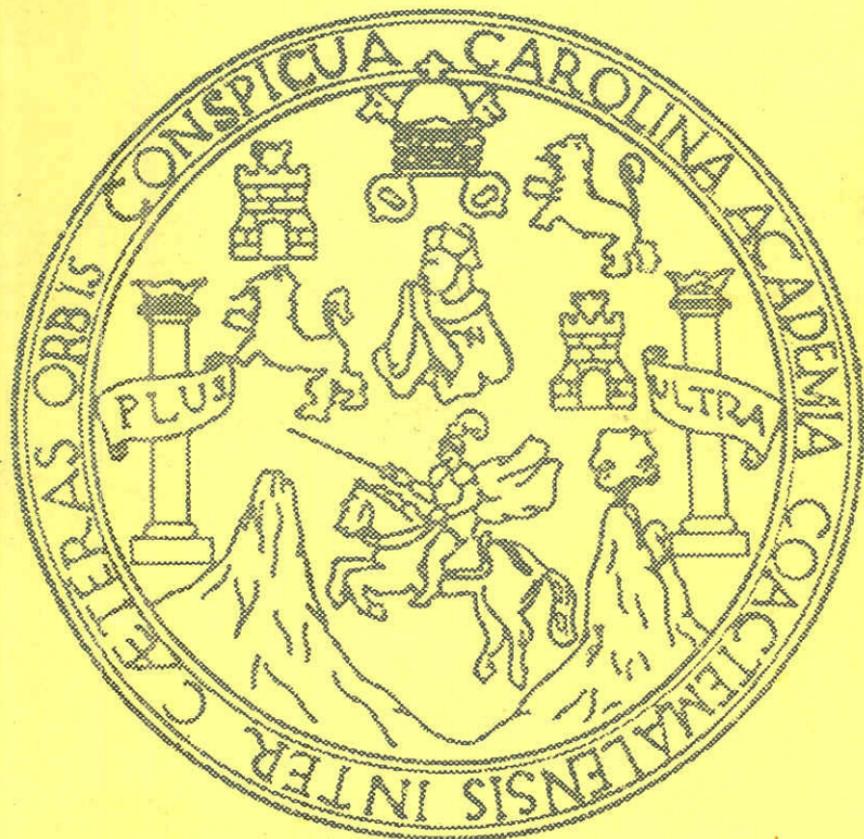


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

DETERMINACION DE CHLAMYDIA PNEUMONIAE
PLACAS ATEROMATOSAS



CHRISTIAN DANIEL ESPAÑA SCHMIDT

MEDICO Y CIRUJANO

CONTENIDOS

1. INTRODUCCION
2. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA
3. JUSTIFICACION
4. OBJETIVOS
5. MARCO TEORICO
6. MARCO METODOLOGICO
7. PRESENTACION DE RESULTADOS
8. DISCUSION DE RESULTADOS
9. CONCLUSIONES
10. RECOMENDACIONES
11. BIBLIOGRAFIA
12. ANEXOS

INTRODUCCION

La aterosclerosis, es una enfermedad que poco a poco ha ido ganando esaños, en la mortalidad de muchos países, realidad, a la cual el nuestro no es la excepción (1,42). La enfermedad coronaria amenaza con ser en Guatemala la epidemia del siglo XXI, y como tal amerita ser estudiada y prevenida como las demás enfermedades infectocontagiosas.

Se ha descrito desde hace algunos años una asociación entre el agente infeccioso *Chlamydia pneumoniae* y la génesis y desarrollo de la placa aterosclerótica (3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15).

Así decidí estudiar, la existencia de ésta posibilidad en Guatemala.

Para esto, se han tenido que adquirir y aplicar tecnología que hasta hace unos momentos antes de iniciar con la investigación no existían en Guatemala. Y así se implementó en el laboratorio de virus del Laboratorio Multidisciplinario, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, el laboratorio de Chlamydias, y se consiguieron células especiales para lograr la realización de cultivos celulares con tal fin.

Hoy día ya en la facultad se tiene la experiencia para cultivar *Chlamydia* ya que ésta constituye la primera vez que se trata de cultivar *Chlamydia* en Guatemala.

En especímenes de necropsias, se estudió la presencia de aterosclerosis, en las arterias coronarias, y se cultivaron en células en el Laboratorio Multidisciplinario. Así, se logró hallar al agente infeccioso, por medio de criterios citopáticos en los cultivos celulares, en por lo menos dos de las arterias estudiadas.

Pasamos después de esta introducción al contenido del trabajo.

DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA

La aterosclerosis es una enfermedad que provoca secuelas graves, y que en los países en desarrollo es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad (3), en Guatemala las muertes y morbilidad por causas cardiovasculares han aumentado mucho en los últimos años hasta situarse entre las diez primeras causas de morbi-mortalidad del país (41).

Chlamydia Pneumoniae, es un patógeno que provoca enfermedad pulmonar (5), sin embargo hoy día se ha relacionado al agravamiento de la aterosclerosis (3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15). Esto se presenta de manera insidiosa, sin generar un síndrome clínico específico, por lo que se ha propuesto el tratamiento indiscriminado de las personas con aterosclerosis grave (41).

En este estudio se logró de aislar al patógeno *C. pneumoniae* de placas ateromatosas obtenidas por medio de especímenes de necropsia, en la Morgue del Organismo Judicial, durante el período de un mes, por medio de cultivo en células en el laboratorio Multidisciplinario, para así investigar esta forma de la afección.

JUSTIFICACION

Chlamydia Pneumoniae es un agente infeccioso que ha sido relacionado con el desarrollo de aterosclerosis en muchos estudios en los cuales se ha hallado evidencia de la misma por medio del hallazgo de la bacteria viable en las placas ateromatosas (14,15,16), y el hallazgo de Acido Desoxi Ribonucleico (AND) y Acido Ribonucleico (ARN) por medio de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), y en menor grado de serología para la misma (9,14,21).

Se justifica el estudio de este patógeno en su asociación a la producción de aterosclerosis, ya que nos abre una puerta más en la dilucidación de los orígenes de esta enfermedad que afecta a tantas personas, así como en el tratamiento de la misma.

En Guatemala aún no se tienen reportes de estudios locales, los cuales considero de importancia por las razones ya expuestas debido a que existen estudios que abogan por un curso de antibioticoterapia para mejorar el proceso de aterosclerosis y evitar sus secuelas coronarias, (22), y no sabemos aún si esto es susceptible de tener resultados en Guatemala y Centroamérica.

OBJETIVOS

1. Determinar qué porcentajes de placas ateromatosas coronarias y/o carotídeas se hallan relacionadas con el hallazgo de C. Pneumonie viable.
2. Describir la presencia de placas ateromatosas coronarias y/o carotídeas en los cadáveres incluidos en el estudio.

MARCO TEORICO

1. Aterosclerosis:

1.1 Concepto: "Es una patología arterial productora de daño tisular, en la medida que es capaz de dañar los lechos vasculares de cualquier parte del organismo" (1). - Describe lesiones engrosadas y endurecidas de arterias musculares y elásticas medias y grandes. Es una lesión rica en lípidos. Las lesiones ocurren dentro de la capa íntima de la arteria y se limitan a ésta región del vaso. Suelen ser excéntricas y si crecen lo bastante pueden ocluir la arteria con sus consecuencias de isquemia y necrosis características del infarto del miocardio, infarto cerebral, gangrena de las extremidades o muerte súbita cardíaca."

1.2 Importancia del problema: La esperanza de vida del adulto mayor de 40 años en los EEUU, casi no ha cambiado desde los albores del siglo XX y una de las grandes causas han sido "la epidemia de accidentes coronarios prematuros", en 1975 ocurrieron un millón de accidentes coronarios, de los cuales murió un 70% y unos 400,000 casos fueron por muerte súbita (1). A esto hay que agregar los costos de hospitalización y cuidado de éstos pacientes que generalmente van a una Unidad de Cuidados Intensivos, el costo de la recuperación y la carga que las secuelas muchas veces dejaban debido al daño tisular. En Guatemala hoy día las causas cardiovasculares de muerte ocupan un 6to lugar en mortalidad (42), considerando que hace algunos años no era siquiera una de las primeras diez causas podemos considerarlo como un problema de salud pública.

1.3 Tipos de Lesión coronaria y su anatomopatología: Las dos lesiones o formas principales de la aterosclerosis son la lesión temprana o estría adiposa y la lesión avanzada o placa fibrosa que pueden constituirse en una lesión avanzada.

1.3.1 Estría Adiposa (lesiones I a III): Es la lesión más común ocurre en todas las edades y en la sociedad occidental se halla incluso en algunos lactantes y es común en niños menores de cinco años (3,4). Se limitan a la íntima. Al inicio contiene dos tipos de células: células espumosas que son macrófagos llenos de grasa y linfos T CD8 principalmente. La estría adiposa crece con la unión de monocitos atraídos a la lesión, después migra músculo liso

hacia la íntima y comienzan a acumular lípidos y a tomar el aspecto de células espumosas. Las estrias adiposas pueden encontrarse en personas jóvenes en los mismos sitios donde se desarrollarán lesiones avanzadas, o pueden regresar y desaparecer o permanecer como estrias adiposas toda la vida. (1,2,3,4) aparecen como zonas de decoloración amarilla debido al lípido depositado en las células espumosas.

1.3.2 Adelgazamiento difuso de la íntima (lesión tipo IV):

Consiste en números mayores de células espumosas, rodeadas de acumulaciones de tejido conectivo. No está claro si estos sitios representan adelgazamiento o fusiones de las células espumosas y son sitios formados por el aumento del stress en la arteria pero no progresan a lesiones avanzadas de aterosclerosis, (3).

1.3.3 Placa Fibrosa: Esta lesión también se localiza en la íntima y conduce de manera característica al engrosamiento excéntrico de la arteria que con frecuencia ocluye la luz, toma un color marcadamente blanquecino. Está recubierta típicamente en su cara luminal por una capa engrosada por un tejido conectivo denso, que contiene un tipo muy especial de células de músculo liso aplanadas. Debajo de esta capa, la lesión es muy celular y contiene grandes cantidades de células de músculo liso, algunas de las cuales pueden estar llenas de gotitas de lípidos, que son principalmente ésteres de colesterol(3). Contiene también muchos macrófagos, muchos de los cuales toman la forma de células espumosas junto con cantidades variables de linfocitos T. Estas áreas suelen recubrir una capa más profunda de células espumosas necróticas y desechos. Esta área necrótica se calcifica en ocasiones y con frecuencia puede contener cristales de colesterol.

1.3.4 Lesiones Complicadas: La lesión complicada es una placa fibrosa que ha sufrido extensa degeneración y con frecuencia calcificación. Puede contener ulceraciones y grietas y fisuras que sirven como sitios para la adherencia de plaquetas, agregación y trombosis y su organización subsecuente. Cuando ocurre, la trombosis puede originar la oclusión súbita de la arteria.

1.4 Aterogénesis Las teorías de la aterogénesis fueron formuladas en forma temprana por Virchow, von Rokitansky y Duguid(3). Hoy día se cree que la aterosclerosis es el resultado de una respuesta a un daño producido. Varias formas diferentes de daño al endotelio son hechos y crean una disfunción en las células endoteliales, uno de los principales factores es el colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidado el cual aumenta la adherencia de macrófagos, monocitos y linfocitos T. Estas células migran hacia el subendotelio, los macrófagos se transforman en células espumosas y las células T y el músculo liso acumula lípidos y así forman a la estria fibrosa que puede progresar a cualquier otra lesión y/o regresar o quedar así durante la vida (2,3). Las lesiones al ir incrementando su celularidad y sus lípidos, pueden empujar al endotelio, esto forma irregularidades en donde el flujo sanguíneo es turbulento, y pueden ser lugares de daño endotelial, así como para la formación de trombos murales. Por último la formación y liberación de diversos factores de crecimiento y citokinas activan macrófagos, músculo liso, células T y endotelio, que hacen que las lesiones lleguen a ser una placa fibrosa o una lesión complicada. Los estados son potencialmente reversibles si los factores de daño son removidos o son producidos factores que promuevan la regresión de la lesión.

1.5 Factores que producen aterosclerosis:

1.5.1 Hiperlipidemias: La hipercolesterolemia es el factor de riesgo asociado a aterosclerosis de mayor importancia, ya que, la acumulación de lípidos y sobre todo de colesterol son factores claves para el desarrollo de aterosclerosis. La disminución de los niveles de colesterol LDL han sido asociados fuertemente a la reducción del riesgo de un infarto. Se cree que el aumento de lípidos y colesterol, disminuye en las células su maleabilidad, debido a una modificación en las membranas celulares, y en sistema endotelial las células de las bifurcaciones son la primeras en sufrir daño debido al cambiante flujo sanguíneo en su superficie, desarrollando así una respuesta de citokinas, y factores de crecimiento, promoviendo así la migración de macrófagos, células T; y aumento de las células musculares lisas y su matriz extracelular, dando lugar así a la formación de la lesión (4,5).

1.5.2 Citokinas y factores de crecimiento: Cualquiera de las células envueltas en la lesión pueden elaborar potencialmente citokinas y factores de crecimiento, las células endoteliales pueden jugar un papel crítico al producir prostaglandina F por sus efectos quimiotácticos y citogénéticos (3,4)

1.5.3 Infección: Se han hallado rastros de DNA de HerpesVirus como citomegalovirus, pero aún no se han estudiado a fondo y permanece obscuro su papel.

2. Chlamydias: Se dividen en tres especies, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* y *chlamydia psittaci*, con base en su composición antigénica, inclusiones celulares, susceptibilidad a las sulfonamidas, y producción de enfermedad (5), todas las *chlamydias* comparten características morfológicas similares, un antígeno de grupo común, y se multiplican en el citoplasma de la célula hospedera por medio de un ciclo de desarrollo distintivo. Son gramnegativas, carecen de sistemas productores de energía, lo cual restringe su existencia intracelular (5).

2.1 Ciclo de desarrollo: Todas las *chlamydias* tienen un ciclo reproductivo común. La partícula infecciosa estable ambientalmente es una célula pequeña (cuerpo elemental), de cerca de 0.3 μm con un nucleoide electrónico denso. Se requiere un glucosaminoglicano similar al sulfato de heparina sobre la superficie de *C. trachomatis*, para la fijación a células hospederas. El cuerpo elemental es captado por fagocitosis por la hospedera, y en el interior se reorganiza en un cuerpo grande de 0.5 a 1 μm , y está desprovisto del nucleoide electrónico denso. En el interior se divide por fisión binaria. Finalmente la vacuola total se llena con cuerpos elementales derivados por fisión binaria de los cuerpos reticulados para formar una inclusión en el citoplasma de la célula huésped. Los cuerpos elementales de nueva formación pueden liberarse de la célula hospedera para infectar células nuevas. El ciclo de desarrollo dura de 24 a 48 horas.

2.2 Estructura y composición química: La pared celular externa se parece a la pared celular de las bacterias gramnegativas. Tiene un contenido relativamente alto en lípidos. Es rígida pero no contiene el peptidoglucano bacteriano típico. Las *chlamydias* poseen proteínas de fijación a penicilinas, y la formación de su pared

bacteriana es inhibida por ésta. La lisozima no tiene efecto sobre las paredes celulares de éstas. No hay ácido acetyl murámico en estas paredes celulares. Poseen tanto DNA como RNA, su genoma es similar al de los cromosomas bacterianos (5).

2.3 Propiedades de tinción: Las *chlamydias* tienen propiedades de tinción características (similares a las de las rickettsias), las cuales difieren en las distintas etapas del desarrollo. Los cuerpos elementales se tiñen de morado con la tinción de Giemsa. La reacción de Gram de las *chlamydias* es negativa o variable, y no es de utilidad. Las partículas e inclusiones de las *chlamydias* se tiñen brillantemente por inmunofluorescencia con anticuerpos específicos a grupo, específicos a especie o específicos a serovar (5).

2.4 Reacción a los agentes físicos y químicos: Las *chlamydias* se inactivan rápidamente por el calor, y mantienen la infectividad durante años a temperaturas de -70 a -50°C . Algunas *chlamydias* desecadas al aire pueden ser infecciosas durante años. Se inactivan rápidamente por el éter, fenol o formol. Su replicación puede ser inhibida por muchos antibacterianos. Los inhibidores de la síntesis de la pared celular como las penicilinas, cefalosporinas, dan como resultado partículas deformes pero no son muy eficaces en la enfermedad clínica, sin embargo los inhibidores de síntesis proteica si lo son (macrólidos y tetraciclinas). Algunas sintetizan folatos y son sensibles a su inhibición por sulfonamidas (5).

2.5 Relación hospedero parásito: Poseen un equilibrio muy frecuente entre hospedero y parásito, produciendo como resultado una persistencia prolongada de la infección. En los huéspedes naturales la infección subclínica es la regla y la propagación de una a otra conduce frecuentemente a la enfermedad. El huésped produce anticuerpos contra diferentes antígenos pero son de poca protección. El tratamiento con antimicrobianos eficaces durante periodos prolongados puede suprimir al agente infeccioso y si es temprano puede suprimir la producción de anticuerpos. El tratamiento tardío en dosis moderadas puede suprimir la enfermedad pero permite la persistencia del agente en los tejidos. La inmunización es particularmente ineficaz y una reinfección puede dar como resultado una infección más leve o una respuesta de sensibilidad que agrava la inflamación y cicatrización.

2.6 Chlamydia pneumoniae: La primera cepa se obtuvo en los años 60 y al lograr cultivarla se pensó que era de la especie de *C. psittaci* pero en 1983 se estableció como especie y los seres humanos son los únicos hospederos conocidos (5).

2.6.1 Propiedades del agente: *C. pneumoniae* produce inclusiones densas redondas negativas a glucógeno y resistentes a sulfonamidas. Los cuerpos elementales tienen aspecto piriforme.

2.6.2 Datos clínicos: La mayor parte de las infecciones son asintomáticas leves, no hay signos que las diferencien de otras causadas por otros agentes. Se producen enfermedades de vías respiratorias altas y bajas; se considera que del 5 al 20% son de las neumonías de personas jóvenes son causadas por *C. pneumoniae*.

2.6.3 Diagnóstico de laboratorio:

2.6.3.1 Frotis: El uso de técnicas con anticuerpos fluorescentes son relativamente insensibles, a partir de muestras directas..

2.6.3.2 Cultivo: Crece en células HeLa 229 HEp-2, VERO, HL; también prolifera en sacos vitelinos y la sensibilidad aumenta con el pretratamiento de dietil-amino-etil dextrán. El crecimiento es mejor a 35°C que a 37°C después de tres días de incubación se fija y se detectan inclusiones con anticuerpos fluorescentes con anticuerpos específicos a género o especie.

2.6.3.3 Serología: El uso de la prueba de microinmunofluorescencia es la prueba más sensible para detectar la infección tanto de anticuerpos IgG como IgM. Puede usarse la prueba de fijación de complemento pero no la diferencia de los demás géneros de *chlamydias* (5)..

2.6.4 Inmunidad: Se conoce poco de la inmunidad y pueden producirse infecciones prolongadas además de ser común la presencia de portadores asintomáticos.

2.6.5 Epidemiología: Del 30 al 50% de las personas tienen anticuerpos contra *C. pneumoniae* a nivel mundial. No hay reservorio animal conocido y la transmisión se realiza predominantemente de persona a persona por medio del aire (5).

3. Chlamydia pneumoniae y aterosclerosis: Se ha demostrado en diferentes estudios la presencia de agentes infecciosos en las placas ateromatosas, éstos sugieren una gran asociación del microorganismo *C.pneumoniae* a la enfermedad vascular(3,6), ya que incluso en estrías grasas se ha logrado aislar(7).

3.1 Fisiopatogenia: Probablemente crea una infección subclínica y favorece el daño a la arteria (3,8,9), de la forma ya explicada anteriormente. Además se ha demostrado que induce aberraciones en la producción del factor de necrosis tumoral en las arterias afectadas (10). Existen artículos de revisión que aducen que *C. pneumoniae*, puede interactuar con otros factores de riesgo para realizar el daño a la arteria y desarrollar como un factor de riesgo más la enfermedad d(14). Además la hipótesis de que *C. pneumoniae*, es un patógeno que al menos contribuye con la aterosclerosis también es fundamentada en que se ha encontrado al microorganismo en placas ateromatosas no así en tejido sano sin enfermedad incluso en las mismas personas(11,12). Existen estudios experimentales también que apoyan ésta hipótesis y que han logrado por medio de modelos animales producir inflamación en aortas de conejos al sembrar *chlamydias* en ella y teniendo controles negativos (13).

3.2 Diagnóstico: Se han realizado múltiples estudios los cuales han buscado y hallado al microorganismo viable(14,15,16), por inmunocitoquímica en la lesión (9,17,18,19,20,21,22), anticuerpos séricos a *chlamydias* (9,14,21,23,24,25,26) y se ha realizado la búsqueda de su ADN por PCR (7,21,27) con éxito, no obstante han habido estudios donde no se ha logrado aislar (28,29,30).

3.3 Estadísticas que arrojan los diferentes estudios: El porcentaje de aislamiento de *C. pneumoniae* varían en los diferentes estudios, ya que vá desde un 13% (31) en México, hasta un 71% en Sudáfrica (18), las arterias más afectadas en su orden son a. Coronarias 26 a 36%; b. Carótida 18% y d. Aorta 15% (19,27,32). En general fué el estudio con PCR más sensible (66%) que el cultivo y éste más sensible aún que inmunohistoquímica y serología en muchos estudios (33). También se puede observar que la media de aislamiento en todos los estudios es alta 40.6% oscilando entre 13% a 71% de aislamiento por los diferentes métodos (6, 9,14, 15,19, 23, 28, 34,35, 36, 37, 38).

3.4 En resumen se logra establecer que *C. pneumoniae* es probablemente un factor si no etiológico al menos contribuyente de

la producción de lesiones ateromatosas en el organismo todo esto basado en 1. Correlación de enfermedad coronaria y otras enfermedades ateroscleróticas con la detección de anticuerpos contra *C. pneumoniae*. 2. *C. pneumoniae* puede ser detectada por diferentes técnicas (PCR, inmunohistoquímica, microscopía electrónica y cultivo), en un gran porcentaje. 3. Tres estudios internacionales con uso de macrolidos en la enfermedad coronaria han sido exitosos(41). 4. Las células blanco de la aterosclerosis pueden ser infectadas por *C pneumoniae in vitro*. 5. Experimentos positivos con animales (41).

MARCO METODOLOGICO

1. Recursos:

1.1 Humanos:

- 1.1.1 Personal técnico de Morgue Organismo Judicial.
- 1.1.2 Personal técnico Laboratorio Multidisciplinario Facultad de Medicina USAC.

1.2 Materiales:

- 1.2.1 Bisturís.
- 1.2.2 Antiséptico
- 1.2.3 Medios de Cultivo para *C. pneumoniae*.
- 1.2.4 Guantes estériles.
- 1.2.5 Laminillas portaobjetos.
- 1.2.6 Laminillas cubreobjetos.
- 1.2.7 Material de oficina.
- 1.2.8 Computador.

1.3 Físicos

- 1.3.1 Morgue del Organismo Judicial.
- 1.3.2 Laboratorio Multidisciplinario, Facultad de Ciencias Médicas USAC.

2 Metodología:

- 2.1 **Tipo de estudio:** Se utilizó el diseño de estudio transversal descriptivo.
- 2.2 **Selección del sujeto de estudio:** Se consideraron sujeto de estudio a todo paciente quien tenga más de 40 años y que posea placas ateromatosas en las arterias carótida o coronarias, visibles, que estuviera declarado médicamente muerto, que ingrese a la morgue, a la Morgue del Organismo Judicial y que no posea ninguno de los criterios de exclusión.
- 2.3 **Universo:** Fueron todas las personas fallecidas mayores de 40 años que ingresen a la Morgue del Organismo Judicial, que poseían diagnóstico de aterosclerosis, coronaria o carotidia, o que se compruebara durante la autopsia como hallazgo incidental y que sean estudiados por autopsia en el período del 8 de marzo al 7 de abril.
- 2.4 **Tamaño de la muestra:** Se incluirá en el estudio al total de los cadáveres de ambos sexos que cumplen con los criterios de inclusión, que ingresen durante el período del 8 de marzo al 7 de abril.

Según datos del archivo de la Morgue del Organismo Judicial se realizan cada mes de 165 necropsias a 220 al mes, con una media de 175 necropsias al mes en 1997, aunque no se lleven estadísticas de la presencia de aterosclerosis coronaria o carotídea, según la literatura de los EEUU se estima en un 20 a 30 % (1), por lo que podemos esperar una muestra total, de 43 individuos, o sujetos de estudio.

2.5 Criterios de Inclusión y Exclusión:

2.5.1 Inclusión:

2.5.1.1 Edad mayor de 40 años.

2.5.1.2 Hombres y mujeres.

2.5.1.3 Estar médicamente muerto.

2.5.1.4 Que haya ingresado a la morgue del Organismo Judicial.

2.5.1.5 Que se le haya a realizado necropsia.

2.5.1.6 Que poseyera diagnóstico de aterosclerosis carotídea o coronaria, o cualquiera de sus complicaciones y/o que sea comprobada durante la necropsia.

2.5.2 **Exclusión:** Que no se le demuestran placas ateromatosas en la arteria carótida o arterias coronarias durante la necropsia.

2.6 **Aspectos Éticos:** Se realizó el procedimiento quirúrgico de extracción de una placa ateromatosa a cadáveres, por lo que no se puede dar alguna situación que vaya en detrimento de la salud del mismo. En la morgue del Organismo Judicial, todos los cadáveres que ingresan son sometidos a necropsia, por lo que no se atenta contra la integridad del cadáver al hacer un análisis más, por lo que en ningún momento se violan los derechos de los familiares sobre el cadáver que será sujeto de estudio, se omiten los nombres de todos los sujetos de estudio al publicar los resultados.

2.7 Procedimientos:

2.7.1 **Ficha de estudio:** A todo sujeto de estudio con criterios de inclusión se le realizó una ficha que dirá sus datos generales, diagnóstico o diagnósticos de muerte y lugares enfermos según la necropsia y lugar de donde se tomó la muestra, fecha y hora.

2.7.2 **Determinación de Aterosclerosis:** Se definieron como placa ateromatosa a toda lesión intraarterial que presente los rasgos macroscópicos siguientes.

2.7.2.1 **Estria adiposa:** Lesión blanquecina intraarterial sin otras características agregadas.

2.7.2.2 **Placa Fibrosa:** Lesión amarillenta intraarterial engrosada, que puede ocluir parcialmente el lumen intraarterial.

2.7.2.3 **Lesión Complicada:** Presenta las características anteriores, pero es gruesa, dura, y presenta áreas de color oscuro, característicos de necrosis.

2.7.3 **Toma de la muestra:** Mediante técnica estéril se extraerán las muestras de las arterias antes de retirar el bloque y se colocarán en medios de transporte que contienen rojo fenol y anfotericina B, además está envasado en un tubo para centrifugación para los procedimientos posteriores.

2.7.4 **Almacenamiento y transporte de la muestra:** Se transportarán en el medio de transporte ya descrito y el día de la toma de muestra se sembrará.

2.7.5 Procesamiento de las muestras:

2.7.5.1 **Siembra:** Se tomó a la línea celular HEP2, y se colocaron en tubos especiales proporcionados por el INCAP, al cual se le agregó el espécimen y se centrifugó por 5 minutos a 10,000 cilos por minuto, para aumentar la penetración de los cuerpos elementales, se decantará el contenido líquido y se dejará a la línea celular en el fondo del tubo. Se esperaron 72 horas y se interpretaron.

2.7.5.2 **Interpretación:** Al estar sembradas durante una 72 horas, se comenzará a buscar inclusiones intracitoplasmáticas en las células del medio de cultivo, mediante microscopía de luz y la coloración de GIEMSA características a *C. pneumoniae*, como inclusiones citoplásmicas más pequeñas que cocos como criterio de positividad y cambios citopáticos macroscópicos característicos en el cultivo.

2.8 Definición de la variable a estudio:

Cuadro 1.2.8

Nombre de la variable	Definición Conceptual	Definición operacional	Escala de Medición	Unidad de Medida.
Cultivo de Chlamydia Pneumoniae	Microorganismo patógeno buscado	Hallazgo del microorganismo o en cultivo de células HEP-2	Nominal	Positivo/Negativo.

Presentación de Resultados

Tabla I
Distribución por sexo

Sexo	Frecuencia	Porcentajes
Masculino	19	79.17%
Femenino	5	20.83%
Total	24	100%

Fuente: Boletas de recolección de datos

Tabla II
Distribución por Edades

Edades	Frecuencia	Porcentajes
40 - 50	12	50.00%
51 - 60	4	16.67%
61 - 70	4	16.66%
71 - 80	4	16.66%
Total	24	100%

Fuente: Boletas de datos

Tabla III
Causas de Muerte

Causa de Muerte	Frecuencia	Porcentajes
Trauma	8	33.33%
Violencia	6	25.00%
Neumonía	4	16.67%
Cirrosis	3	12.50%
IAM*	2	8.33%
ACV*	1	4.16%
Total	24	100%

Fuente: Boletas de datos.

*IAM: Infarto agudo del miocardio

*ACV: Accidente cerebro-vascular

Tabla IV
Población Estudiada

Total de Sujetos de Estudio	Frecuencia	Porcentajes
Individuos > de 40 años	35	59.3%
Ateroscleróticos	24	40.7%
Pob. Total	59	100%

Fuente: Boletas de datos.

Tabla V
Grados de aterosclerosis hallados

Grado de la Lesión	Frecuencia	Porcentajes
Estría Fibrosa	15	62.50%
Placa Ateromatosa	5	20.83%
Lesión Complicada	4	16.67%
Total	24	100%

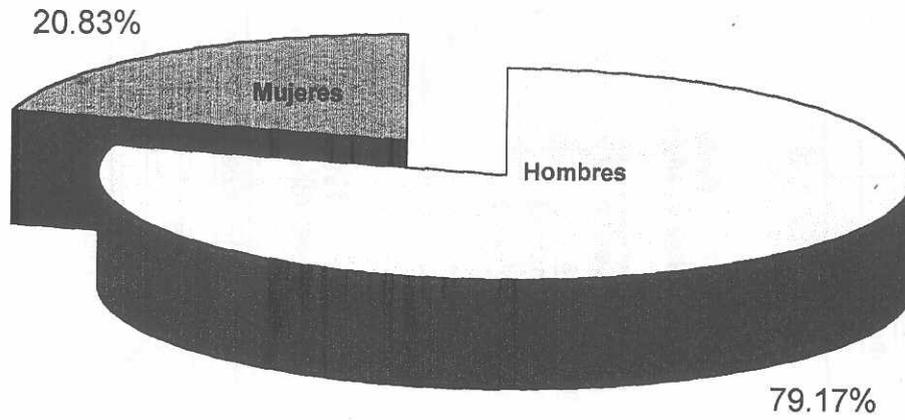
Fuente: Boletas de datos

Tabla VI
Resultados en Cultivos

Resultado	Frecuencia	Porcentajes
Positivo	2	8.33%
Negativo	22	91.67%
Total	24	100%

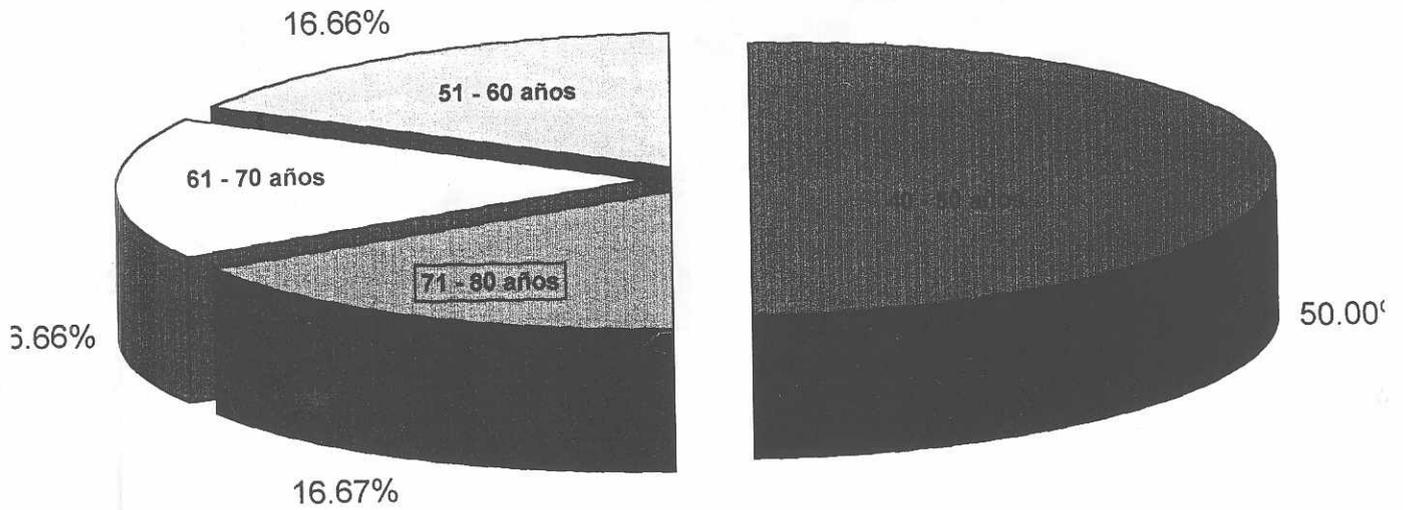
Fuente: Boletas de datos

Gráfica I: Distribución por sexo



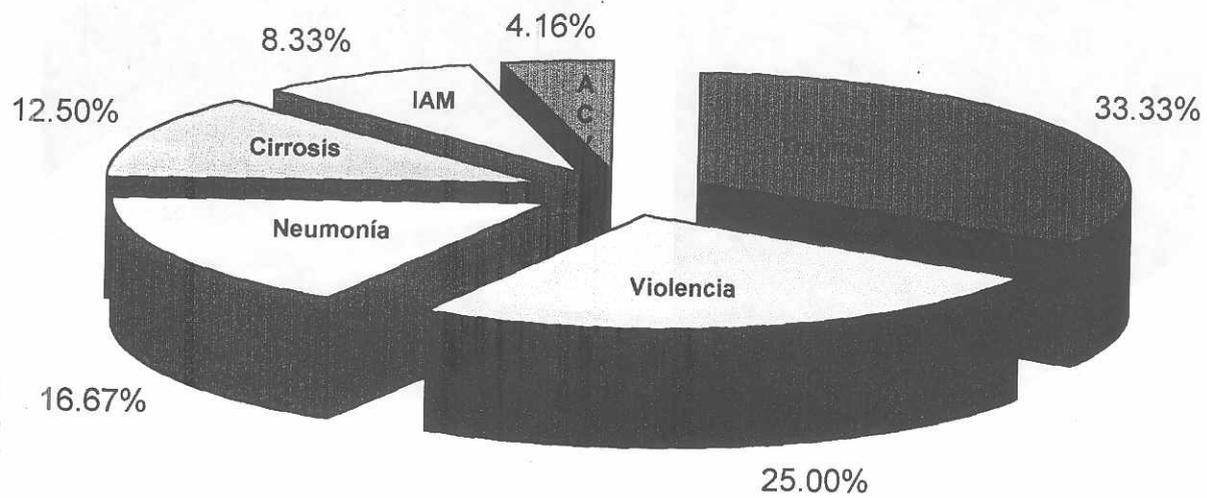
Fuente: Boletas de datos

Gráfica II: Distribución por edades



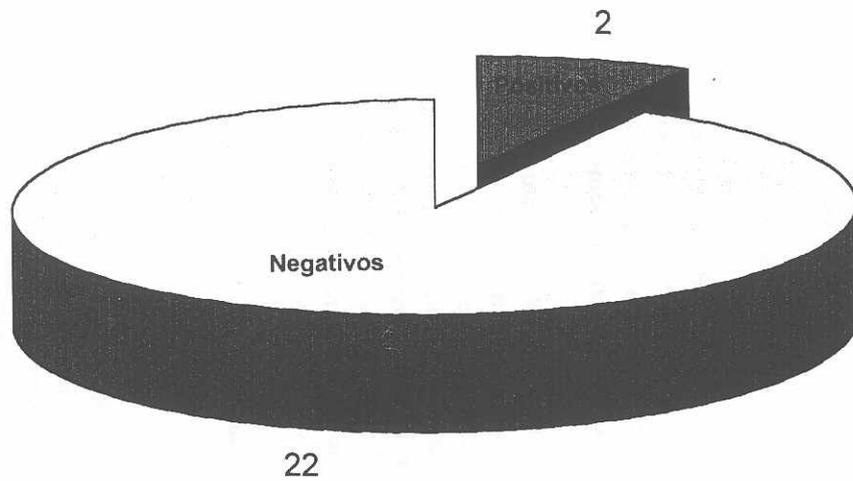
Fuente: Boletas de datos

Gráfica III: Causas de Muerte



Fuente: Boletas de datos

Gráfica IV: Distribución de Resultados del Cultivo



Fuente: Boletas de datos.

DISCUSION DE RESULTADOS

Podemos ver cómo en la muestra tomada el sexo masculino es el más afectado con el diagnóstico de aterosclerosis, esto puede ser consecuencia en que el número de mujeres era menor que el de hombres ingresados a la morgue durante el mes de marzo y abril en el período de estudio, además que puede reflejar diferencias en la dieta masculina frente a la femenina, o las diferencias hormonales que hacen que la mujer padezca de éste mal (aterosclerosis), más tarde (1).

Los individuos más afectados aquí son los comprendidos entre 40 y 50 años, (tabla II), pero esto refleja que es mayor el número de individuos que ingresan entre éstas edades que en edades más avanzadas.

Las causas de muerte de los individuos muestreados, son en gran medida producto de trauma y violencia debido a que en la morgue del Organismo Judicial, interesan precisamente éstos casos para investigaciones criminalísticas.

Para lograr la muestra se estuvo presente en 105 necropsias, de diferentes individuos con distintas edades y causas de muerte, de los cuales 35 eran mayores de 40 años, los que nos deja un 77% de menores de esa edad, los cuales casi siempre murieron en acciones violentas. De éstos 24 (68% de los individuos mayores de 40 años) presentaban aterosclerosis, lo cual es un alto porcentaje de hallazgos incidentales, aunque, hay que considerar, que la mayoría eran ateroscleróticos leves y no severos, probablemente sería distinto si el estudio se realizara en hospitales de referencia.

La estría adiposa es la lesión que está presente la mayoría de veces y éstas también en los individuos menores de 50 años, pero 4 de éste grupo tenían lesiones más severas, entre ellas una lesión complicada de un paciente que tuvo un hallazgo de un infarto agudo del miocardio. La aterosclerosis se presenta en un grupo alto de personas mayores de 40 años en esta muestra y esto correlaciona bien con el aumento de la incidencia y sobre todo mortalidad de la misma en los últimos años, y también con que la mayoría de sujetos a estudio, estaba en ese rango de edad.

Se encontraron 2 muestras que presentan criterios citopatológicos de infección por un agente intracelular. Debido a que nuestras muestras fueron y tratadas con un protocolo para *Chlamydia pneumoniae*, y éste es el agente infeccioso más hallado en las placas ateroscleróticas, podemos suponer fuertemente la presencia del microorganismo en las células afectadas. Se hallaron en la siembra de una estría adiposa de un indigena de 67 años con

una estría adiposa coronaria, y la otra un ladino de 78 años con una placa ateromatosa, ambos murieron por atropellamiento y politraumatismo.

Hay que resaltar, que no se disponen en Guatemala de anticuerpos monoclonales para la identificación de *C. pneumoniae*, para la realización de inmunofluorescencia, el poseer estos anticuerpos, nos daría el diagnóstico absoluto y además podría revelar otras placas con el microorganismo que no se manifestaron con la coloración de GIEMSA, lo cual es común con esta bacteria (5).

Para fines del estudio, objetivos y metodología propuesta, estos criterios, serán suficientes. Así hallamos un 8.33% de positividad en el cultivo, un porcentaje más bajo de lo que otras revisiones arrojan, pero puede ser por las razones ya expuestas y además que muchas de éstas revisiones han sido realizadas con técnicas de amplificación de ADN, lo cual da una sensibilidad y especificidad de casi 100%.

CONCLUSIONES

1. La aterosclerosis fué un hallazgo incidental frecuente entre las personas mayores de 40 años, en las autopsias realizadas.
2. Se sugiere fuertemente la presencia de *Chlamydia pneumoniae*, en por lo menos dos de los cultivos realizados, gracias a los cambios citopáticos.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios más grandes y con métodos más sensibles para saber cuál es la epidemiología de esta infección en las placas ateroscleróticas y si se correlacionan positivamente con el grado de gravedad de la lesión.
2. Apoyar al laboratorio de virus y chlamydias del Laboratorio Multidisciplinario de la Univerisdad de San Carlos de Guatemala para lograr importar nuevos insumos y tecnologías para así dar un mayor apoyo al desarrollo de la investigación científica experimental, epidemiológica y diagnóstica, tanto a nivel universitario como nacional.
3. Crear programas de prevención para el control de la aterosclerosis.
4. Estudiar a fondo los factores relacinados con la aterosclerosis en el medio nacional.

Resumen

Chlamydia pneumoniae, desde hace algunos años ha sido aislada de arterias ateroscleróticas, y se ha relacionado con la aparición de dichas lesiones y su progresión y producción de secuelas. El objetivo de este estudio, fué investigar la presencia del microorganismo en placas ateroscleróticas obtenidas a partir de especímenes de necropsia como hallazgo incidental en la morgue del Organismo Judicial, durante el período del 7 de marzo al 8 de abril. Se incluyó en la muestra a 24 especímenes que poseían la enfermedad arterial en arterias coronarias y/o carótidas. El tejido enfermo se almacenó en medios de transporte especiales y se guardó en una refrigeradora de ultrabaja temperatura a -70 grados Celsius. Se sembraron en células Hep-2 y se observó su crecimiento durante 72 horas, tras lo cual se coloreó con GIEMSA y se buscaron cambios citopáticos, como vacuolización y presencias de inclusiones pericitoplásmicas azurófilas. Se concluyó la presencia del microorganismo en por lo menos dos de las muestras, lo que corresponde a 8.33% de las mismas. Se recomienda realizar estudios más grandes, con métodos más sensibles para conocer la epidemiología del microorganismo y su incidencia en la afección así como si se relaciona positivamente con la gravedad de las lesiones.

BIBLIOGRAFIA

1. Chávez Rivera, Ignacio: **Cardiopatía Isquémica Vol I**; Segunda Edición, Salvat Mexicana de Ediciones, S.A. de C.V. 1982.
2. James B Wingarden: **Tratado de Medicina Interna Vol I**; décimonovena edición, Editorial Interamericana Mc. Graw Hill, 1994.
3. Braunwaldt Eugene: **Cardiology**; 7th edition, The Lippincott Company, USA 1997.
4. Wolfbrook Karl: **Thrombosis**; 1st Edition, The Lippincott Company, USA 1998.
5. Brooks, geo Butel, Janet y Ornston Nicholas: **Microbiología Médica de Jawetz**; 15 edición Editorial el Manual Moderno, México 1995.
6. Taylor-Robinson D. Atherosclerosis: **Chlamydia pneumoniae in vascular tissue**. 1998 Oct;140 Suppl 1:S21-4.
7. Shor A, Kuo CC, Patton DL S Afr Med J: **Detection of Chlamydia pneumoniae in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques**. 1992 Sep;82(3):158-61.
8. Gibbs RG, Carey N, Davies AH: **Chlamydia pneumoniae and vascular disease**. Br J Surg 1998 Sep;85(9):1191-7.
9. Yamashita K, Ouchi K, Shirai M, Gondo T, Nakazawa T, Ito H: **Distribution of Chlamydia pneumoniae infection in the atherosclerotic carotid artery**. Stroke 1998 Apr;29(4):773-8
10. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P: **Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase expression**. Circulation 1998 Jul 28;98(4):300-7.
11. Campbell LA, Kuo CC, Grayston JT: **Chlamydia pneumoniae and cardiovascular disease**. Emerg Infect Dis 1998 Oct-Dec;4(4):571-9.
12. Kuo C, Campbell: **Is infection with Chlamydia pneumoniae a causative agent in atherosclerosis?** LA Mol Med Today 1998 Oct;4(10):426-30.
13. Laitinen K, Laurila A, Pyhala L, Leinonen M, Saikku P: **Chlamydia pneumoniae infection induces inflammatory changes in the aortas of rabbits**. Infect Immun 1997 Nov;65(11):4832-5
14. Ouchi K, Fujii B, Kanamoto Y, Karita M, Shirai M, Nakazawa T: **Chlamydia pneumoniae in coronary and iliac arteries of Japanese patients with atherosclerotic cardiovascular diseases**. J Med Microbiol 1998 Oct;47(10):907-13
15. Maass M, Bartels C, Engel PM, Mamat U, Sievers HH: **Endovascular presence of viable Chlamydia pneumoniae is a common phenomenon in coronary artery disease**. J Am Coll Cardiol 1998 Mar 15;31(4):827-3.
16. Jackson LA, Campbell LA, Schmidt RA, Kuo CC, Cappuccio AL, Lee MJ, Grayston JT: **Specificity of detection of Chlamydia pneumoniae in cardiovascular atheroma: evaluation of the innocent bystander hypothesis**. Am J Pathol 1997 May;150(5):1785-90.
17. Maass M, Gieffers J, Krause E, Engel PM, Bartels C, Solbach W: **Poor correlation between microimmunofluorescence serology and polymerase chain reaction for detection of vascular Chlamydia pneumoniae infection in coronary artery disease patients**. Med Microbiol Immunol 1998 Oct;187(2):103-6

18. Kuo CC, Gown AM, Benditt EP, Grayston JT **Detection of Chlamydia pneumoniae in aortic lesions of atherosclerosis by immunocytochemical stain.** *Atheroscler Thromb* 1993 Oct;13(10):1501-
19. Kuo CC, Grayston JT, Campbell LA, Goo YA, Wissler RW, Benditt EP: **Chlamydia pneumoniae (TWAR) in coronary arteries of young adults (15-34 years old).** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995 Jul 18;92(15):6911-4.
20. Juvonen J, Juvonen T, Laurila A, Alakarppa H, Lounatmaa K, Surcel HM, Leinonen M, Kairaluoma MI, Saikku: **Demonstration of Chlamydia pneumoniae in the walls of abdominal aortic aneurysms.** *J Vasc Surg* 1997 Mar;25(3):499-505.
21. Grayston JT, Kuo CC, Campbell LA, Benditt EP: **Chlamydia pneumoniae, strain TWAR and atherosclerosis.** *Eur Heart J* 1993 Dec;14 Suppl K:66-71
22. Ramirez JA: **Isolation of Chlamydia pneumoniae from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis. The Chlamydia pneumoniae/Atherosclerosis Study Group.** *Ann Intern Med* 1996 Dec 15;125(12):979-82.
23. Kuolakkainen M, Kuo CC, Shor A, Wang SP, Grayston JT, Campbell LA: **Serological response to Chlamydia pneumoniae in adults with coronary arterial fatty streaks and fibrolipid plaques.** *Clin Microbiol* 1993 Aug;31(8):2212-4
24. Paz M, de Otero J, Codinach P, Ferrer-Ruscalleda F, Gaya M, Ibernón M: **Revisión del vínculo entre la infección por C pneumoniae y aterosclerosis.** *Rev Esp Cardiol* 1998 Nov;51(11):857-63.
25. Freidank HM, Herr AS, Jacobs E: **Identification of Chlamydia pneumoniae-specific protein antigens in immunoblots.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993 Dec;12(12):947-51
26. Orfila JJ **Atherosclerosis: Seroepidemiological evidence for an association between Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis.** 1998 Oct;140 Suppl 1:S11-5.
27. Maass M, Bartels C, Kruger S, Krause E, Engel PM, Dalhoff K: **Endovascular presence of Chlamydia pneumoniae DNA is a generalized phenomenon in atherosclerotic vascular disease.** *Atherosclerosis* 1998 Oct;140 Suppl 1:S25-30
28. Daus H, Ozbek C, Saage D, Scheller B, Schieffer H, Pfreundschuh M, Gause A: **Lack of evidence for a pathogenic role of chlamydia pneumoniae and cytomegalovirus infection in coronary atheroma formation.** *Cardiology* 1998 Oct;90(2):83-8
29. Paterson DL, Hall J, Rasmussen SJ, Timms P: **Failure to detect Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic plaques of Australian patients.** *Pathology* 1998 May;30(2):169-72.
30. Weiss SM, Roblin PM, Gaydos CA, Cummings P, Patton DL, Schulhoff N, Shani J, Frankel R, Penney K, Quinn TC, Hammerschlag MR, Schachter J: **Failure to detect Chlamydia pneumoniae in coronary atheromas of patients undergoing atherectomy.** *J Infect Dis* 1996 Apr;173(4):957-62.
31. Gloria Breceda F, Meaney Mendiola E, Valero Elizondo G, Vela Huerta A: **The relationship between Chlamydia pneumoniae and atherosclerotic lesions of the aorta.** *Arch Inst Cardiol Mex* 1997 Jan-Feb;67(1):17-23.
32. Kuo CC, Coulson AS, Campbell LA, Cappuccio AL, Lawrence RD, Wang SP, Grayston JT: **Detection of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic plaques in the walls of arteries of lower extremities from patients undergoing bypass operation for arterial obstruction.** *J Vasc Surg* 1997 Jul;26(1):29-31.
33. Black CM, Fields PI, Messmer TO, Berdal BP: **Detection of Chlamydia pneumoniae in clinical specimens by polymerase chain reaction using nested primers.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994 Sep;13(9):752-6.
34. Saikku P, Laitinen K, Leinonen M: **Animal models for Chlamydia pneumoniae infection.** *Atherosclerosis* 1998 Oct;140 Suppl 1:S17-9
35. Gabriel AS, Gnarp H, Gnarp J, Hallander H, Nyquist O, Martinsson: **The prevalence of chronic Chlamydia pneumoniae infection as detected by polymerase chain reaction in pharyngeal samples from patients with ischaemic heart disease.** *Eur Heart J* 1998 Sep;19(9):1321-7
36. Gurfinkel E, Bozovich G: **Chlamydia pneumoniae: inflammation and instability of the atherosclerotic plaque.** *Atherosclerosis* 1998 Oct;140 Suppl 1:S31-5
37. Jackson LA, Campbell LA, Kuo CC, Rodriguez DL, Lee A, Grayston JT: **Isolation of Chlamydia pneumoniae from a carotid endarterectomy specimen.** *J Infect Dis* 1997 Jul;176(1):292-5
38. Stille W, Dittmann R: **Arteriosclerosis as a sequela of chronic Chlamydia pneumoniae infection.** *Herz* 1998 May;23(3):185-92.
39. Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushi H, Patton DL, Grayston JT: **Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries.** *J Infect Dis* 1993 Apr;167(4):841-9.
40. Davidson M, Kuo CC, Middaugh JP, Campbell LA, Wang SP, Newman WP 3rd, Finley JC, Grayston JT: **Confirmed previous infection with Chlamydia pneumoniae (TWAR) and its presence in early coronary atherosclerosis.** *Circulation* 1998 Aug 18;98(7):628-33
41. Gupta S, Camm AJ: **Chlamydia pneumoniae, antimicrobial therapy and coronary heart disease: a critical overview.** *Coron Artery Dis* 1998;9(6):339-43.
42. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social: **Consolidado Epidemiológico 1,997.** *Boletín Epidemiológico Nacional No. 2, Marzo 1998.*

FICHA DE DATOS

1. Nombre: _____
2. Edad: _____
3. Sexo: _____
4. Fecha: _____
5. Hora: _____
6. Causa de Muerte: _____
7. Aterosclerosis: Coronaria: ___ Carotídea: ___
8. Grado de Aterosclerosis: a. Estría Adiposa ___ b. Placa Ateromatosa c. Lesión complicada.
9. Cultivo:
 - 9.1 Cambios citopáticos macroscópicos: si ___ no ___
 - 9.2 Inclusiones intracitoplásmicas: si ___ no ___