

Cambios hematológicos y efectos colaterales de un extracto de pared celular de micobacterias en caninos sanos (Hematológicos changes and collateral effects of an extract of cellular wall of canine mycobacteria in healthy)

J. Mangieri Méd. Vet.; ex Profesor Adjunto de Enfermedades Quirúrgicas - Fac. Cs. Veterinarias- UBA; ex Profesor Titular de Técnica y Patología Quirúrgica - Fac. de Cs. Veterinarias - Univ. J. A. Maza -Mendoza - Argentina; Actividad profesional privada en el campo de la cirugía y la oncología: Sanatorio Veterinario Cuyo - Mendoza - Argentina.

Contacto: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/jmangieri> - jmangieri@ciudad.com.ar

Resumen

En el presente trabajo se evaluó el efecto que presentó el uso de un extracto purificado de paredes de micobacterias sobre los parámetros hematológicos y la presentación de efectos colaterales.

Los cambios observados fueron algunas modificaciones leves en el recuento leucocitario total (basado, principalmente, en el aumento del número de neutrófilos), un importante aumento de la temperatura corporal y otros efectos tales como adormecimiento, temblores musculares, desmayos, vómitos, inquietud y nerviosismo.

El 41% de los caninos (sobre un total de 29 caninos) no manifestaron ningún efecto colateral evidente pero analizando cada aplicación en forma individual (en un total de 187 aplicaciones), el 63,6% de las mismas no provocaron efectos colaterales evidentes.

Analizando la curva de temperatura corporal de los caninos sometidos a la acción de las paredes de micobacterias se puede inferir que hubo una estimulación de la cascada de las interleuquinas, el efecto deseado de este agente.

Summary

In this report, the author works with purified extract of mycobacterial cell wall extract (MCWE), observing the effects on hematologic parameters and your side effects.

An increasing in total white cell count (specially in neutrophile count) and an significant hyperthermia were seen with the use of MCWE. I also saw another effects such as sleepiness, seasickness with or

without lost of station posture, vomiting, restlessness and nervousness.

I could not see any side effect in 41% of canines (over 29 canines). If we make an analyze of each MCWE injection (187 injection at all), the 63,7% did not evoke any reaction.

According to the temperature curve, we can make an inference about the MCWE triggers the interleukine way, the wished effect.

Introducción

El uso oncológico de los péptidos de muramilo han sido descritos por MacEwen en muchas ocasiones.²²⁻²⁴ Estos agentes pueden ser utilizados como adyuvantes de la cirugía (por ejemplo, en el osteosarcoma y el melanoma canino) como de la quimioterapia (como por ej., en el tumor venéreo transmisible canino); todas estas acciones las cumpliría por medio de la inducción de la producción y la secreción de interleuquinas por medio de la activación de monocitos-macrófagos.^{22,25} Esto último (al actuar sobre las células estromales de la médula ósea y estimular la producción de factores estimulantes de colonia) permitiría utilizarlos contra la mielosupresión inducida por la quimioterapia.

Los péptidos de muramilo son los agentes activos más importantes de las paredes de las micobacterias, por lo que las micobacterias deben ser consideradas agentes inmunomoduladores.⁷ Las paredes de las micobacterias también tienen otras agentes activos como la treolosa y el di y trimicolato.^{1,7}

Según la bibliografía, los péptidos de muramilo han sido utilizados en forma sintética²²⁻²⁴ o por inyecciones de BCG (*Mycobacterium bovis* vivo). Por lo anteriormente dicho, las micobacterias presentan numerosos agentes activos que podrían ser útiles ante determinados tipos de condiciones. Sin embargo, el uso de BCG (como fuente de péptidos de muramilo) puede ser un problema en algunos países, ya que la comercialización de este producto está prohibida. Además, el uso de una micobacteria patógena viva es peligroso debido a que el microorganismo puede colonizar y establecer una infección en el huésped.^{8,9} Por esta razón, el uso de una micobacteria no patógena (tal como el *Mycobacterium phlei*) sería un beneficio para los pacientes.

Se sabe que la administración de *Mycobacterium phlei* induce la activación de monocitos y macrófagos³⁶ y, de esta manera, este agente favorece la producción y la secreción de interleuquina 1 (IL-1)^{6,24,37,38} como así también de IL-6 y del factor de necrosis tumoral alfa (FNT-alfa)^{31,39}. Los mecanismos específicos de interacción entre la pared de la micobacteria y los monocitos y los macrófagos son desconocidos;²⁴ la acción de este agente podría ser la unión de este agente a receptores de superficie o por fagocitosis directa.⁶

El uso de micobacterias no patógenas como fuente de péptidos de muramilo es atractivo para causar un efecto antineoplásico como así también para provocar la producción de factores estimulantes de colonia, a través de la cascada de las interleuquinas.

Esta investigación está enfocada sobre la descripción y la cuantificación de los cambios observados en los parámetros hematológicos y los efectos no deseados observados en los perros sanos después de la administración intravenosa de un extracto purificado de pared de *Mycobacterium phlei*.

Materiales y métodos

Para este artículo, el autor ha trabajado con la administración de un extracto de pared celular de micobacterias (EPCM) en perros normales. Este producto es un extracto purificado de *Mycobacterium phlei*, una micobacteria no patógena. Su uso es un producto final con una concentración de 100 mcg/ml. El EPCM tiene dipéptido de muramilo al 4% y ácido micólico al 20,3%. La dosis administrada depende del peso corporal, según lo descrito en la tabla A. El EPCM es administrado por bolo intravenoso lento (en 2 minutos).

peso corporal	dosis
< 5 kg	50 mcg
5,1 - 10 kg	100 mcg
10,1- 25 kg	250 mcg
25,1 - 50 kg	500 mcg
> 50 kg	750 mcg

Para evaluar el efecto sobre el recuento total y diferencial de leucocitos (Rto GB, total y diferencial), el hematócrito (Hto) y el recuento plaquetario, se trabajó con un grupo control (n = 11) a los que se les administró solución fisiológica (en igual volumen y bajo las mismas circunstancias que al grupo de trabajo).

El grupo de trabajo (n = 10) recibió EPCM por vía intravenosa siguiendo la dosificación mostrada en la Tabla A. Se efectuaron 7 administraciones de EPCM a un intervalo semanal.

En ambos grupos se tomaron muestras de sangre antes de la primer administración de EPCM y de solución salina (grupo de prueba y grupo control, respectivamente) correspondiente a la muestra del día 1 (dato basal); posteriormente se tomaron muestras en ambos grupos entre el día 4 y 10 (una vez al día; siempre por la mañana) y luego se continuó tomando muestras 2 días antes e inmediatamente antes de cada inyección de EPCM y de solución salina en los grupos respectivos.

La temperatura corporal fue evaluada en ambos grupos (grupo control: n = 8; grupo de prueba: n = 10). La temperatura corporal (rectal) fue registrada justo antes de la administración de EPCM y solución salina (minuto 0; dato basal) y 1 min, 5 min, 15 min, 12 hs, 18 hs, 24 hs y 30 hs después de cada inyección de EPCM y de solución salina. Esto se repitió en cada ciclo de administración y, posteriormente, se obtuvieron los promedios para cada tiempo registrado. Por último se evaluó la diferencia de los cambios de la temperatura corporal entre el valor basal y el valor correspondiente a cada momento de medición.

Para analizar la presentación de efectos no deseados posterior a la inyección de EPCM en 29 caninos, se los mantuvo bajo observación clínica durante 7 a 8 semanas bajo un esquema de administración semanal de EPCM. Se realizó un total de 187 inyecciones de EPCM. Para esta parte del trabajo, 21 de 29 caninos recibieron 7 inyecciones de EPCM mientras que los restantes 8 recibieron 6 inyecciones de EPCM.

Todos los caninos incluidos en este trabajo tenían buen estado general y una edad que oscilaba entre 1 y 10 años. Todos presentaban parámetros hematológicos previos dentro de un rango normal y no presentaban ni vómitos ni diarrea.

Todas las muestras fueron comparadas estadísticamente por la prueba ANOVA de dos vías con mediciones repetidas. La comparación del recuento leucocitario día a día fue hecha por medio de la prueba de comparaciones múltiples de Newman-Keuls mientras que la comparación entre los diferentes momentos de temperatura corporal se realizó por medio de la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni.

Resultados

Recuento leucocitario (Rto GB)

(Tablas 1 y 2; Figura 1)

El recuento leucocitario total disminuyó inmediatamente después de la primer inyección de EPCM (un 20%, aproximadamente). Este conteo celular aumentó después de la segunda administración de EPCM. Luego, el recuento leucocitario mostró un leve incremento después de cada inyección de EPCM.

En el grupo control, el recuento leucocitario total no mostró ninguna diferencia significativa ($P < 0,05$), según la prueba de ANOVA y la prueba de comparaciones múltiples de Newman-Keuls.

En el grupo de prueba, la prueba de ANOVA de mediciones repetidas mostró diferencias significativas ($P < 0,05$), en especial cuando se enfrentó el recuento leucocitario total de los primeros 10 días con aquel del día 48.

En la Figura 1 se puede observar que la curva del recuento de neutrófilos sigue la curva del recuento leucocitario total. Cuando se lleva a cabo el análisis estadístico comparativo, la prueba de ANOVA para mediciones repetidas no mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) en el grupo control pero mostró una diferencia significativa en el grupo de prueba ($P < 0,05$) en la misma situación ya explicada para el recuento leucocitario total.

En esta misma figura, también se puede ver que el recuento de linfocitos es muy similar en ambos grupos de trabajo (control y prueba), y las pruebas estadísticas no pudieron encontrar ninguna diferencia significativa ($P < 0,05$) en este recuento celular.

En el recuento plaquetario y en el hematocrito, no se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en ningún grupo de trabajo (control y prueba).

Tabla 1. Recuentos leucocitario, plaquetario y hematocrito en el grupo de prueba

Día de tratamiento	Leucocitos totales	Recuento leucocitario diferencia					plaquetas	Hemató
		Relativo (% ± DS) y en número abso						
		N	L	M	E	B		
1	9740 ± 2483	77 ± 6 (7500)	16 ± 5 (1558)	2	5	0	309100 ± 105200	39 ± 7
4	9010 ± 2301	77 ± 5 (6938)	18 ± 5 (1622)	1	4	0	286400 ± 100000	39 ± 7
5	9020 ± 2412	76 ± 6 (6855)	19 ± 4 (1714)	1	4	0	253700 ± 91400	38 ± 5
6	8630 ± 2390	73 ± 8 (6300)	22 ± 9 (1899)	1	4	0	242800 ± 84700	39 ± 5
7	8160 ± 2022	72 ± 7 (5875)	20 ± 9 (1632)	2	5	0	261500 ± 90300	39 ± 5
8	7850 ± 1834	73 ± 9 (5730)	20 ± 8 (1570)	2	4	0	241500 ± 75000	38 ± 4
9	8080 ± 1742	71 ± 8 (5737)	20 ± 7 (1616)	3	6	0	248900 ± 92400	39 ± 3
10	8050 ± 1913	70 ± 7 (5635)	19 ± 8 (1529)	3	7	0	271400 ± 113400	38 ± 4
13	8920 ± 2918	73 ± 5 (6512)	17 ± 5 (1516)	2	7	0	252800 ± 72500	38 ± 4
15	7970 ± 2190	72 ± 11 (5738)	17 ± 8 (1354)	2	9	0	246900 ± 81200	40 ± 6
20	9580 ± 2700	77 ± 8 (7377)	13 ± 6 (1245)	3	7	0	240500 ± 60300	39 ± 5
22	9430 ± 1463	79 ± 7 (7450)	12 ± 4 (1132)	2	7	0	237800 ± 53800	40 ± 6
27	9320 ± 1954	75 ± 4 (6990)	15 ± 3 (1398)	3	7	0	245900 ± 63600	40 ± 5
29	8300 ± 1429	75 ± 4 (6225)	15 ± 3 (1245)	2	7	0	248900 ± 52900	40 ± 4
34	9650 ± 1874	72 ± 5 (6948)	16 ± 8 (1544)	3	10	0	256600 ± 48000	40 ± 3
36	9000 ± 1112	74 ± 4 (6660)	14 ± 3 (1260)	2	9	0	256200 ± 66100	40 ± 4
41	9780 ± 1971	74 ± 3 (6237)	14 ± 4 (1370)	2	9	0	262000 ± 59000	39 ± 4
43	9650 ± 1892	75 ± 4 (6155)	12 ± 5 (1155)	3	8	0	253300 ± 59000	40 ± 3
48	10100 ± 1972	75 ± 4 (7575)	14 ± 5 (1414)	3	8	0	263800 ± 69400	41 ± 4
50	9690 ± 1467	76 ± 3 (7364)	15 ± 2 (1453)	2	6	0	265500 ± 73000	41 ± 4

Mangieri, J., **Cambios hematológicos y efectos colaterales de un extracto de pared celular de micobacterias en caninos sanos** - Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ©, ISSN 1695-7504, Vol. VI, nº 05, Mayo 2005. www.veterinaria.org - Comunidad Virtual Veterinaria.org © - Veterinaria Organización S.L. © España. Mensual. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html>

día de tratamiento	Leucocitos totales	Recuento leucocitario total Relativo (% ± DS) y en número absoluto ()					plaquetas	Hemató
		N	L	M	E	B		
1	8750 ± 1801	78 ± 4 (6825)	19 ± 4 (1662)	<1	3	0	265300 ± 63000	41 ± 4
4	8700 ± 1416	78 ± 3 (6786)	18 ± 2 (1566)	0	3	0	263400 ± 50700	41 ± 5
5	8770 ± 1477	79 ± 3 (6928)	18 ± 2 (1566)	<1	3	0	265600 ± 49500	42 ± 6
6	9430 ± 1739	76 ± 3 (7167)	20 ± 2 (1886)	<1	3	0	276200 ± 70100	39 ± 14
7	9120 ± 1758	78 ± 3 (7114)	19 ± 2 (1733)	<1	2	0	259800 ± 58900	41 ± 5
8	8790 ± 1506	78 ± 3 (6856)	19 ± 2 (1678)	<1	2	0	262700 ± 73600	42 ± 5
9	8550 ± 1262	78 ± 4 (6669)	18 ± 3 (1539)	<1	3	0	259300 ± 60400	42 ± 6
10	8550 ± 1240	79 ± 3 (6754)	17 ± 4 (1453)	<1	3	0	265500 ± 51500	41 ± 6
13	8900 ± 1626	79 ± 3 (7031)	16 ± 4 (1424)	<1	5	0	275400 ± 59600	41 ± 4
15	9063 ± 1454	80 ± 2 (7250)	16 ± 3 (1450)	<1	4	0	287400 ± 60900	41 ± 4
20	9155 ± 1753	80 ± 3 (7324)	16 ± 3 (1465)	<1	4	0	273700 ± 53700	42 ± 4
22	8945 ± 1659	78 ± 4 (6977)	17 ± 7 (1520)	<1	2	0	272900 ± 61200	42 ± 4
27	8664 ± 1507	80 ± 4 (6931)	15 ± 5 (1300)	<1	2	0	272400 ± 68100	42 ± 4
29	8791 ± 1830	78 ± 3 (6877)	19 ± 3 (1670)	<1	3	0	271000 ± 62400	42 ± 4
34	8682 ± 1760	79 ± 3 (6858)	18 ± 3 (1522)	<1	2	0	265600 ± 76000	42 ± 5
36	8609 ± 1546	79 ± 2 (6801)	19 ± 3 (1636)	<1	2	<1	271500 ± 71200	42 ± 4
41	8845 ± 1624	80 ± 3 (7076)	17 ± 2 (1504)	<1	3	0	255100 ± 63500	42 ± 5
43	8636 ± 1379	80 ± 2 (6909)	17 ± 2 (1468)	<1	2	0	262700 ± 63200	41 ± 4
46	8703 ± 1626	78 ± 3 (6835)	19 ± 3 (1565)	<1	2	0	264300 ± 59500	41 ± 4
49	8682 ± 1693	79 ± 3 (6859)	18 ± 3 (1476)	<1	2	0	263000 ± 64400	42 ± 5

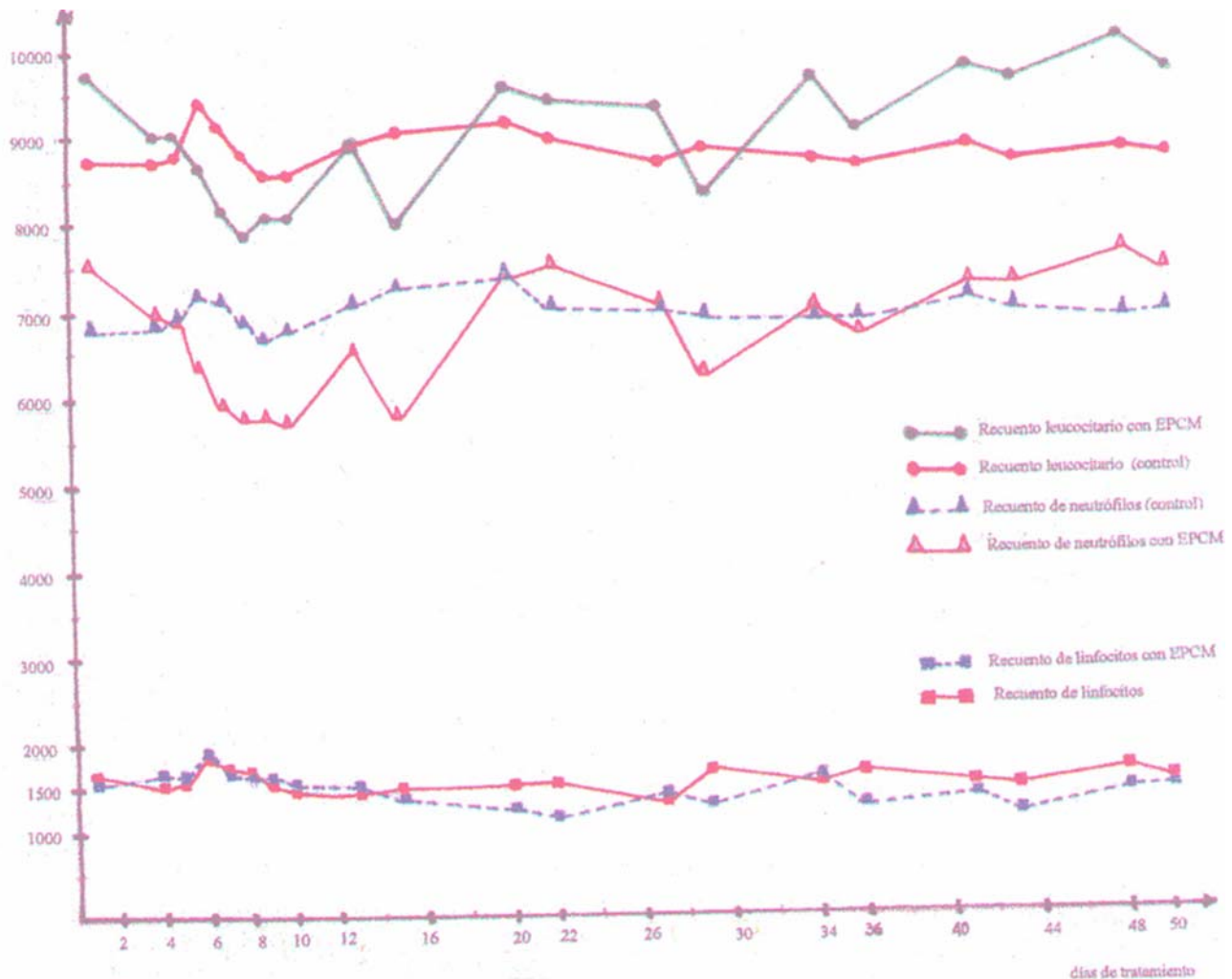
Mañeri, J. Cambios hematológicos y efectos colaterales de un extracto de pared celular de micobacterias en caninos sanos - Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®. ISSN 1695-7504. Vol. VI, nº 05, Mayo 2005. Veterinaria.org - Comunidad Virtual Veterinaria.org ® - Veterinaria Organización S.L.© España. Mensual. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html>

Tabla 2. Recuentos leucocitario, plaquetario y hematocrito en el grupo control

(Grupo de prueba: n= 13; Grupo control: n=8)

número de inyección		0´	1´	5´	15´	12hs	18hs	24hs	30hs
1ra	Control	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.
	Prueba	38.4±0.	38.4±0.	38.5±0.	38.9±0.	38.8±0.	38.5±0.	38.4±0.	38.4±0.
2da	Control	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.6±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.
	Prueba	38.4±0.	38.5±0.	38.8±0.	39.3±0.	39.0±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.4±0.
3ra	Control	38.5±0.	38.6±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.6±0.	38.6±0.	38.4±0.
	Prueba	38.4±0.	38.5±0.	38.7±0.	39.0±0.	39.0±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.4±0.
4ta	Control	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.6±0.	38.5±0.
	Prueba	38.4±0.	38.4±0.	38.7±0.	39.2±0.	39.0±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.
5ta	Control	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.4±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.6±0.
	Prueba	38.5±0.	38.5±0.	38.8±0.	39.0±0.	38.8±0.	38.5±0.	38.4±0.	38.5±0.
6ta	Control	38.5±0.	38.5±0.	38.6±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.
	Prueba	38.5±0.	38.5±0.	38.8±0.	39.1±0.	39.0±0.	38.5±0.	38.4±0.	38.4±0.
7ta	Control	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.
	Prueba	38.3±0.	38.3±0.	38.6±0.	39.1±0.	38.9±0.	38.5±0.	38.4±0.	38.4±0.
Temp. promedio	Control	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.5±0.
	Prueba	38.4±0.	38.4±0.	38.8±0.	39.1±0.	38.9±0.	38.5±0.	38.5±0.	38.4±0.

Figura 1. Recuentos leucocitario total, de neutrófilos y linfocitos en los grupos control y de prueba



Temperatura corporal (rectal)

(Tablas 3 y 4; Figuras 2 y 3)

La temperatura corporal (rectal) comienza a mostrar un leve aumento 5 minutos después de la inyección de EPCM. Este aumento es muy obvio entre los 15 minutos y las 12 horas después de la inyección de EPCM. Sin embargo, la temperatura corporal estaba dentro del rango normal 18 horas después de la inyección de EPCM.

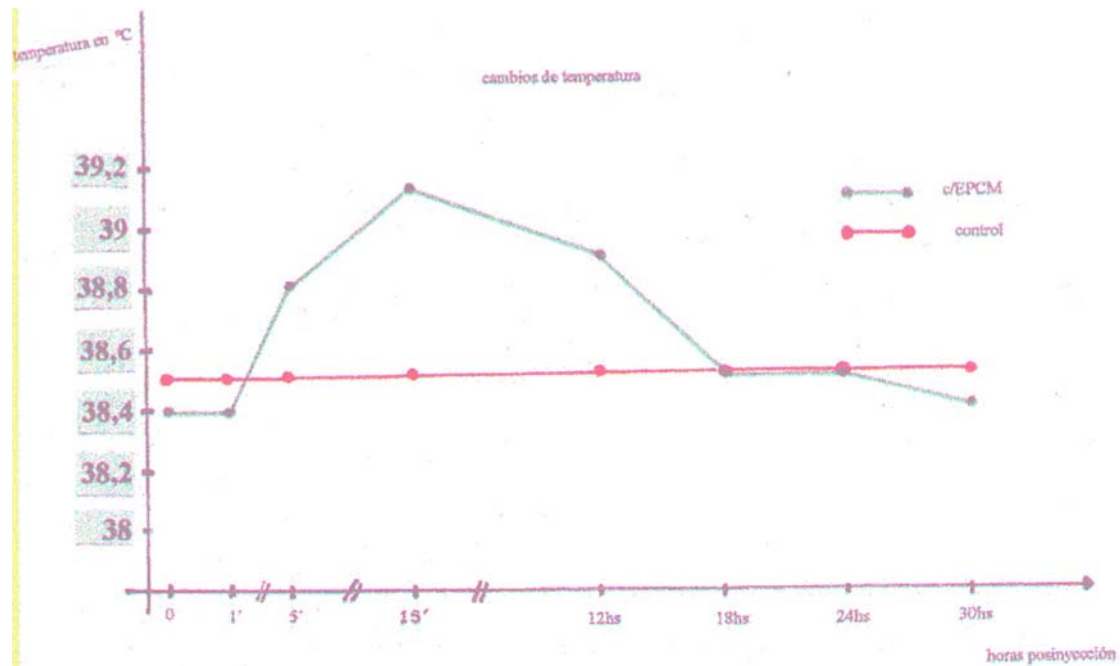
Tabla 4. Diferencias promedio entre los cambios de temperatura

número de inyección		0´	1´	5´	15´	12hs	18hs	24hs	30hs
1ra	Control	38.5±0.	0	0	0	0	0	0	0
	Prueba	38.4±0.	0	0.1	0.5	0.4	0.1	0	0
2da	Control	38.5±0.	0	0	0	0.1	0	0	0
	Prueba	38.4±0.	0.1	0.4	0.9	0.6	0.1	0.1	0
3ra	Control	38.5±0.	0.1	0.1	0	0	0.1	0.1	-0.1
	Prueba	38.4±0.	0.1	0.3	0.6	0.6	0.1	0.1	0
4ta	Control	38.5±0.	0	0	0	0	0	0.1	0
	Prueba	38.4±0.	0	0.3	0.8	0.6	0.1	0.1	0.1
5ta	Control	38.5±0.	0	0	0	-0.1	0	0	0.1
	Prueba	38.5±0.	0	0.3	0.5	0.3	0	-0.1	0
6ta	Control	38.5±0.	0	0.1	0	0	0	0	0
	Prueba	38.5±0.	0	0.3	0.6	0.5	0	-0.1	-0.1
7ta	Control	38.5±0.	0	0	0	0	0	0	0
	Prueba	38.3±0.	0	0.3	0.8	0.6	0.2	0.1	0.1
Temp. promedio	Control	38.5±0.	0	0	0	0	0	0	0
	Prueba	38.4±0.	0	0.4	0.7	0.5	0.1	0.1	0

Aparentemente, no hay diferencias groseras en la temperatura corporal entre los diferentes ciclos de administración. La máxima diferencia en los promedios fue de 0,7 °C, a los 15 minutos posinyección (con 0,4°C y 0,5°C a los 5 minutos y a las 12 horas, respectivamente), siendo de 0,1 °C a las 18 y las 24 horas y de 0 °C a las 30 horas.

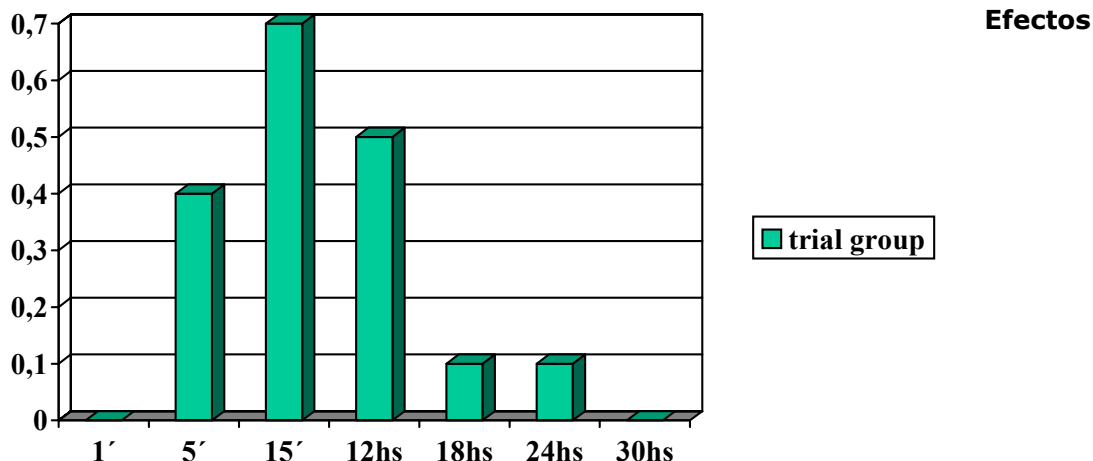
Haciendo la prueba estadística ANOVA para mediciones repetidas, la temperatura en el grupo control no mostró diferencias significativas ($P < 0,05$). En el grupo de prueba se encontró una diferencia altamente significativa ($P < 0,0001$).

Figura 2. Curva sobre los cambios de temperatura en el grupo de prueba y el control



Según la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni, se observaron diferencias significativas desde el registro de 1 minuto hasta el de 5 minutos y esta diferencia continua hasta el registro correspondiente a las 18 horas. Entre la medición de las 18 horas y las 24 horas, la temperatura corporal estaba dentro del rango basal sin observarse diferencias significativas ($P < 0,05$).

Figura 3. Diferencia en la temperatura corporal entre los animales del grupo control y el grupo de prueba (después de la inyección de EPCM)
 (trial group = grupo de prueba)



colaterales - no deseados
 (Tabla 5)

Tabla 5. Efectos colaterales / no deseados posteriores a la inyección de EPCM en perros normales

signos	en 29 animales	en 187 inyecciones de EPCM
adormecimiento	12/29 (41%)	56/187 (30%)
vómitos	9/29 (31%)	12/187 (6.4%)
temblores musculares	11/20 (38%)	16/187 (8.5%)
mareo marcha con tambaleo pérdida de la postura de estación	3/29 (10%)	6/187 (3.2%)
pérdida de la conciencia	4/29 (14%)	7/187 (3.7%)
hipotensión sin pérdida de la conciencia	3/29 (10%)	2/187 (1.1%)
inquietud y nerviosismo	1/21 (3.4%)	1/187 (0.5%)
nada	12/29 (41%)	119/187 (63.6%)

Doce de los 29 caninos evaluados (41%) no mostraron ningún efecto no deseado -colateral pero sí lo hicieron los 17 (59%) restantes.

Si se realiza el análisis en base a las 187 inyecciones de EPCM realizadas, no se observaron efectos no deseados - colaterales en el 63,6% de las mismas.

Dirigirse a la Tabla 5 para observar los diferentes efectos observados y cual fue su tasa de presentación individual.

Discusión

El punto clave inicial es que el EPCM activa a los macrófagos por medio de los péptidos de muramilo y la treolosa.^{1,11,36} Este fenómeno produce interleuquina 1 (IL-1).^{1,5,6,24,37,38} La producción y la liberación de IL-1 depende de la dosis de EPCM.⁶ Según la dosis descrita por Alkamade,⁶ la dosis utilizada aquí es más alta y, por lo tanto, es de esperar que la liberación de IL-1 haya sido más alta.

Chin-Yee y Keeney⁵ demostró que el EPCM en los ratones produjo un aumento en la concentración plasmática de IL-1, con un pico a las 12 horas después de la inyección; esta concentración disminuyó dentro de las siguientes 48 horas. Según lo ya informado,^{1,5,6} la curva de temperatura corporal sigue a la curva de concentración plasmática de IL-1 y se podría tomar a la primera como un indicador de la segunda.

En este informe, la curva de temperatura corporal es similar a la mostrada por otros.^{1,5,6} Por lo tanto, se puede suponer que los perros aquí utilizados han tenido una producción similar de IL-1. Alkamade⁶ mostró que un aumento de la dosis de EPCM en los equinos no provocó un mayor incremento de la temperatura corporal en cada animal pero sí aumentó el número de animales que mostraron incremento en la temperatura corporal. En este informe, 10/10 de animales (100%) mostraron un aumento de la temperatura corporal con una diferencia de temperatura igual o superior a 0,4 °C respecto al valor basal.

Alkamade⁶ ha visto en equinos que el EPCM provocó una diferencia máxima en la temperatura corporal (0,55°C) a las 8 horas después de la inyección; en el presente trabajo con caninos se pudo observar una máxima diferencia de 0,7 °C en el lapso 15 minutos - 12 horas posterior a la inyección con EPCM.

La liberación de IL-1 representa la segunda señal sobre las células T_{H1} induciendo, de esta manera, la producción de IL-2 (Figura 5).^{2-4,11} Esta interleuquina lleva a una mayor producción y diferenciación de linfocitos. Este efecto podría comenzar alrededor del 3er día posterior a la inyección de EPCM.⁶ Sin embargo, el aumento en el número de linfocitos podría suceder dentro de los órganos linforreticulares y no en el torrente sanguíneo. En este informe, el recuento de linfocitos no mostró ninguna diferencia significativa. Hay que tener presente que la estimulación funcional de las células T es una acción más importante que el aumento en sí del número de linfocitos circulantes, lo que haría necesario enfocar un próximo estudio en los cambios en las subpoblaciones de linfocitos y en el grado de funcionalidad de los mismos a partir de una inyección de EPCM.

La IL-2 (Figura 5) estimula a los macrófagos para producir factor de necrosis tumoral alfa (FNT - alfa).^{31,39} Esta acción provoca hipertermia e hipotensión. El FNT-alfa también estimula a las células estromales de la médula ósea para que produzcan factores estimulantes de colonia (FEC).¹¹

La hipertermia puede también ser producida por la IL-2 en sí misma.^{11,17} La IL-2 también puede producir edema pulmonar secundario a vasculitis, dermatitis, daño hepatocelular y disfunción renal.^{11,17} Un paciente (fuera de esta investigación) mostró una grave dermatopatía generalizada posterior a la primer inyección de EPCM; sin embargo, el autor no podría asegurar si fue el EPCM el agente causal de la lesión dermatológica. Todos los perros evaluados en este trabajo fueron evaluados con un perfil bioquímico que incluía concentración plasmática de nitrógeno ureico, creatinina sérica, GPT y fosfatasa alcalina, sin poder observar ninguna alteración al respecto. También se realizó una biopsia hepática al finalizar el tratamiento, habiéndose observado un leve aumento de fibrosis intersticial.

La IL-1 activa a las células T_{H1} para que produzcan IL-3.^{11,17,24,32} La IL-3 estimula a las células estromales de la médula ósea para producir factor estimulante de colonias (FEC) pluripotencial.¹¹ Esta acción aumenta los recuentos de eosinófilos, neutrófilos y monocitos. Algunos autores⁴¹ mencionan que la IL-3 también estimula a la línea eritroide. La IL-1 también induce la producción de FEC pluripotenciales por sí misma.

En este informe se observó un aumento significativo ($P < 0,05$) en el número de neutrófilos y, aparentemente, este hecho es el factor causal (o al menos, el principal) del incremento del número de leucocitos.

En las curvas de recuento leucocitario total y de recuento de neutrófilos, se puede observar un descenso en el recuento celular después de la primer inyección de EPCM. Este descenso también pudo ser observado por el autor en pacientes con quimioinmunoterapia después de la primer dosis. A primera vista, se podría pensar que la inyección de EPCM produce un "bloqueo" inicial de la médula ósea y luego comienza la estimulación esperada. Es interesante el hecho que ésto no ocurre después de la próxima inyección en el mismo animal. El autor no puede explicar este fenómeno con sus conocimientos actuales. Sin embargo, a pesar de esta diferencia observable (Figura 1) el recuento leucocitario y de neutrófilos de los primeros 8 días no mostró diferencias estadísticamente significativas entre sí.

Quizás, la diferencia estadística mostrada entre los primeros 10 días y el día 48 se debió en gran parte a la caída del recuento en los primeros 10 días y no a un aumento en el día 48.

El recuento de eosinófilos mostró un leve aumento después del día 15; sin embargo, este efecto no tendría importancia clínica y habría que ver si se debe a una acción estimulantes de colonia o es parte de una reacción inmunomediada contra la pared de la micobacteria.

Los monocitos circulantes no tuvieron un aumento del número, como podría esperarse. Es probable, que los nuevos monocitos se dirijan rápidamente hacia el intersticio

(transformándose en macrófagos) y, de esta manera, no puede verse reflejado en un aumento en las muestras de sangre periférica.

A pesar del teórico estímulo existente sobre la línea eritroide,⁴¹ el autor no encontró ninguna diferencia significativa en el hematócrito posterior a la inyección del EPCM.

La IL-1 también induce a las células T_{H1} a producir IL-4,^{17,20,24} IL-5^{20,24,33} e IL-6^{20,24,34} (Figura 6). La IL-4 induce la proliferación de células T y estimula a las células estromales de la médula ósea a producir FEC. La IL-5 actúa en la proliferación de eosinófilos. La producción de IL-6 es muy importante. Algunos autores^{11,35,41} han mencionado un aumento en la trombocitopoyesis pero quien suscribe no encontró ninguna diferencia significativa en el recuento plaquetario. La IL-6 también estimula las células estromales de la médula ósea para producir FEC pluripotencial. La IL-6 es considerada uno de los factores pirógenos endógenos más importantes en esta cascada.^{11,17} La hipertermia inducida por la IL-6 se debe a la estimulación directa del hipotálamo mediada por la prostaglandina E_2 (PGE₂). Este mecanismo sería el mismo por el cual la IL-1 produce hipertermia.^{2-4,6,11,20,24}

Otros efectos de la IL-1 son anorexia, letargo y adormecimiento.⁶ Por lo general, estos efectos fueron vistos en pacientes con hipertermia importante. También se describió un aumento en la producción y liberación de insulina.⁶

Es probable que el vómito (observado en ocasiones después de la administración de EPCM) sea secundario a la hipotensión (en especial cuando ellos aparecen inmediatamente después de la inyección) o a la hipertermia (cuando se manifiesta en las siguientes 12 horas a la inyección).

Los temblores musculares y la pérdida de la conciencia puede ser secundaria a una hipotensión grave y súbita. Estos efectos pueden ser observados tanto con inyecciones en bolo intravenoso rápido como lento, e incluso con administración por goteo, y la recuperación fue la misma en aquellos animales que recibieron terapia de soporte y en aquellos que no. El periodo de recuperación fue de 1 a 3 minutos

La anorexia se puede deber a la hipotensión y/o la hipertermia como así también a un efecto anorexígeno directo de la IL-1. El letargo y el adormecimiento puede ser secundario a la hipertermia y/o el efecto directo de la IL-1 sobre el hipotálamo.

Dieciseis pacientes no tuvieron problemas después de la primer inyección de EPCM. Doce de éstos (12/16; 75%) no manifestaron ningún problema con las siguientes inyecciones de EPCM. Por lo tanto, si un paciente no manifiesta problemas con la primer inyección hay pocas probabilidades de que lo haga con las posteriores.

Por otro lado, sólo un perro con problemas (vómitos) después de la primer inyección de EPCM no tuvo ningún efecto colateral con las siguientes inyecciones. Por lo tanto, si un paciente muestra algún efecto colateral con la primer inyección hay muchas probabilidades de que las siga manifestando después de las siguientes inyecciones.

Habría que aclarar el concepto de efecto colateral y efecto no deseado. Tal vez, este último no estaría bien aplicado en este caso ya que los efectos descritos son consecuencia de la presentación de la cascada de las interleuquinas y son una señal de la acción de ésta por lo que, al no ser peligrosas en ningún modo para el paciente, su presentación nos indica que la droga está trabajando dentro del paciente.

Si es necesario aclarar que las paredes de micobacterias NO deberían utilizarse en pacientes con shock séptico o con posibilidades de padecerlo y en diabéticos. En este último caso se debe recordar que los péptidos de muramilo alteran la producción de insulina, lo que puede provocar la desregulación de un paciente diabético bajo tratamiento en equilibrio. Por otro lado, los péptidos de muramilo pueden comenzar la vía fisiopatológica similar al shock séptico tal como lo hacen las endotoxinas de las bacterias gram negativas.

Conclusiones

El uso de EPCM en caninos provocó un aumento significativo en la temperatura corporal (rectal) en forma similar a la curva de producción y liberación de IL-1 inducida por los péptidos de muramilo, lo que señalaría que estaría provocando el inicio de la cascada de las interleuquinas.

Esto llevaría a sugerir su uso en aquellas situaciones en las que el uso de la IL-1 estuviese indicado, salvo en pacientes diabéticos y en pacientes con shock séptico declarado o inminente.

Bibliografía

1. Alkamade,S: Mycobacterium cell walls and their stimulating action on immune system of animals. Vetrepharm Inc. London, Ontario. Canada. 1990
2. Dinarello,C.: Biology of interleukin 1. FASEB J 2:108,1988
3. Tizard,I.: Basic Immunology – 3: The importance of macrophages. Vet Med pg 250, 1986
4. Winters,W;Harris,S.: Interferon induction in healthy and tumor-bearing dogs by cell wall of Mycobacterium bovis strain bacille Calmette-Guerin. Am J Vet Res 43:1232,1982
5. Chin.-Yee,I; Keeney,M.: Effects of MCWE on phagocyte function. Report by Bioniche Inc. Ontario. Canada. 1993
6. Alkamade,S: The immunologic basis for nonspecific immunotherapy. Vetrepharm Report. Ontario. Canada. 1993
7. Garree,Y.: Immunomodifiers of bacterial origin. Comp Immun Microbiol Infect Dis 9(2/3) 137, 1986
8. Israel-Biet,D et al: Pulmonary complications of intravesicular Bacille Calmette-Guerin Immunotherapy. Am Rev Resp Dis 135:763,1987
9. Orihuela,E et al: Toxicity of intravesicular BCG and its management in patients with superficial bladder tumors. Cancer 60:326,1987
10. ----
11. Oppenheim,J et al. Citoquinas. En Stites,D et al: Basic and Clinical Immunology. Edit. Manual Moderno. 7ma ed.

12. Mizel,S.: Interleukin-1 and T-cell activation. Immunol Today 8:330,1987
13. Beutler,B et al: Control of cachectin (TNF) synthesis: mechanism of endotoxin resistance. Science 232:997,1986
14. Old,L.: Tumor necrosis factor. Science 230:630,1985
15. Rosenberg,S;Lotze,M.: Cancer immunotherapy using IL-2 and IL-2 activated lymphocytes. Annu Rev Immunol 4:681,1985
16. Metcalf,D.: Molecular biology and functions of granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. Blood 67:257,1986
17. MacEwen,G; Helfand,S.: Immunology and Biologic Therapy of Cancer. In Withrow,S;MacEwen,G (eds): Small animal clinical oncology. 2nd ed. Chp.11. 1996
18. Kisseberth,W and MacEwen,G.: Complications of cancer and its treatment. In Withrow,S;MacEwen,G (eds): Small animal clinical oncology. 2nd ed. Chp.13. 1996
19. Ogilvie,G;Moore,A: Managing the veterinary cancer patient. Vet Learning System Co. 1995
20. Tompkins,M;Tompkins,W.: Immunoregulatory cytokines and their potential in therapy. In Kirk,R (ed): Current Veterinary Therapy XI. 1993
21. London,Ch: Hematopoietic cytokines: the myelopoietic factors. In Bonagura,J (ed): Kirk´s Current Veterinary Therapy XIII. 2000.
22. MacEwen,G: Recent advances in the biologic therapy of cancer. Comp Cont Educ 15(7)909,1993
23. MacEwen,G.: Spontaneous tumors in dogs and cats: models for the study of cancer biology and treatment. Cancer and metastasis review 9:125,1990
24. MacEwen,G.: Biologic response modifiers: the future of cancer therapy? Vet Clin N Am: small anim pract 20(4)1055,1990
25. Onions,D.: Tumor immunology. Chp.8. In Madewell,B;Theilen,G.(eds) Veterinary Cancer Medicine. 1987
26. Oldham,R;Smalley,R.: Biologicals and biological response modifiers. In DeVita,V et al (eds): Cancer: principles and practice of oncology. 2nd ed. 1985
27. Bostock,G; Norman,N.: Intravenous BCG therapy of mammary carcinoma in bitches after surgical excision of the primary tumor. Eur J Cancer 14:869,1978
28. Bronchud,M.: Recombinant human granulocytes colony-stimulating factors in the management of cancer patient. Oncology 51:189,1994
29. Mangieri,J.: Inmunoterapia posquirúrgica para el osteosarcoma canino. Ciencia Veterinaria 20:38,1993
30. Mangieri,J y col: Uso de la combinación quimioinmunoterapia para el tratamiento del TVT canino. Pet´s Ciencia 11(57)134,1995
31. Young,J.Cohn,Z.: How do killer cells kill? Sci Ann 258:28,1988
32. Clark,S;Kamen,R.: The human hematopoietic colony-stimulating factors. Science 263:1229,1987
33. Mahanty,S;Nutman,T.: The biology of interleukin-5 and its receptor. Cancer Invest 11:624,1993
34. Kishimoto,T: The biology of interleukin-6. Blood 74:1,1989
35. Ishibash,T et al: Interleukin-6 is a potent thrombopoietic factor in vivo in mice. Blood 74:1241,1989
36. Withworth,P et al: Macrophages and cancer. Cancer Metastasis Rev 8:319,1990

37. Kleinerman, E et al: Phase II study of lyposomal muramyl tripeptide in osteosarcoma: the cytokine cascade and monocyte activation following administration J Clin Oncol 10:1310,1992
38. Niebes, L et al: Modulation of monocyte functions by muramyl tripeptide phosphodylethanolamine in a Phase II study in patients with metastatic melanoma. J Nat Cancer Inst 84:694,1992
39. Kurzman, I et al: In vitro and in vivo canine mononuclear cell production of tumor necrosis factor induced by muramyl peptides and lipopolysaccharide. J Vet Immunol Immunopathol 38:45,1993
40. Mochizuki, D et al: Interleukin-1 regulates hematopoietic activity, a role previously ascribed to hemopoietin 1. Proc of Nat Aca Sci USA 84:5267,1987
41. Groopman, J et al: Hematopoietic growth factors. N England J Med 321:1449,1989

Trabajo recibido el 11.02.05 nº de referencia 050524_RED VET. Enviado por su autor, jmangieri, miembro de la [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)®. Publicado en [REDVET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)® el 01/05/05.

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica en su totalidad o parcialmente, siempre que se cite la fuente, enlace con Veterinaria.org - www.veterinaria.org y [REDVET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)® www.veterinaria.org/revistas/redvet y se cumplan los requisitos indicados en [Copyright](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)

(Copyright) 1996-2005. [Revista Electrónica de Veterinaria REDVET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)®, ISSN 1695-7504 - [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)®