especificando el nombre de la revista seguido por la expresión "en prensa" entre paréntesis.

Holmes AK, Maisonet M, Rubin C, Kieszak S, Barr DB, Calafat AM, et al. (En prensa). Un estudio pi-

loto de la exposición a los compuestos disruptores endocrinos en las mujeres embarazadas y los niños del Reino Unido. *Int J Child Adolesc Salud*.

Existen algunas abreviaciones que son uniformes:

- La palabra "Journal" se abrevia siempre "J"
- Las terminaciones "ología" se abrevian terminando en la "i", por ejemplo: "Endocrinología" = "Endocrinol"
- La palabra "Revista" siempre se abrevia "Rev".
- La palabra "Clinicas" se abrevia "Clin".
- La palabra "Americana" o "The American" se abrevia "Am".

Una excepción importante es que los títulos de una sola palabra no deben abreviarse nunca, ejemplo: Samuel JM, Kelberman D, Smith AJ, Humphries SE, Woo P. Identification of a novel regulatory region in the interleukin-6 gene promoter.

*Cytokine* 2008; 42 (2):256-264.

## CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ARTÍCULOS

Los trabajos **DEBEN SER ORIGINALES E INÉDITOS**.

Los artículos serán redactados en español, en lenguaje claro y conciso.

Se presentarán en hojas formato A4, preferentemente en lenguaje Word o similar, letra cuerpo 12, con márgenes de 2.5 cm, incluyendo figuras, todo en soporte electrónico.

Los artículos originales deben tener no más de 15 páginas de texto, no más de 8 figuras y no más de 40 citas bibliográficas. Cuando hay figuras deben entregarse los archivos de los mismos (tablas en Microsoft Word o Excel, y fotografías o imágenes en formato TIFF, JPG, PNG o GIF).

No obstante, si el Comité Editorial lo considera pertinente podrá aceptar trabajos de mayor extensión.

### Formas de presentación del documento

El documento se presentará con el siguiente orden:

#### **Primera página**

Título del artículo: Redactado en forma concisa, pero informativa que no exceda las 10 palabras. Deberá ser representativo del contenido del trabajo.

Subtítulos si corresponde.

**Autor/es:** Nombre completo de cada uno de los autores, incluyendo su profesión, con la mención del más alto grado académico y cargos docentes o científicos que ocupen y su afiliación institucional. Nombre completo del Centro en que se ha realizado el trabajo y dirección completa del mismo. Dirección para la correspondencia y dirección de e-mail del autor principal.

### **Segunda página**

**Resumen:** Se redactará un resumen con una extensión aproximada de 200 palabras en español.

Se caracterizará por:

- Redactar en términos concretos los puntos esenciales del artículo. El mismo debe exponer el objetivo de la investigación, el diseño del estudio, los procedimientos básicos (selección de individuos, métodos de observación y de análisis), las mediciones, los resultados y conclusiones principales.
- Su orden seguirá el esquema general del artículo.
- No incluirá material o datos no citados en el texto.
- Debe resaltar los aspectos nuevos e importantes del estudio y las observaciones.

**Palabras clave:** Se indicarán 3 a 10 palabras representativas del contenido del artículo con el fin de facilitar su indexación e inclusión en bases de datos biomédicas nacionales e internacionales, de acuerdo con el DeCS (Descriptor en Ciencias de la Salud) disponible en: <http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>.

### **Páginas siguientes**

**Texto:** Habitualmente consta de las siguientes secciones: Introducción; Objetivos; Revisión de Literatura; Material y Métodos; Resultados; Discusión y Conclusiones.

- **Introducción:** Debe indicar con claridad la finalidad del artículo. Describir los fundamentos del estudio, dando una idea de su alcance e importancia y sus limitaciones. Resumirá los criterios que han conducido a su realización.
- Los **Objetivos** deben figurar al final de la Introducción.
- **Revisión de la literatura:** Orientada a actualizar

los conocimientos relacionados directa y específicamente con el trabajo en cuestión. Se deben mencionar las fuentes de información utilizadas.

• **Material y métodos:** Describirá claramente los criterios seguidos a la hora de seleccionar el material objeto de este estudio, incluido el grupo control. Expondrá la metodología utilizada, incluyendo la instrumentación y la sistemática seguida, con detalles suficientes como para que otros grupos puedan reproducir el mismo trabajo. Hará referencia al tipo de análisis estadístico utilizado. No deben utilizarse los nombres de los pacientes. Cuando se haga referencias a productos químicos deben indicarse nombre genérico, la dosificación y la vía de administración. Fabricantes de instrumentos o productos farmacéuticos no deben mencionarse en el texto, solo que sea imprescindible.

• **Resultados:** Se presentan en forma clara, concisa, lógica sin ambigüedades, para facilitar la comprensión de los hechos que muestran. Deben ajustarse a los objetivos planteados en la introducción. Relatan, no interpretan las observaciones efectuadas con el material y método empleado.

• **Discusión:** Analizar y comparar los resultados obtenidos, explicando sus alcances y limitaciones. El autor intentará ofrecer sus propias opiniones sobre el tema. Se destacará aquí el significado y la aplicación práctica de los resultados; las consideraciones sobre una posible inconsistencia de la metodología y las razones por las cuales pueden ser válidos los resultados.

• **Conclusiones:** Destacar los aportes del trabajo, los que deben estar íntegramente respaldados por los resultados obtenidos y ser una respuesta a los objetivos de la investigación.

**Tablas, Cuadros, Gráficos y Fotografías:** Se incluirán ordenados y numerados correlativamente, se encabezarán como figura con un título descriptivo de su contenido, deben estar indicadas en el texto por su número, deben ser enviadas en formato Microsoft Word o Excel.

La tabla debe ser fácil de leer e interpretar sin tener que consultar el texto (autoexplicativa). Los encabezamientos de datos numéricos deben incluir la



unidad de medida utilizada.

Los mismos criterios se tendrán en cuenta para los cuadros, gráficos o fotografías (número, título, claridad, sencillez). Se recomienda no incluir más de cinco elementos gráficos en total, en un artículo.

Las figuras deberán estar expresadas con numeración arábiga y con un breve título descriptivo.

Las fotografías serán en color o en blanco y negro y de alta resolución. Se solicita especial cuidado en mantener un máximo de definición en las fotografías a incluir. Se aceptan fotografías o imágenes digitales en formato TIFF, JPG, PNG y GIF.

**Abreviaturas y símbolos:** Utilice únicamente abreviaturas normalizadas. Evite las abreviaturas en el título y en el resumen. Cuando en el texto se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

### Ejemplos normalizados para la bibliografía

#### Artículo Estándar:

Elementos esenciales: Autor o autores del artículo. Título el mismo.

Título abreviado de la revista, año de publicación; volumen, número; páginas.

Cuando se mencionen los autores si se trata de un trabajo realizado hasta por seis (6) se mencionará a todos, y si fueran más de seis, se mencionan los seis primeros seguidos de la expresión et al.

Genovese MC, McKay JD, Nasonov EL, Eduardo F, Mysler, da Silva N, Alecock E, et al. Interleukin-6 Receptor Inhibition With Tocilizumab Reduces Disease Activity in Rheumatoid Arthritis With Inadequate Response to Disease-Modifying Antirheumatic Drugs.

Arthritis & Rheumatism 2008; 58(10): 2968-2980.

**Organización como autor:** IARC (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer). Cadmio y sus compuestos. IARC Monogr Eval Carcinog Riesgo Hum 1993; 58:119-237.

**Artículo sin autor:** Cancer en Sud Africa (editorial). S Afr Med J 1994; 84:15.

**Suplemento de un Volumen:** Shen HM, Zhang

QE. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer.

Environ Health Perspect 1994; 402 Supl 1: 275-82.

**Suplemento de un Número:** Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D. The natural history of tardive dyskinesia.

J Clin Psychopharmacol 1988; 8(4 Supl 2):S31-7.

**Parte de un Volumen:** Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non insulin dependent diabetes. Mellitus.

Ann Clin Biochem 1995; 32 (Pt 3):303-6.

**Parte de un Número:** Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. J Am Acad Dermatol 1989; 20 (2 Pt 1):257-60.

**Número sin Volumen:** Avances en terapéutica antirretroviral. Farmacéuticos 2012; (380):50-9.

**Sin número ni volumen:** Danoek K. Skiing in and through the history of medicine.

Nord Medicinhist Arsb 1982:86-100.

**Paginación en números romanos:** Fisher GA, Sikie BL. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction.

Hematol Oncol Clin North Am 1995; 9(2):xi-xii.

**Indicación del tipo de artículo según corresponda:** Castillo Garzón MJ. Comunicación: medicina del pasado, del presente y del futuro [editorial]. Rev Clin Esp 2004; 204(4): 181-4.

Rivas Otero B de, Solano MC, López L. Fiebre de origen desconocido y disección aórtica. [carta]. Rev Clin Esp 2003; 203:507-8.

**Libros y otras monografías:** Los datos bibliográficos se ordenan, en general, de la siguiente forma: Autor. Título. Subtítulo. Edición. Lugar de edición (ciudad): editorial, año; páginas.

**Autor(es) personal(es):** Rouviere H, Delmas A. Anatomía Humana, descriptiva, topográfica y funcional. v. 1 Cabeza y cuello. 11a. ed. Barcelona: Elsevier; Masson, 2005. 653 p.

**Editores, compiladores o directores como autores:** Verderra ES, Gomez de Castiglia S, edi-

tores. Radiofármacos terapéuticos. Comité de Radiofarmacia, Asociación Latinoamericana de Sociedades de Biología y Medicina Nuclear; 2007.

**Organización como autor:** Instituto de Medicina (EU). Mirando el futuro del programa de medicamentos. Washington (DC) : El Instituto; 1992.

**Capítulo o parte de un libro:** Cantini JE. Manejo de las fracturas de la órbita. En: Coiffman F. Cirugía plástica reconstructiva y estética. Tomo III. Cirugía bucal, maxilar y cráneo-orbitofacial. 3a. ed. Bogotá: Amolca, 2007. p. 2401-2426.

**Capítulo de libro, “en prensa”:** McCoy KA, Guillelte LJ. (En Prensa). Los disruptores endocrinos. En: Biología de Anfibios. Vol. 8. Conservación y Decadencia de anfibios (Heatwole HF, ed). Chipping Norton, Nueva Gales del Sur, Australia: Surrey Beatty & Sons.

**Congresos, Conferencias, Reuniones:** Se ingresan los autores y título y luego el título del congreso, seguido del número, lugar de realización y fecha.

**Artículo presentado a una conferencia:** Kishimoto T, Hibi M, Murakami M, et al. The molecular biology of interleukin 6 and its receptor, discusión 16. En: Polyfunctional citokines: IL-6 and LIF. Ciba Foundation Symposium 167. England, 1992. p.5-23

**Patentes:** Gennaro C, Rocco S, inventors. Instituto di Ricerche di Biologia Molecolare P. Angeletti S.P.A., assignee. Interleucina 6 mutante de actividad biológica mejorada con relación a la de la interleucina 6 salvaje. IT patent 2,145,819. 2000 Abr 19.

**Disertación:** Youssef NM. Adaptación escolar en niños con enfermedad cardiaca congénita (Disertación). Pittsburg (PA) : Univ. Pittsburg; 1995.

**Tesis:** Gelobter M. Raza, clase, y la contaminación del aire exterior: la dinámica de la Discriminación Ambiental 1970-1990 [Tesis doctoral]. Berkeley, CA: University of California, Berkeley; 1993.

**Material electrónico:** Cuando se citan los medios electrónicos, deben tenerse en cuenta cinco principios básicos: accesibilidad, propiedad intelectual,

economía, estandarización y transparencia.

**Artículos en formato electrónico:** Artículo de revista científica en internet : Elementos esenciales: Autor o autores del artículo. Título del mismo. Título abreviado de la revista, año de publicación; volumen: páginas, Dirección URL, fecha de la consulta. Sousa E, Medeiros C, Hernández C, Celestino da Silva J. Miasis facial asociada a carcinoma espinocelular en estado terminal. Rev Cubana Estomatol (en línea) 2005; [citado 2013 Dic 09]; 42(3): (2 páginas en pantalla). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072005000300010&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072005000300010&lng=es).

**Monografía en Internet:** Autor/es o Director/ Coordinador/Editor. Título [monografía en Internet]\*. Edición. Lugar de publicación: Editor; año [fecha de consulta]. Dirección electrónica. Moraga Llop FA. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en Dermatología Pediátrica. [monografía en Internet]. Madrid: Asociación Española de Pediatría; 2003 [Consulta 09/12/2013]. Disponible en: <http://www.aeped.es/protocolos/dermatologia/index.htm>

**CD-ROM:** Autor/es. Título [CD-ROM]. Edición. Lugar: Editorial; año. Best CH. Bases fisiológicas de la práctica médica [CD-ROM]. 13ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2003.

**Sitio Web o Página principal de inicio de un sitio Web:** Una página de inicio se define como la primera página de un sitio Web.

Autor/es. Título [sitio Web]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de publicación [fecha de actualización; fecha de acceso]. Dirección electrónica. Fistera.com, Atención Primaria en la Red [sitio Web]. La Coruña: Fistera.com; 1990- [actualizada el 3 de enero de 2006; acceso 12 de enero de 2006]. Disponible en: <http://www.fistera.com>

**Base de datos en Internet:** Institución/Autor. Título [base de datos en Internet]\*. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación, [fecha de actuali-



zación; fecha de consulta]. Dirección electrónica.

\*Puede sustituirse por: [Base de datos en línea], [Internet], [Sistema de recuperación en Internet].

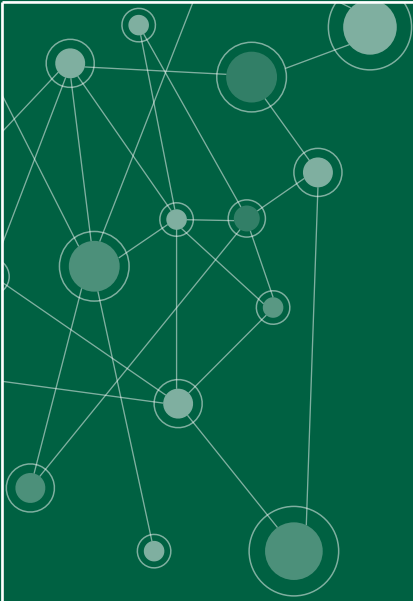
• *Base de datos abierta (en activo)*: PubMed [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1966- [fecha de acceso 19 de diciembre de 2005]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>

• *Base de datos cancelada*: Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [base de datos en Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). c1999 [actualizada el 20 de noviembre de 2001; acceso 19 de diciembre de 2005]. Disponible en: [http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome\\_title.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome_title.html)

### **Prueba final digital**

Los autores serán responsables de corregir la prueba de la versión final aceptada del texto enviada por e-mail o impresa y las correcciones deben ser enviadas de vuelta al Editor Ejecutivo.





SALUD   
MILITAR 