



# Determinación del Fenómeno L.E. (Lupus eritematoso) por efecto de la aplicación del Procainamida (Biocoryl®) en *Cavia porcellus* (cobayo)

Determination of L.E. (Lupus Erythematosus) phenomenon by effect of the application of Procainamide (Biocoryl®) in *Cavia porcellus* (guinea pig)

César Cabrejos M., Katherine Ipanaqué M. y Carlos Espinoza V.

Departamento Académico de Microbiología, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.  
esvac2006@hotmail.com

## RESUMEN

Procainamide es un efectivo agente antiarrítmico que cuando se usa indiscriminadamente induce a la presentación de lupus eritematoso sistémico (LES), sin embargo, no se cuenta con un modelo animal que permita investigar las causas del fenómeno. En el presente estudio se determinó el fenómeno LE en cobayos, *Cavia porcellus*, machos, inducido por la inyección de una dosis promedio de 0,35 mg de Procainamide (Biocoryl®). Los resultados demostraron que las muestras experimentales en el pre-basal presentaron polimorfocitos normales, mientras que los análisis post inoculación del fármaco mostraron que el 80% mostraron el fenómeno LE, del siguiente modo: dos de ellos en siete días, tres a los 14 días, tres a los 21 días, tres a los 28 días, ocho a los 35 días, tres a los 42 días y dos a los 63 días. Se concluye que el uso de cobayo en la producción experimental del fenómeno LE da buenos resultados.

**Palabras clave:** Fenómeno LE, *Cavia porcellus*, modelo animal, Procainamida.

## ABSTRACT

Procainamide is an effective antiarrhythmic agent when was used indiscriminately induces systemic lupus erythematosus (SLE) presenting, however, there is no animal model with which to investigate the causes of the phenomenon. In the present study, the phenomenon in male guinea pigs LE, *Cavia porcellus*, induced by the injection of an average dose of 0.35 mg Procainamide (Biocoryl®). The results demonstrated that the experimental samples showed basal normal polymorphonuclear while post inoculation drug analysis showed that 80 % showed the phenomenon LE, as follows: two in seven days, three at 14 days three at 21 days, three at 28 days, eight to 35 days, three at 42 days and two at 63 days. It was concluded that the use of guinea pigs in experimental production of LE phenomenon gives good results.

**Keywords:** LE Phenomenon, *Cavia porcellus*, animal model, Procainamide



## INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso (LE) es una enfermedad autoinmune asociada con inflamación multisistémica; el concepto nosográfico incluye a tres principales tipos: LE cutánea crónica, LE cutánea subaguda y LE sistémica, que puede ser inducida por drogas. En efecto, muchos medicamentos indicados para el tratamiento de enfermedades tales como, Procainamida utilizado para problemas cardiacos, Estreptomina e Isoniazida para casos de la tuberculosis, Methyldopa e Hidralazina como antihipertensivos y Penicilina y/o Tetraciclina para infecciones bacterianas (bronquitis, neumonía) producen efectos perjudiciales en aquellas personas que las utilizan en forma prolongada<sup>1,2,3,4</sup>.

Desarrollado hace más de 40 años, Procainamida es un efectivo agente antiarrítmico tipo I, que es usado para tratar una variedad de disrritmias atriales y ventriculares, debido a que se absorbe rápidamente en el cuerpo, con niveles máximos en el plasma entre los 15 y 60 minutos luego de la administración intravenosa, obteniendo una vida media plasmática de 1 a 2 horas y una biodisponibilidad de alrededor del 75%. Su aplicación es limitada, como se ha señalado, debido a que entre el 25 y 30% de usuarios desarrolla LE<sup>3,4,5</sup>.

Por su parte, el denominado fenómeno LE consiste en la presencia de neutrófilos maduros (a veces un monocitos o eosinófilos) que han fagocitado material nuclear alterado procedentes de otros leucocitos y muestran sus núcleos desplazados hacia la periferia<sup>1,2</sup> y es una de las maneras más apropiadas de relacionar su presencia con la enfermedad autoinmune, porque su ausencia la descarta en definitiva<sup>6,7,8</sup>.

Considerando que procainamida continua siendo usada, pues se expende en algunas farmacias y muchas veces son donados por algunos países a entidades religiosas, los cuales son obsequiados a personas de bajos recursos y que no se cuenta con un modelo animal para su estudio, porque el modelo murino, usado en distintas enfermedades autoinmunes no ha permitido reproducir el fenómeno LE como se esperaba<sup>8</sup>, es necesario contar con una alternativa que permita comprender la naturaleza de esta dolencia. En tal sentido, se propuso una investigación dirigida a lograr reproducir experimentalmente el fenómeno LE en el modelo cobayo, *Cavia porcellus*, utilizado procainamida así como determinar el tiempo en que aparece.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### El fármaco y los animales de experimentación

Procainamida (Biocoryl®) se adquirió de un lote de donaciones del medicamento a una congregación cirtiana de Chiclayo dirigida por religiosas; asimismo, se obtuvieron 30 cobayos machos (*C. porcellus*) de 750-850 gramos aproximadamente que se mantuvieron en condiciones controladas en el Bioterio del Área de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (U.N.P.R.G.) de acuerdo con la Declaración universal de los derechos de los animales (UNESCO 1989) y a la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio<sup>10</sup>, no considerándose tamaño de muestra sino sólo unidades experimentales que está fundamentado por el diseño de tipo clásico simple<sup>9,12</sup>. Este diseño se trabajó con un sólo grupo de animales de experimentación de 30 cobayos, de los cuales se les realizó mediciones antes y después<sup>9</sup>.

### Determinación del fenómeno LE

Para la determinación del fenómeno L.E. basales y post – inoculaciones con el fármaco en *C. porcellus* (cobayo) se obtuvieron por punción cardiaca 5 ml de sangre total, las cuales fueron sometidas al método de desfibrinación. Este método consistió en colocar la sangre total en un frasco de 50 ml conteniendo 30 perlas de vidrio de 3 mm de diámetro y agitando cuidadosamente describiendo ochos durante 15 minutos, hasta que la fibrina se haya separado. Se retiró la fibrina pegada a las perlas de vidrio y se transfirió a un tubo de ensayo estéril, posteriormente se centrifugó hasta que se forme la capa leucocitaria. Se incubó a 37°C en estufa durante 2 horas, para luego extraer gotas de la capa leucocitaria, hacer el frotis respectivo y aplicar la técnica de coloración de Giemsa<sup>11,14</sup>.

Para este estudio la administración del Procainamida (Biocoryl®) a los animales de experimentación fue la vía oral, y se trabajó con comprimidos de 25 mg que fueron triturados en un mortero. La adecuación

del fármaco se basó teniendo en cuenta que: si para una persona de 60 kilos le corresponde una dosis de 25 mg del Procainamida, entonces para un cobayo de 850 gramos serían 0,35 mg del fármaco. Por lo tanto, los 25 mg triturados fueron vertidos en un tubo de ensayo conteniendo 10 ml de solución salina fisiológica estéril obteniendo así 2,5 mg del fármaco. En otro tubo estéril se colocó 9 ml de la solución salina fisiológica estéril con 1 ml de la mezcla anterior, obteniéndose un total de 10 ml y diluyéndose el medicamento hasta 0,25 mg/ml. Entonces si 0,25 mg está contenido en 1 ml, para 0,35 mg resultó 1,4 ml. Bajo esta secuencia las dosis trabajadas en las 30 muestras experimentales fue un promedio de 0,35 mg/1,4 ml de acuerdo al peso corporal de cada cobayo. La técnica de Giemsa se hizo mediante el esquema propuesto en el Manual de Procedimientos de Laboratorio de la INS<sup>11</sup>.

Las características con valor diagnóstico del fenómeno L.E. (positivo) fue la aparición de diferentes coloraciones de los núcleos amorfos (púrpura, azul y hialina), así como, la presencia de 2 – 4 cuerpos de inclusión en un PMN desplazando el núcleo propio del neutrófilo<sup>17</sup>.

Los datos obtenidos fueron presentados en tablas de frecuencia con sus respectivos porcentajes y se realizaron con el propósito de facilitar su análisis referido al tiempo de aparición del fenómeno L.E. en *C. porcellus* por aplicación del Procainamida.

## RESULTADOS

Los 30 cobayos resultaron negativos al fenómeno LE basal (previo al uso del fármaco) y los polimorfonucleares fueron observados con sus características normales

Se encontró que el 80% (24 de 30) de los especímenes presentaron el fenómeno L.E. y un 20% (6 de 30) no lo presentaron y que éste apareció mayormente entre los 30 y 90 días (Fig. 1 Tabla 1)

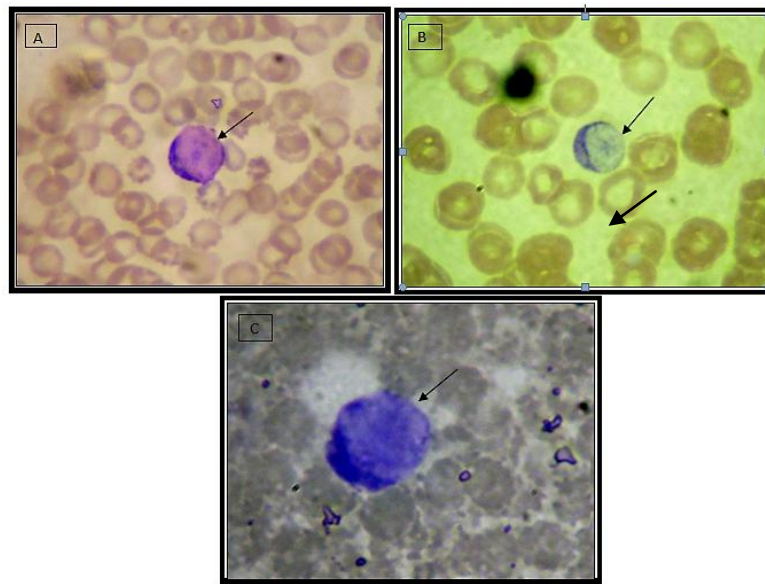


Fig. 1. Polimorfonucleares (PMN) –flechas- mostrando inclusiones intracitoplasmáticas amorfas con: A, núcleo púrpura; B, núcleo hialino; y C, núcleo azul.

## DISCUSIÓN

Como ha sido establecido, el fenómeno LE puede ser transferido, así ocurrió cuando se transfundió 90 mL de plasma de enfermos con lupus eritematoso diseminado a cuatro perros y pudo encontrarse en su sangre dicho fenómeno, en 30 minutos, 4 horas, 6 horas y 2 días<sup>8</sup>. Si bien es cierto, en la presente investigación no se hizo lo mismo, resulta importante considerar como parte del análisis comparar el tiempo en que aparece el fenómeno, observándose claras diferencias, porque en la presente investigación



se encontró tiempos mayores, de hasta 63 días. Esto podría deberse a la cantidad de inóculo utilizado, el tipo de antígeno con la cual se trabajó y la vía de inoculación.

Si bien es cierto la documentación es amplia respecto del fenómeno en estudio, conociendo como anticuerpos antinucleares para referirse a su presentación, ya que ha sido asociada a diferentes patologías

y hay una clara división nosológica<sup>6,18</sup> y su asociación con el uso de la procainamide también está claramente definida<sup>3,4,15,16</sup>, los trabajos en modelos animales no son muy amplio, por lo que resulta de importancia determinar cuál de ellos permitiría un mejor estudio para descubrir las causas del fenómeno. En este sentido, los resultados de la presente investigación demuestran que el modelo usado da buenos resultados.

**Tabla 1.** Tiempo de aparición en semanas del Fenómeno L.E. post-inoculaciones con Procainamida (Biocoryl®) en especimens de *Cavia porcellus* (cobayo).

| TIEMPO DE LECTURA (DÍAS) | N° DE COBAYOS POST-INOCULACIÓN FENÓMENO L.E.             |          |       |  |          |       | TOTAL N° COBAYOS |     |
|--------------------------|--|----------|-------|--|----------|-------|------------------|-----|
|                          | N° Muestras Experimentales (Cp: <i>Cavia porcellus</i> ) | POSITIVO |       | N° Muestras Experimentales (Cp: <i>Cavia porcellus</i> ) | NEGATIVO |       | n°               | %   |
|                          |  | n°       | %     |  | n°       | %     |                  |     |
| 0 - 7                    | Cp1, Cp3   | 2        | 6.6   | Cp2, Cp4 - Cp30  | 28       | 93.34 | 30               | 100 |
| 8 - 14                   | Cp2, Cp4, Cp6  | 3        | 10    | Cp5, Cp7 - Cp30  | 25       | 83.34 |                  |     |
| 15 - 21                  | Cp7, Cp10, Cp12  | 3        | 10    | Cp5, Cp8, Cp9, Cp11, Cp13 - Cp30                         | 22       | 73.34 |                  |     |
| 22 - 28                  | Cp5, Cp8, Cp9  | 3        | 10    | Cp11, Cp13 - Cp30  | 19       | 63.34 |                  |     |
| 29 - 35                  | Cp11, Cp13 - Cp19  | 8        | 26.66 | Cp20 - Cp30  | 11       | 36.68 |                  |     |
| 36 - 42                  | Cp21, Cp23, Cp24   | 3        | 10    | Cp20, Cp22, Cp25 - Cp30                                  | 8        | 26.68 |                  |     |
| 43 - 49                  | -  | 0        | -     | Cp20, Cp22, Cp25 - Cp30                                  | 8        | -     |                  |     |
| 50 - 56                  | -  | 0        | -     | Cp20, Cp22, Cp25 - Cp30                                  | 8        | -     |                  |     |
| 57 - 63                  | Cp25, Cp30   | 2        | 6.66  | Cp20, Cp22, Cp26 - Cp29                                  | 6        | 20    |                  |     |
| 64 - 70                  | -  | 0        | -     | Cp20, Cp22, Cp26 - Cp29                                  | 6        | -     |                  |     |
| 71 - 77                  | -  | 0        | -     | Cp20, Cp22, Cp26 - Cp29                                  | 6        | -     |                  |     |
| 78 - 84                  | -  | 0        | -     | Cp20, Cp22, Cp26 - Cp29                                  | 6        | -     |                  |     |
| 85 - 91                  | -  | 0        | -     | Cp20, Cp22, Cp26 - Cp29                                  | 6        | -     |                  |     |
| <b>TOTAL</b>             |  | 24       | 80    |  | 6        | 20    | 30               | 100 |

Al mismo tiempo, los resultados de la presente investigación demuestran que el fenómeno LE puede reproducirse en el laboratorio, porque resulta de importancia para definir: la vía de inoculación, el tipo de antígeno, el tiempo de aparición del fenómeno, las consecuencias en los diferentes órganos internos, etc, se puede en trabajos futuros considerar algunos otros aspectos igualmente importantes. Por ejemplo, si en la población humana dicho fenómeno está claramente influenciado por la etnicidad<sup>19</sup>, podría probarse el fenómeno en diferentes razas de cobayo, claro, siempre considerando que los modelos animales solo dan una pauta general de lo que ocurre y no necesariamente indican con exactitud que el fenómeno ocurrirá igual en lapoblación humana<sup>20</sup>.

## CONCLUSIONES

- El fenómeno L.E. inducido por 0,35 mg de Procainamida en cobayo, *Cavia porcellus*, apareció entre siete y 63 días, con una mayor frecuencia (26%) a los 35 días
- El 80% de los cobayos presentaron fenómeno L.E. positivo lo que sugiere que este es un apropiado modelo animal para el caso.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Connor B. The L.E. Cell Phenomenon. En: A color atlas and instruction manual of peripheral blood cell morphology. (Connor, ed), USA: Williams & Wilkins Edit, 1984; pp.283-291
2. Ogryzlo M. The L.E. (Lupus erythematosus) Cell Reaction. M A J 1956; 75: 980-991.
3. Li F, Patterson AD, Krausz KW, Dick B, et al. Metabolimics reveals the metabolic map of procainamide in humans and mice. *Biochem Pharmacol* 2012; 83: 1435-1444
4. Schoomn WM, Thomas SL, Somers EC, Smeeth L, et al. Do selected drugs increase the risk of lupus? A matched case control Study. *Br J Clin Pharmacol* 2010; 70(4): 588-596
5. Liu Ch-Ch, Kao AH, Manzi S, Ahearn JM. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future. *Ther Adv Musculoskeletal Dis* 2013; 5(4): 210-233
6. Maichof W, Hilas O. Lupus: An overview of the disease and management options. *P&T* 2012; 37(4): 140-148
7. Bencze G. Production of Lupus Erythematosus (L.E.) cells in the dog by the transfusión of systemic lupus erythematosus plasma. *Ann Rheum Dis* 1959; 19: 48.
8. Benze G. Experimental Transfusion in rabbits, guinea-pigs, rats, and mice of systemic lupus erythematosus plasma. *Ann Rheum Dis* 1962; 21: 76
9. Campbell D, Stanley J. Tres diseños experimentales propiamente dichos. En: Diseños experimentales y cuasi-experimentales en la investigación social. (Campbell, ed). Argentina: Edit. Amorrortu. 1973; pp.1-3.
10. Centro Nacional de Productos Biológicos. Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Instituto Nacional de Salud, Lima. Perú. 2008.
11. Centro Nacional de Salud Pública. Manual de Procedimientos de Laboratorio. Instituto Nacional de Salud, Lima. Perú. 2003.
12. Dawson B, Trapp R. Bioestadística médica. 2da ed. México: Edit. El Manual Moderno. 1999.
13. Kaplan J. Lupus like illness precipitated by procainamide hydrochloride. *J Amer Med Ass* 1965; 192: 444.
14. Lynch M. Métodos de Laboratorio. 2da. Ed. México: Edit. Interamericana S.A. 1972).
15. Pigeon G, Genest J. Prolonged Hydralazine Hydrochloride administration in 132 hypertensive patients study of toxicity. *M A J* 1960; 83: 743-746
16. Swarbrick E, Gray I. Systemic lupus erythematosus during treatment with Procainamide. *British Heart J* 1972; 34: 284-288.
17. Levo Y, Pick AI, Avidor I, Ben-Bassat M. Clinicopathological study of a patient with procainamide-induced systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1976; 35: 181-185
18. Nikpour M, Gladman DD, Urowitz MB. Premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus: what risk factors do we understand? *Lupus* 2013; 22: 1243-1250
19. Gonzales LA, Toloza SMA, McGwin Jr G, Alarcón GS. Ethnicity in systemic lupus erythematosus (SLE): its influence on susceptibility and outcomes. *Lupus* 2013; 22: 1214-1224
20. Greek R, Rice MJ. Animal models and conserved processes. *Theor Biol Med Model* 2012; 9: 40