

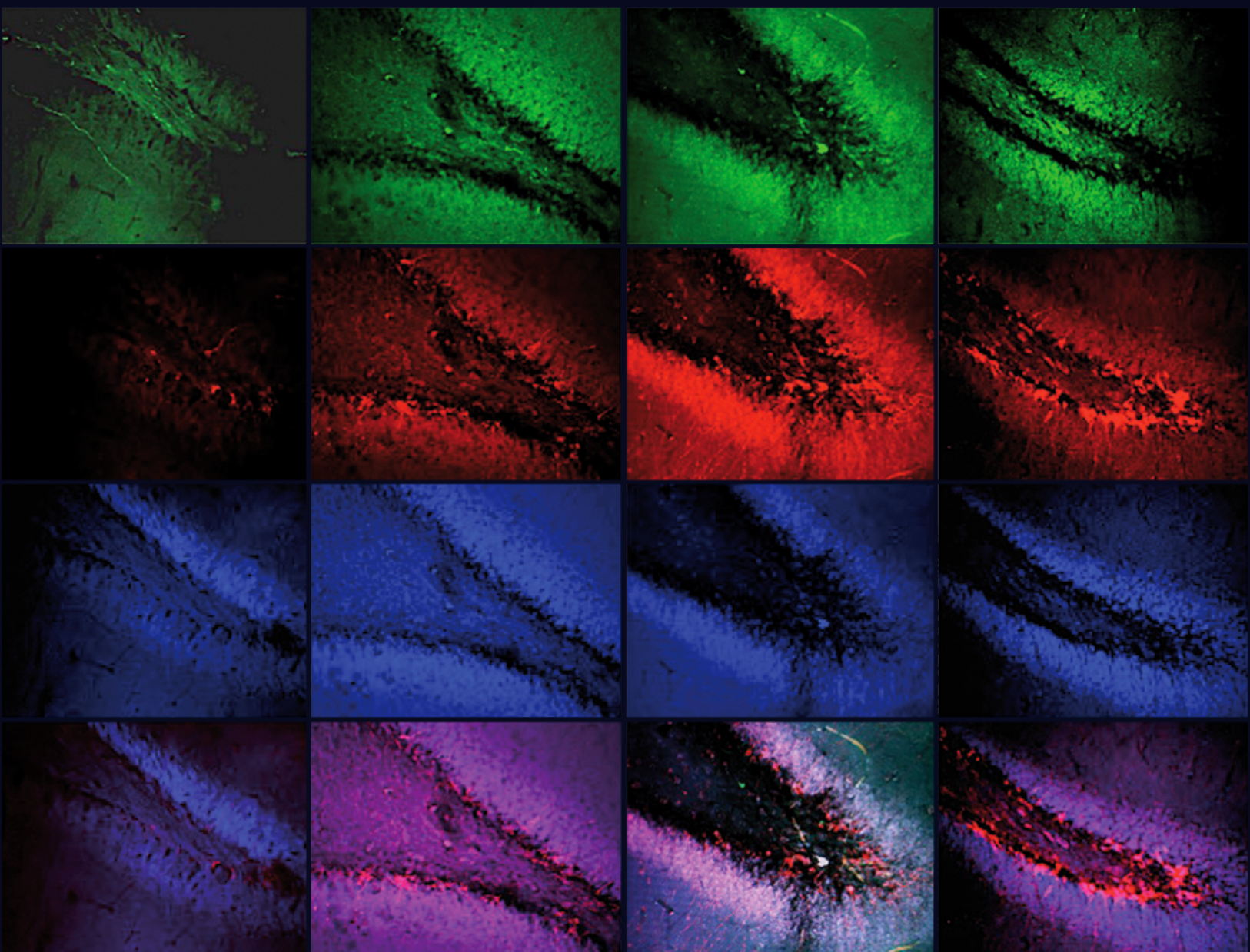
I-ISSN 2590-7379 (En línea)

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 38, No. 3 - Septiembre de 2018

Bogotá, D.C., Colombia, S.A.



**Portada:** Neuronas inmaduras inducidas por CDK5 RNAi en ratas isquémicas (verde: proteína de fluorescencia verde, GFP). Inmunorreacción en las zonas granular, subgranular y polimorfa a los 15 días de la isquemia en ratas tratadas y no tratadas (rojo: proteína doblecortina, DCX; azul: bromodeoxiuridina, BrdU).

Captura de imágenes en un microscopio confocal motorizado de disco giratorio (unidad de escaneo de disco) Olympus IX 81™ (Olympus Latinoamérica, Inc., Miami, FL, EE. UU.) con 10X.

Juan Ignacio Muñoz-Manco, Johanna Gutiérrez-Vargas y Gloria Patricia Cardona-Gómez, Área de Neurobiología Celular y Molecular, Grupo de Neurociencia de Antioquia, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

# Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 38, No. 3 - Bogotá, D.C., Colombia - Septiembre de 2018

---

## Comité Editorial

### EDITORES

LUIS ALBERTO GÓMEZ  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

CARLOS ARTURO HERNÁNDEZ  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

RUBÉN SANTIAGO NICHOLLS  
Organización Panamericana de la Salud  
Washington, D.C., Estados Unidos

### EDITORES ASOCIADOS

ENRIQUE ARDILA  
Bogotá, D.C., Colombia

JOSÉ DE JESÚS MORENO-MONTOYA  
Universidad El Bosque  
Bogotá, D.C., Colombia

JULIÁN ALFREDO FERNÁNDEZ-NIÑO  
Universidad del Norte  
Barranquilla, Colombia

MIGUEL A. GUZMÁN  
Investigador Emérito  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

LEONARD MUNSTERMANN  
Yale University School of Medicine  
New Haven, CT, Estados Unidos

OMAR SEGURA  
Federación Médica Colombiana  
Bogotá, D.C., Colombia

ORLANDO TORRES-FERNÁNDEZ  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

RAÚL PARDO  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

---

## Comité Científico

ARNOLDO BARBOSA  
Universidad del Tolima  
Ibagué, Colombia

ANTONIO BERMÚDEZ  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

JORGE H. BOTERO  
Universidad de Antioquia  
Medellín, Colombia

GUSTAVO ALONSO CABRERA  
Universidad de Antioquia  
Medellín, Colombia

VÍCTOR CÁRDENAS  
University of Texas  
El Paso, TX, Estados Unidos

ALBERTO CONCHA-EASTMAN  
Guatapé, Colombia

ZOILO CUÉLLAR  
Academia Nacional de Medicina  
Bogotá, D.C., Colombia

LUIS GABRIEL CUERVO  
Organización Panamericana  
de la Salud  
Washington, D.C., Estados Unidos

PATRICIA DEL PORTILLO  
Corpogén  
Bogotá, D.C., Colombia

ANDRÉS DE FRANCISCO  
Organización Mundial de la Salud  
Ginebra, Suiza

FERNANDO DE LA HOZ  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

JOSÉ LUIS DI FABIO  
Organización Panamericana de la Salud  
Washington, D.C., Estados Unidos

JORGE HERNANDO DONADO  
Universidad Pontificia Bolivariana  
Medellín, Colombia

CARLOS ANDRÉS FANDIÑO  
Universidad del Valle  
Cali, Colombia

JOSÉ FIGUEROA  
World Health Organization  
Ginebra, Suiza

LUIS FERNANDO GARCÍA  
Universidad de Antioquia  
Medellín, Colombia

ALBERTO GÓMEZ  
Pontificia Universidad Javeriana  
Bogotá, D.C., Colombia

ENRIQUE GONZÁLEZ  
University of Texas Health Science Center  
at San Antonio  
San Antonio, TX, Estados Unidos

JOHN MARIO GONZÁLEZ  
Universidad de los Andes  
Bogotá, D.C., Colombia

FELIPE GUHL  
Universidad de los Andes  
Bogotá, D.C., Colombia

ANTONIO IGLESIAS  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

JORGE JARA  
Centers for Disease Control and  
Prevention, Regional Office for  
Central America and Panama,  
CDC-CAP  
Ciudad de Guatemala, Guatemala

ERNESTO JARAMILLO  
Organización Mundial de la Salud  
Ginebra, Suiza

MARCELO LABRUNA  
Universidade de São Paulo  
São Paulo, Brasil

JAIRO LIZARAZO  
Hospital Universitario Erasmo Meoz  
Cúcuta, Colombia

JUAN GUILLERMO McEWEN  
Corporación para Investigaciones  
Biológicas  
Medellín, Colombia

ROBERTO MENDOZA  
The Hospital for Sick Children  
Toronto, Ontario, Canada

ÁLVARO MONCAYO  
Universidad de los Andes  
Bogotá, D.C., Colombia

RICARDO NEGRONI  
Hospital de Infecciosas  
Francisco Javier Muñiz  
Buenos Aires, Argentina

MARÍA TERESA OCHOA  
University of California Los Ángeles  
Los Ángeles, CA, Estados Unidos

JUAN P. OLANO  
University of Texas Medical Branch  
Galveston, TX, Estados Unidos

BLANCA RESTREPO  
University of Texas  
Brownsville, TX, Estados Unidos

GERZAIN RODRÍGUEZ  
Investigador Emérito  
Instituto Nacional de Salud  
Universidad de la Sabana  
Bogotá, D.C., Colombia

VÍCTOR E. REYES  
University of Texas Medical Branch  
Galveston, TX, Estados Unidos

GUSTAVO C. ROMÁN  
Methodist Neurological Institute  
Houston, TX, Estados Unidos

PEDRO ROMERO  
Ludwig Center for Cancer Research  
University of Lausanne  
Lausana, Suiza

ÁLVARO RUIZ  
Pontificia Universidad Javeriana  
Bogotá, D.C., Colombia

GIOCONDA SAN BLAS  
Instituto Venezolano de  
Investigaciones Científicas  
Caracas, Venezuela

ÁLVARO SANABRIA  
Hospital Pablo Tobón Uribe  
Medellín, Colombia  
Universidad de la Sabana  
Chía, Colombia

RICARDO SÁNCHEZ  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

NANCY GORE SARAVIA  
Centro Internacional de Entrenamiento  
e Investigaciones Médicas  
Cali, Colombia

ROBERT TESH  
University of Texas  
Galveston, TX, Estados Unidos

BRUNO TRAVI  
University of Texas  
Galveston, TX, Estados Unidos

GUSTAVO VALBUENA  
University of Texas  
Galveston, TX, Estados Unidos

JUAN MIGUEL VILLALOBOS  
Universidade Federal de Rondônia  
Porto Velho, Brasil

MOISÉS WASSERMAN  
Investigador Emérito  
Instituto Nacional de Salud  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

---

CARLOS ARTURO HERNÁNDEZ  
Edición y corrección de estilo

LINDA GRACE MOLANO  
Asistencia editorial

MARTHA RENZA  
Corrección de estilo

ELIZABETH GUZMÁN  
Mercadeo digital

JOHANNA MORALES  
Diagramación

---

© Instituto Nacional de Salud

La revista *Biomédica* del Instituto Nacional de Salud es una publicación trimestral, eminentemente científica. Está amparada por la resolución número 003768 de 1981, emanada del Ministerio de Gobierno, y con tarifa postal reducida según resolución número 1128 del 5 de mayo de 1982.

Ninguna publicación, nacional o extranjera, podrá reproducir ni traducir sus artículos ni sus resúmenes sin previa autorización escrita del editor. Ni la revista, ni el Instituto asumen responsabilidad alguna por los puntos de vista expresados por los autores. La revista no publicará ningún tipo de propaganda comercial. Los nombres de equipos, materiales y productos manufacturados que eventualmente puedan mencionarse, no implican recomendación ni propaganda para su uso y sólo se mencionan como identificación genérica.

La revista *Biomédica* aparece reseñada en *Index Medicus/Medline de la National Library of Medicine*, en el *Science Citation Index Expanded (also known as SciSearch®)* y *Journal Citation Reports/Science Edition de Thomson Scientific*, en SciELO Colombia (*Scientific Electronic Library Online*), en el índice de la *Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud (LILACS)*, en la Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (RedAlyC), en el *Índice Mexicano de Revistas Biomédicas Latinoamericanas (Imbiomed)*, en *Scopus* de Elsevier B.V., en el *Sistema de Información Bibliográfica Regional Andina (SIBRA)*, en *CAB Abstracts*, *Review of Medical and Veterinary Entomology*, y forma parte del *Índice Nacional de Publicaciones Seriadas Científicas y Tecnológicas Colombianas* de Colciencias y del *Índice Latinoamericano de Revistas Científicas y Tecnológicas (LATINDEX)*.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
Avenida Calle 26 No. 51-20  
Apartado aéreo 80334 y 80080  
Bogotá, D.C., Colombia, S.A.

URL: <http://www.ins.gov.co>  
[biomedica@ins.gov.co](mailto:biomedica@ins.gov.co)

## Contenido

### Editorial

- Polimorfismo genético en poblaciones colombianas  
y su importancia en salud pública  
*Ignacio Briceño-Balcázar* ..... 295

### Presentación de caso

- Histoplasmosis diseminada como manifestación inicial  
del linfoma linfocítico de células pequeñas  
*Nhora Silva, Natalia Calvache, Elizabeth Arrieta,  
Juan Carlos Bravo, Camilo Salazar, Joaquín Rosales,  
Francisco Jaramillo, Juan Guillermo Restrepo* ..... 298

- Mioclonías inducidas por salbutamol  
*María Alejandra Montoya-Giraldo, Dayana Vanessa  
Montoya, David Alexander Atehortúa, Jefferson  
Antonio Buendía, Andrés Felipe Zuluaga* ..... 303

- Variante patogénica homocigótica del gen *BBS10*  
en un paciente con síndrome de Bardet-Biedl  
*Yaqueline Ladino, Johanna Galvis, Diana Yasnó,  
Adriana Ramírez, Orietta Ivonne Beltrán* ..... 308

### Artículo original

- Polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF*  
asociados con la densidad mineral ósea en mujeres  
del norte de México  
*Sandra Marlen González-Peña, Eduardo  
Campos-Góngora, Hilda Guadalupe Ávila-Rodríguez,  
Erik Ramírez-López, Rafael Velázquez-Cruz,  
Zacarías Jiménez-Salas* ..... 320

- Polimorfismos de un solo nucleótido representativos  
para los alelos clásicos del antígeno leucocitario humano  
en familias antioqueñas con diabetes mellitus tipo 1  
*Diana Clobeth Sarrazola, Alejandra Marcela Rodríguez,  
Martín Toro, Alejandra Vélez, Jorge García-Ramírez,  
María Victoria Lopera, Cristian M. Álvarez, Vital Balthazar  
González, Juan Manuel Alfaro, Nicolás Pineda-Trujillo* ..... 329

- Aislamiento de *Bacillus cereus* en restaurantes  
escolares de Colombia  
*Ana Yibby Forero, Marisol Galindo, Gina E. Morales* ..... 338

- Bajo peso al nacer en niños nacidos a término  
en Antioquia y su relación con las condiciones  
socioeconómicas de los municipios, un análisis  
espacio-temporal  
*Luz Stella Álvarez-Castaño, Beatriz Caicedo-Velásquez,  
Catalina Castaño-Díez, Marc Marí-Dell'Olmo,  
Mercè Gotsens* ..... 345

- La alimentación para pacientes con diabetes mellitus  
de tipo 2 en tres hospitales públicos de Cundinamarca,  
Colombia  
*Ana Yibby Forero, Jenny Alexandra Hernández,  
Sandra Milena Rodríguez, Jhon Jairo Romero,  
Gina Emely Morales, Gabriel Ángel Ramírez* ..... 355

- Análisis de costo-utilidad en Colombia del tratamiento  
integral del carcinoma de seno con reconstrucción  
inmediata frente a la reconstrucción diferida  
*Ana Helena Perea, Diego Rosselli* ..... 363

- Citometría de flujo en reticulocitos de sangre periférica  
como indicador de inestabilidad cromosómica en  
pacientes con gliomas de alto grado  
*Lina Marcela Barrera, León Darío Ortiz, Hugo Grisales,  
Mauricio Rojas, Mauricio Camargo* ..... 379

- Modulación de la neurogénesis y la gliogénesis en  
la isquemia cerebral mediante una terapia basada  
en la interferencia de *CDK5*  
*Juan Ignacio Muñoz-Manco, Johanna Andrea  
Gutiérrez-Vargas, Gloria Patricia Cardona-Gómez* ..... 388

- Utilización de dos antibióticos genéricos en un  
hospital de tercer nivel en Bogotá  
*José Julián López, Yira Cortázar, Ángela Acosta,  
Claudia Marcela Vargas-Peláez, Francisco Rossi* ..... 398

- Caracterización de las potenciales interacciones  
farmacológicas en pacientes de una unidad de cuidados  
intensivos en un hospital de tercer nivel de Bogotá  
*Marcela Hernández, Gabriel Tribiño,  
Carlos Bustamante* ..... 407

- Patrones de prescripción de fármacos  
antiparkinsonianos en un grupo de pacientes  
de Colombia, 2015  
*Jorge Enrique Machado-Alba, Luis Felipe Calvo-Torres,  
Andrés Gaviria-Mendoza, Juan Daniel Castrillón-Spitia* ..... 417

- Niveles séricos de adipocitocinas y resistencia a la  
insulina en el primer trimestre de gestación en  
adolescentes y su relación con el peso del recién nacido  
*Isleny Noreña, Myriam Patricia Pardo,  
Ismena Mockus* ..... 427

### Revisión de tema

- Nueva teoría sobre la depresión: un equilibrio del  
ánimo entre el sistema nervioso y el inmunológico,  
con regulación de la serotonina-quinurenina y el eje  
hipotálamo-hipófiso-suprarrenal  
*Leslie Alejandra Ramírez, Elsy Arlene Pérez-Padilla,  
Francisco García-Oscos, Humberto Salgado,  
Marco Atzori, Juan Carlos Pineda* ..... 437

- Cartas al editor ..... 451

Instrucciones a los autores

## Contents

### Editorial

- Genetic polymorphism in Colombian populations and its importance for public health  
*Ignacio Briceño-Balcázar* ..... 295

### Case presentation

- Disseminated histoplasmosis as a first clinical manifestation in a patient with small lymphocytic lymphoma: A case report  
*Nhora Silva, Natalia Calvache, Elizabeth Arrieta, Juan Carlos Bravo, Camilo Salazar, Joaquín Rosales, Francisco Jaramillo, Juan Guillermo Restrepo* ..... 298

- Myoclonus induced by salbutamol: A case report  
*María Alejandra Montoya-Giraldo, Dayana Vanessa Montoya, David Alexander Atehortúa, Jefferson Antonio Buendía, Andrés Felipe Zuluaga* ..... 303

- A pathogenic homozygous variant of the *BBS10* gene in a patient with Bardet Biedl syndrome  
*Yaqueline Ladino, Johanna Galvis, Diana Yasnó, Adriana Ramírez, Orietta Ivonne Beltrán* ..... 308

### Original articles

- JAG1*, *MEF2C* and *BDNF* polymorphisms associated with bone mineral density in women from Northern México  
*Sandra Marlen González-Peña, Eduardo Campos-Góngora, Hilda Guadalupe Ávila-Rodríguez, Erik Ramírez-López, Rafael Velázquez-Cruz, Zacarías Jiménez-Salas* ..... 320

- Classical HLA alleles tag SNP in families from Antioquia with type 1 diabetes mellitus  
*Diana Clobeth Sarrazola, Alejandra Marcela Rodríguez, Martín Toro, Alejandra Vélez, Jorge García-Ramírez, María Victoria Lopera, Cristian M. Álvarez, Vital Balthazar González, Juan Manuel Alfaro, Nicolás Pineda-Trujillo* ..... 329

- Isolation of *Bacillus cereus* in school restaurants in Colombia  
*Ana Yibby Forero, Marisol Galindo, Gina E. Morales* ..... 338

- Full-term low birth weight and its relationship with the socioeconomic conditions of municipalities in Antioquia: Spatio-temporal analysis  
*Luz Stella Álvarez-Castaño, Beatriz Caicedo-Velásquez, Catalina Castaño-Díez, Marc Marí-Dell'Olmo, Mercè Gotsens* ..... 345

- Feeding in adults with type II diabetes mellitus in three public hospitals in Cundinamarca, Colombia  
*Ana Yibby Forero, Jenny Alexandra Hernández, Sandra Milena Rodríguez, Jhon Jairo Romero, Gina Emely Morales, Gabriel Ángel Ramírez* ..... 355

- Immediate versus delayed breast reconstruction in breast cancer patients in Colombia: A cost-utility analysis  
*Ana Helena Perea, Diego Rosselli* ..... 363

- Flow cytometry in peripheral blood reticulocytes as a marker of chromosome instability in high-grade glioma patients  
*Lina Marcela Barrera, León Darío Ortiz, Hugo Grisales, Mauricio Rojas, Mauricio Camargo* ..... 379

- Neurogenesis and gliogenesis modulation in cerebral ischemia by CDK5 RNAi-based therapy  
*Juan Ignacio Muñoz-Manco, Johanna Andrea Gutiérrez-Vargas, Gloria Patricia Cardona-Gómez* ..... 388

- Drug utilization study of two generic antibiotics in a tertiary hospital in Bogotá  
*José Julián López, Yira Cortázar, Ángela Acosta, Claudia Marcela Vargas-Peláez, Francisco Rossi* ..... 398

- Characterization of potential drug-drug interactions in patients hospitalized in the intensive care unit of a tertiary hospital in Bogotá  
*Marcela Hernández, Gabriel Tribiño, Carlos Bustamante* ..... 407

- Prescribing patterns of antiparkinson drugs in a group of Colombian patients, 2015  
*Jorge Enrique Machado-Alba, Luis Felipe Calvo-Torres, Andrés Gaviria-Mendoza, Juan Daniel Castrillón-Spitia* ..... 417

- Serum adipokine levels and insulin resistance in the first trimester of pregnancy in adolescents and their relationship with neonatal weight  
*Islendy Noreña, Myriam Patricia Pardo, Ismena Mockus* ..... 427

### Topic review

- A new theory of depression based on the serotonin/kynurenine relationship and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis  
*Leslie Alejandra Ramírez, Elsy Arlene Pérez-Padilla, Francisco García-Oscos, Humberto Salgado, Marco Atzori, Juan Carlos Pineda* ..... 437

- Letters to the editor ..... 451

- Instructions for authors

## Editorial

### Polimorfismo genético en poblaciones colombianas y su importancia en salud pública

Las características genéticas relacionadas con la propensión a ciertas enfermedades en la población colombiana, son consecuencia de su proceso de poblamiento y adaptación al medio. Según la evidencia actual, la primera migración de los amerindios se produjo hace cerca de 12.000 años con la llegada al norte de Suramérica de un grupo muy reducido de pobladores que se originó en Asia, lo que produjo un efecto fundador, con la consecuente pérdida de diversidad genética y un aumento de la frecuencia poblacional de algunos alelos.

Simultáneamente con este fenómeno migratorio, se desarrolló el proceso adaptativo a las condiciones ecológicas del continente americano, tal y como se refleja en la acentuada restricción de los genes que codifican para la presentación del antígeno leucocitario humano (*Human Leukocyte Antigen*, HLA) en la reacción inmunitaria en los amerindios actuales (1). Además, como consecuencia de los múltiples agentes patógenos desconocidos que arribaron con los conquistadores europeos, se produjo una reducción drástica de las poblaciones amerindias cuyo efecto fue, probablemente, la selección de alelos HLA protectores.

En estudios recientes de la población colombiana residente en 11 departamentos, se ha registrado que el ancestro materno de herencia mitocondrial de origen amerindio, tiene una frecuencia de 74 a 97 %, lo cual revela su gran proporción de mestizaje (2). En contraste, al estudiar el origen masculino mediante el cromosoma Y, se encontró que el poblamiento estuvo a cargo, principalmente, del sexo masculino, puesto que en la actualidad se puede observar una frecuencia de hasta 94 % del cromosoma Y de origen europeo en algunas poblaciones colombianas (3-5). Asimismo, se observó una subpoblación con una variabilidad reducida, esencialmente de origen europeo, lo que se explica con la inmigración masculina de los europeos desde los tiempos de la Conquista.

En cuanto al ancestro africano, hay evidencia histórica, lingüística y genética de que los orígenes corresponden al centro occidental de África. La distribución de los grupos afrocolombianos se concentra en la costa Pacífica y la Atlántica, donde se observa un mestizaje importante en poblaciones históricamente 'afro', es decir, de origen africano reciente, como la de Palenque de San Basilio, donde los marcadores uniparentales del ancestro masculino evidencian un 57,7 % de origen africano y un 38,5 % de origen europeo. Algunos lugares de la costa Atlántica, como la población de Pinillos, tienen una mayor proporción de ancestro amerindio masculino (23,8 %) (3). Es menor la contribución de los ancestros judío y árabe como producto de las inmigraciones durante el siglo XX, principalmente.

Estas características particulares del poblamiento colombiano traen como consecuencia la propensión a enfermedades genéticas propias, como se puede evidenciar en varios estudios realizados en el país. Por ejemplo, existen mutaciones en varios genes que implican una mayor propensión genética al cáncer de mama, cuya consecuencia es que el riesgo de desarrollar cáncer en el curso de la vida de quienes portan dichas mutaciones puede ser de hasta un 80 %. En un estudio de nuestro grupo se logró demostrar que las mutaciones colombianas más frecuentes en el gen *BRCA1* fueron la A1708E (27 pacientes) y la 3450delCAAG (13 pacientes), seguidas de cuatro pacientes con la 1793delA, tres con la C5141T y dos con C39R (234T>C) y la V1145F. En cuanto al gen *BRCA2*, las mutaciones más frecuentes, además de la mutación fundadora 3034delACAA en ocho pacientes, fueron la C5972T (11 pacientes) y la 6328C>T (3 pacientes). Se observó que existe un gradiente de frecuencias, ya que mientras la mutación A1718E es la más frecuente en el norte de Colombia, en el sur del país lo es la 3450delCAAG (6). Uno de los efectos

positivos de las pruebas genéticas en la salud pública consiste en que, cuando se encuentra un paciente portador de una mutación deletérea, se puede examinar a los familiares y así ampliar la detección, pues el mecanismo de transmisión de la propensión es autosómico dominante, lo cual implica que es heredado por el 50 % de los hijos de un portador.

Queda claro que el patrón de mutaciones es diferente para cada población, por ello, la tamización poblacional en Colombia podría detectar personas con una probabilidad de desarrollar el cáncer de mama de hasta 80 %, e incorporarlas a programas de prevención. Si bien el costo de dicha tamización parecería elevado, la reducción final de los enormes costos de un tratamiento contra el cáncer lo compensaría.

Otro ejemplo es la farmacogenética, pues las variaciones genéticas se han relacionado con el riesgo de enfermedad, la eficacia y las dosis del tratamiento, y sus efectos colaterales. El uso de la genotipificación de polimorfismos genéticos previene la toxicidad y los efectos secundarios, como en el caso del tamoxifeno, el cual debería reemplazarse por otros medicamentos ante la detección del polimorfismo CYP2D6 rs3892097. En el caso de medicamentos como la warfarina o el clopidogrel, hay polimorfismos cuya presencia aconsejaría el ajuste de la dosis para evitar efectos indeseables, como la hemorragia o la trombosis, según el metabolismo específico de los pacientes. Otro ejemplo es el estudio de los genes del metabolismo de las estatinas, ya que la presencia de un polimorfismo particular en el gen CYP2D6 aumenta el riesgo de inducir rabdomiólisis, por lo que debe cambiarse el medicamento en estos pacientes.

La utilidad de los estudios de genética molecular también se ha demostrado en el caso de la anemia falciforme. En Colombia, se estima que la cifra anual de nacidos con rasgo drepanocítico (heterocigotos) se acerca a los 20.000 niños, lo cual contrasta con la estimación de alrededor de 500 niños que nacen anualmente homocigotos para la hemoglobina S (7). El conocimiento de la distribución de los afectados y de los heterocigotos (portadores) mediante las pruebas moleculares, es crucial para proveer servicios preventivos, tratamientos e información para el público, así como para la distribución adecuada de los recursos en salud. En Colombia, hay enfermedades de probable origen amerindio, como el prurigo actínico, una fotodermatosis de gran prevalencia en comunidades como la de los indígenas chimila, pero que también se encuentra en población mestiza y se ha podido asociar con la presencia de un alelo de los genes de clase II del HLA, el DRB1 \*04 (8).

En síntesis, gracias a las técnicas actuales de secuenciación se ha logrado estudiar el genoma de los pacientes, lo que permite diagnosticar oportunamente las enfermedades y conocer la propensión frente a las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y la diabetes, entre otras condiciones de gran prevalencia.

Uno de los problemas para interpretar estas pruebas moleculares, es el hallazgo de variantes de significado incierto. En este sentido, el conocimiento de las frecuencias genéticas en la población colombiana, permitirá la interpretación precisa de mutaciones causales.

El conjunto de tales pruebas permitiría la detección de la propensión a enfermedades, con lo cual se podrán orientar las políticas de salud pública para su prevención, diagnóstico y tratamiento. En la actualidad, los programas de tamización de enfermedades como el cáncer de mama, se hacen considerando la edad de las pacientes y, gracias a ellos, muy probablemente se han reducido los costos de su atención; no obstante, ello se intensificaría con la detección de las pacientes de alto riesgo mediante el examen genético, y reduciría los procedimientos para aquellas de bajo riesgo, mejorando así la relación entre los costos y los beneficios de la atención en salud en nuestra sociedad.

Ignacio Briceño-Balcázar

Genética Clínica, Departamento de Biociencias, Universidad de La Sabana, Chía, Colombia

## Referencias

1. **Briceño I, Gómez A, Bernal JE, Papiha SS.** HLA-DPB1 polymorphism in seven South American Indian tribes in Colombia. *Eur J Immunogenet.* 1996;23:235-40.
2. **Yunis JJ, Yunis EJ.** Mitochondrial DNA (mtDNA) haplogroups in 1526 unrelated individuals from 11 Departments of Colombia. *Genet Mol Biol.* 2013;36:329-35. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572013000300005>

3. **Noguera MC, Schwegler A, Gómez V, Briceño I, Álvarez L, Uricoechea D, et al.** Colombia's racial crucible: Y chromosome evidence from six admixed communities in the Department of Bolívar. *Ann Hum Biol.* 2014;41:453-9. <https://doi.org/10.3109/03014460.2013.852244>
4. **Mesa NR, Mondragón MC, Soto ID, Parra MV, Duque C, Ortiz-Barrientos D, et al.** Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: Pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1277-86.
5. **Carvajal-Carmonn LG, Soto ID, Pineda N, Ortiz-Barrientos D, Duque C, Ospina-Duque J, et al.** Strong Amerind/white sex bias and a possible Sephardic contribution among the founders of a population in northwest Colombia. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1287-95.
6. **Briceño-Balcázar I, Gómez-Gutiérrez A, Díaz-Dussán NA, Noguera-Santamaría MC, Díaz-Rincón D, Casas-Gómez MC.** Espectro de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* asociados a cáncer de mama en Colombia. *Colombia Médica.* 2017;48:58-63.
7. **Maestre A, Lantigua R, Green N.** Sickle cell in sickle cell disease in Latin America and the United States. *Pediatric Blood & Cancer.* Fecha de consulta: 4 de noviembre de 2017. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Gladys\\_Maestre/publication/273123730\\_Sickle\\_Cell\\_in\\_Sickle\\_Cell\\_Disease\\_in\\_Latin\\_America\\_and\\_the\\_United\\_States/links/59d6a2270f7e9b42a6aa0585/Sickle-Cell-in-Sickle-Cell-Disease-in-Latin-America-and-the-United-States.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gladys_Maestre/publication/273123730_Sickle_Cell_in_Sickle_Cell_Disease_in_Latin_America_and_the_United_States/links/59d6a2270f7e9b42a6aa0585/Sickle-Cell-in-Sickle-Cell-Disease-in-Latin-America-and-the-United-States.pdf).
8. **Suárez A, Valbuena MC, Rey M, de Porras-Quintana L.** Association of HLA subtype DRB10407 in Colombian patients with actinic prurigo. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2006;22:55-8.

## PRESENTACIÓN DE CASO

# Histoplasmosis diseminada como manifestación inicial del linfoma linfocítico de células pequeñas

Nhora Silva<sup>1</sup>, Natalia Calvache<sup>2</sup>, Elizabeth Arrieta<sup>3</sup>, Juan Carlos Bravo<sup>1</sup>, Camilo Salazar<sup>3</sup>, Joaquín Rosales<sup>4</sup>, Francisco Jaramillo<sup>4</sup>, Juan Guillermo Restrepo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Hemato-Patología, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Clínicas, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Icesi, Cali, Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Hemato-Oncología, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia

El linfoma linfocítico de células pequeñas es una neoplasia de células B maduras con un amplio espectro de presentaciones clínicas. Las infecciones por gérmenes oportunistas no asociadas con el tratamiento, incluso en estadios avanzados de la enfermedad, tienen baja incidencia.

Se han reportado muy pocos casos de pacientes con linfoma linfocítico de células pequeñas asociado a histoplasmosis diseminada que no habían recibido quimioterapia en el momento del diagnóstico.

Se presenta el caso de una paciente de 82 años que fue hospitalizada por presentar tos seca intermitente, astenia y adinamia de un mes de evolución. Se le practicaron múltiples estudios para detectar infecciones o compromiso inmunológico o reumático, y se diagnosticó un síndrome adenopático extenso con compromiso cervical, torácico y retroperitoneal.

En la citometría de flujo y en la biopsia de ganglio linfático cervical, se reportaron los fenotipos CD19+, CD20dim, CD5+, CD45+, CD23+, CD43neg y CD10neg, con restricción de la cadena ligera kappa, lo cual confirmó un linfoma linfocítico de células pequeñas.

En la histopatología del ganglio, se observaron granulomas epitelioides sin necrosis, pero las coloraciones especiales no mostraron la presencia de microorganismos, en tanto que el cultivo del ganglio fue positivo para *Histoplasma capsulatum*. Se inició el tratamiento antifúngico con anfotericina B e itraconazol, y la paciente tuvo una adecuada evolución. Dado que no se cumplían los criterios para el tratamiento oncológico, se continuó con su observación mediante controles periódicos.

Las infecciones oportunistas pueden ser la manifestación clínica inicial en pacientes con síndromes linfoproliferativos de bajo grado. Este caso demuestra que pueden desarrollarse, incluso, en ausencia de quimioterapia.

**Palabras clave:** *Histoplasma*; histoplasmosis; leucemia linfocítica crónica de células B; linfoma no Hodgkin, granuloma; informes de casos.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3739>

## Disseminated histoplasmosis as a first clinical manifestation in a patient with small lymphocytic lymphoma: A case report

The small lymphocytic lymphoma is a mature B cell neoplasm with a broad spectrum of clinical presentations. Opportunistic infections that are not related to the treatment, even in advanced stages, have a low incidence rate. There are few case reports in the medical literature of patients who have not received immunosuppressive therapy and present with small lymphocytic lymphoma associated with disseminated histoplasmosis at diagnosis.

A female 82-year-old patient was admitted due to an intermittent dry cough, asthenia, and adynamia that had persisted for one month. Multiple studies to detect infections and immuno-rheumatic conditions were performed and an extensive cervical, thoracic and peritoneal adenopathic syndrome was diagnosed.

A flow cytometry and a cervical lymph node biopsy were performed reporting CD19+, CD20dim, CD5+, CD45+, CD23+, CD43neg, and CD10neg phenotypes with restriction in the light kappa chain compatible with a small lymphocytic lymphoma.

### Contribución de los autores:

Natalia Calvache, Elizabeth Arrieta y Camilo Salazar: búsqueda de la literatura y redacción del manuscrito

Nhora Silva y Juan Carlos Bravo: descripción de imágenes y diagnóstico patológico

Joaquín Rosales, Francisco Jaramillo y Juan Guillermo Restrepo: diagnóstico clínico, manejo y seguimiento del caso

Todos los autores participaron en la revisión del manuscrito.

Epithelioid granulomas without necrosis were observed in the lymph node histopathology and special colorations showed no microorganisms. The culture from the lymph node was positive for *Histoplasma capsulatum*. We initiated treatment with amphotericin B and itraconazole with an adequate response. In the absence of compliance with oncology treatment criteria, the patient was managed on a "watch and wait" basis.

Opportunistic infections could be the initial clinical manifestation in patients with low-grade lymphoproliferative syndromes. This case report shows that they can develop even in the absence of chemotherapy.

**Key words:** *Histoplasma*; histoplasmosis; leukemia, lymphocytic, chronic, B-cell; lymphoma, non-Hodgkin; granuloma; case reports.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3739>

El linfoma linfocítico de células pequeñas o leucemia linfocítica crónica (*Small Lymphocytic Lymphoma/Chronic Lymphocytic Leukemia*, SLL/CLL) es una neoplasia frecuente de células B maduras, caracterizada por acumulación progresiva de linfocitos funcionalmente incompetentes de origen monoclonal (1). Menos del 10 % de los pacientes desarrollan solo compromiso ganglionar sin leucemia, presentación clínica que corresponde a menos del 5 % de todos los linfomas no Hodgkin; sin embargo, la mayoría progresan a infiltración en sangre periférica o en médula ósea (2).

Las complicaciones infecciosas son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en pacientes con esta enfermedad, incluso sin tratamiento oncológico (3). Las bacterias encapsuladas y los virus respiratorios, como el de la influenza, son los más prevalentes en los pacientes que no han sido diagnosticados y, por lo tanto, no se han tratado (4). Las infecciones por gérmenes oportunistas son menos frecuentes, incluso en estadios avanzados de la enfermedad (5).

Se han reportado muy pocos casos de coexistencia de linfoma linfocítico de células pequeñas e histoplasma (6-8). El presente es el primer caso documentado en Colombia de una paciente con histoplasmosis diseminada como manifestación inicial de un linfoma linfocítico de células pequeñas.

### Presentación del caso

Se trata de una mujer de 82 años con historia previa de hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus y demencia de tipo Alzheimer. Consultó por

un cuadro clínico de tos seca, diaforesis nocturna, astenia y adinamia de un mes de evolución. No presentaba fiebre ni pérdida de peso.

En el examen físico inicial se encontraron adenopatías cervico-laterales y submandibulares, sin otros hallazgos relevantes.

Se practicaron múltiples estudios para detectar infecciones: PPD (*Purified Protein Derivative*), 12 mm; baciloscopias, negativas; lavado broncoalveolar con coloración de Gram; hidróxido de potasio, KOH; cultivos, negativos; y prueba GeneXpert™ para detectar ADN de la micobacteria tuberculosa, negativa); además, pruebas inmunológicas cuyos resultados estuvieron dentro de los límites normales. Se solicitó una tomografía computadorizada (TC) corporal total, en la cual se evidenciaron adenopatías en mediastino, retroperitoneales y mesentéricas, infiltrados pulmonares en patrón de árbol de gemación y un granuloma en el lóbulo medio.

Dados estos hallazgos, se tomó una biopsia de ganglio linfático cervical, en la cual se observó distorsión de su arquitectura debida a la proliferación de linfocitos pequeños, neoplásicos, acompañados de granulomas epitelioides sin necrosis. En los estudios de inmunohistoquímica y citometría de flujo del ganglio cervical, se observó que las células neoplásicas expresaron el CD45+ y los marcadores de linaje B CD19+, CD20+ y PAX-5+, con expresión aberrante de BCL-2+, CD5+ y CD23+, y restricción de la cadena ligera kappa. Los análisis para BCL-6, ciclina D1, CD10 y CD3, fueron negativos. Estos hallazgos confirmaron el diagnóstico de linfoma linfocítico de células pequeñas (figura 1).

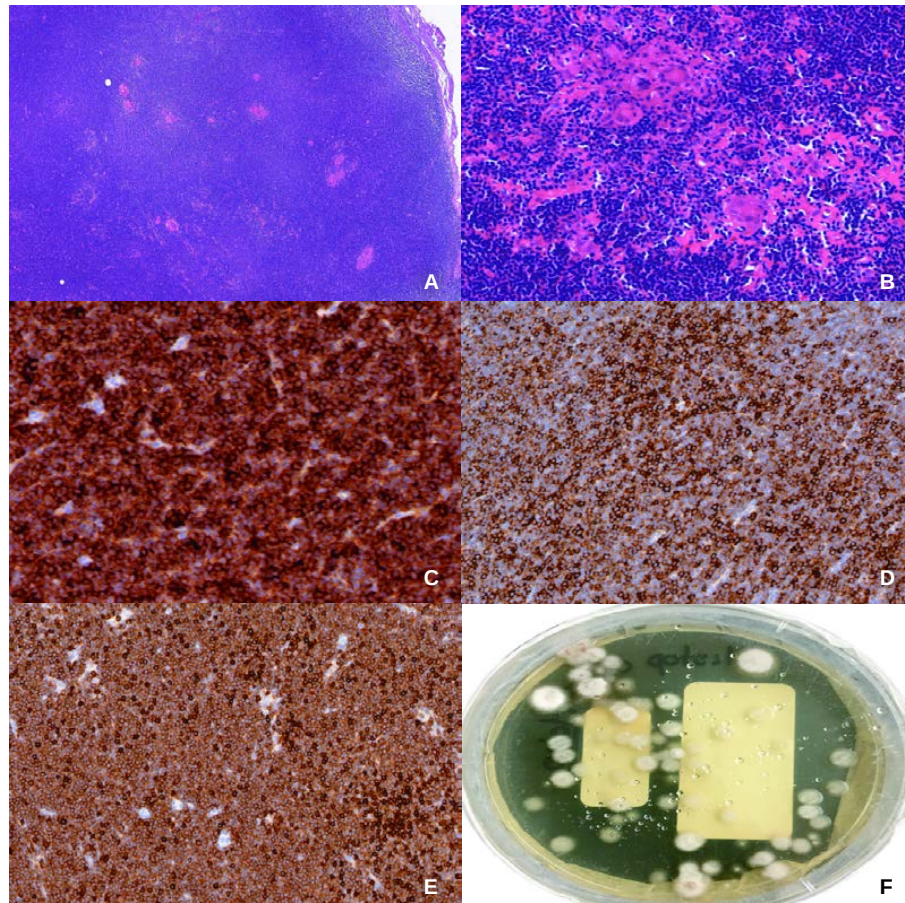
A las dos semanas de incubación, el cultivo del ganglio cervical evidenció el crecimiento de moho hialino indicativo de *Histoplasma capsulatum*, lo que se correlacionó con el hallazgo histológico de granulomas en el tejido linfoide evaluado.

### Correspondencia:

Nhora Silva, Departamento de Patología, Fundación Clínica Valle del Lili, Avenida Simón Bolívar, Carrera 98 N° 18-49, Cali, Colombia

Teléfono: (572) 331 9090, extensión 4261; fax: (572) 331 6728  
nsilva@fcvl.org

Recibido: 20/12/16; aceptado: 19/01/18



**Figura 1.** A. Ganglio linfático con proliferación neoplásica difusa de linfocitos. Hematoxilina y eosina, 2,5X. B. Presencia de histiocitos epitelioides que forman un granuloma irregular sin necrosis. Hematoxilina y eosina, 15X. C, D y E. Células neoplásicas positivas para CD20, CD5 y CD23, respectivamente. Inmunohistoquímica, 15X. F. Cultivo con crecimiento de *Histoplasma capsulatum*.

Se inició el tratamiento con anfotericina B durante cuatro semanas y, posteriormente, dos semanas con itraconazol, con lo cual se obtuvo una adecuada mejoría clínica. Los estudios complementarios descartaron la presencia de leucemia (hemograma sin leucocitosis y citometría en sangre periférica no clonal). Dado que no cumplía con los criterios para tratamiento oncológico, la paciente continuó bajo vigilancia en el Departamento de Hemato-Oncología.

### Consideraciones éticas

Para la publicación de este reporte de caso se obtuvo el aval del Comité de Ética Institucional de la Fundación Valle de Lili, además del consentimiento y la firma del consentimiento informado de la paciente.

### Discusión

El linfoma linfocítico de células pequeñas es una neoplasia de células B maduras caracterizada por

la acumulación progresiva de linfocitos funcionalmente incompetentes de origen monoclonal (1). La distinción diagnóstica entre el linfoma linfocítico de células pequeñas y la leucemia linfocítica crónica, se basa en el lugar donde se encuentran las células afectadas. En el primero, estas se hallan principalmente en los ganglios linfáticos y el bazo, en tanto que, en la segunda, la mayoría está en la sangre y la médula ósea. La leucemia está ausente en menos de 10 % de los pacientes con linfoma linfocítico de células pequeñas, lo que ocurre en menos de 5 % de todos los linfomas no Hodgkin. Sin embargo, en la mayoría de los casos, las células terminan infiltrándose en la sangre periférica o en la médula ósea (2,9). En el presente caso, no se encontraron linfocitos neoplásicos en sangre periférica ni en médula ósea.

En el inicio de la enfermedad, el 70 % de los pacientes son asintomáticos o presentan síntomas leves. A menudo se detecta de manera incidental

en un conteo completo rutinario de células sanguíneas con anormalidades como la leucocitosis con linfocitosis (10). En fases más avanzadas, es posible encontrar linfadenopatías, hepatomegalia y esplenomegalia, infecciones recurrentes, debilidad, palidez, diátesis hemorrágica y síntomas generales como fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso (11).

El diagnóstico de esta paciente se hizo en el contexto de una infección respiratoria concomitante, cuyos síntomas podían corresponder a cualquiera de las dos condiciones, lo cual dificultó la sospecha clínica del linfoma.

El ganglio linfático infiltrado por esta enfermedad se compone predominantemente de linfocitos de apariencia madura, con cromatina condensada, núcleo redondo y, ocasionalmente, un nucléolo pequeño; las células linfoides grandes (prolinfocitos y parainmunoblastos) tienen un nucléolo más prominente, cromatina dispersa, están siempre presentes y son menos del 55 % (12). En un número menor de casos, el patrón de infiltración del ganglio linfático puede ser interfolicular o exhibir un patrón del tipo de zona marginal, lo cual promueve la eventual confusión con linfomas del manto, linfomas de zona marginal u otras neoplasias de células B (10).

El estudio inmunofenotípico es un componente clave para establecer el diagnóstico definitivo y determinar el pronóstico. Los resultados de los estudios de inmunohistoquímica y citometría de flujo del ganglio linfático cervical arrojaron un perfil inmunofenotípico congruente con linfoma linfocítico de células pequeñas, según lo descrito en la literatura médica (13-18).

El diagnóstico de linfoma linfocítico de células pequeñas no implica de manera automática el inicio del tratamiento, pues la mayoría de los pacientes no lo necesitan. En el presente caso, no se prescribió ningún esquema de quimioterapia y se optó por vigilancia y control. En el linfoma linfocítico de células pequeñas, esta conducta ha resultado en una supervivencia entre media y alta comparada con la supervivencia global, según un ensayo clínico controlado aleatorizado sobre el beneficio de la quimioterapia en pacientes asintomáticos con linfomas de bajo grado frente a la observación (supervivencia media de 5,9 y 6,7 años, respectivamente) (19).

La infección por *H. capsulatum* es una micosis sistémica humana producida por la inhalación de microconidias o fragmentos miceliales que

cambian a su forma de levadura en los pulmones del huésped. Algunos hongos entran al organismo por los fagocitos, y son capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de los macrófagos, lo cual permite su difusión a varios órganos por medio del torrente sanguíneo o el sistema linfático (20). Esta circunstancia explica el desarrollo de los síntomas respiratorios de la paciente, aunque el microorganismo no se aisló en el pulmón y, en cambio, se encontró en el ganglio linfático. La gravedad de esta micosis depende del número de partículas inhaladas del hongo y el estado inmunológico de la persona. Si no hay deficiencia inmunológica, un inóculo pequeño puede causar una infección asintomática o una histoplasmosis pulmonar aguda; en las personas inmunocomprometidas, se suele presentar como una histoplasmosis diseminada (21).

Las complicaciones infecciosas son la principal causa de morbilidad y mortalidad en el linfoma linfocítico de células pequeñas. La patogenia de la infección implica múltiples factores y, generalmente, se explica por una inmunosupresión relacionada con la enfermedad o derivada del uso prolongado de agentes farmacológicos (22).

Existen pocos casos reportados en la literatura de pacientes con linfoma linfocítico de células pequeñas e histoplasmosis diseminada (6-8). En todos ellos, los pacientes habían recibido tratamiento inmunosupresor antes de que se presentara la infección y la mayoría se asoció con el síndrome de hemofagocitosis o con la transformación de Richter.

El caso que se reporta es el primero en Colombia en el que coexistían en un ganglio linfático el linfoma linfocítico de células pequeñas y *H. capsulatum*, no había evidencia de leucemia y no se había administrado quimioterapia previamente. Ello hace que sea de gran interés por la presentación espontánea de la infección fúngica y devela un posible compromiso inmunológico subyacente en las neoplasias hematológicas linfoides, incluso en las de bajo grado. Además, plantea la cuestión de si la edad avanzada por sí sola puede generar algún grado de inmunosupresión.

El hallazgo histológico de granulomas epitelioides, con necrosis o sin ella, en los ganglios linfáticos comprometidos por síndromes linfoproliferativos o en estados reactivos, debe llevar siempre a descartar la presencia de un agente infeccioso con la ayuda de estudios especiales y cultivos del tejido, sobre todo en pacientes que presentan síntomas respiratorios.

Este caso clínico plantea la necesidad y la importancia de una adecuada historia clínica con diagnósticos diferenciales. En un paciente con adeno-megalias y síntomas sistémicos deben contemplarse, además del estudio histopatológico, los cultivos para descartar infecciones oportunistas.

Los granulomas en un ganglio linfático infiltrado por linfoma linfocítico de células pequeñas, es un hallazgo muy raro que exige estudiar su etiología y considerar la infección por *H. capsulatum* como una opción.

### Conflicto de intereses

Ninguno de los investigadores declara tener conflictos de intereses.

### Financiación

Centro de Investigaciones Clínicas de la Fundación Valle del Lili y Universidad Icesi.

### Referencias

1. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: Evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011;117:5019-32. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-293050>
2. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: Clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol*. 1998;16:2780-95. <https://doi.org/10.1200/JCO.1998.16.8.2780>
3. Tsiodras S, Samonis G, Keating MJ, Kontoyiannis DP. Infection and immunity in chronic lymphocytic leukemia. *Mayo Clin Proc*. 2000;75:1039-54. <https://doi.org/10.4065/75.10.1039>
4. Young JA. Epidemiology and management of infectious complications in contemporary management of chronic leukemias. *Infect Disord Drug Targets*. 2011;11:3-10. <https://doi.org/10.2174/187152611794407755>
5. Kalkanis A, Judson MA, Napier MB. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in a patient with untreated chronic lymphocytic leukaemia: A novel case and postulations concerning the mechanism. *BMJ Case Rep*. 2013;2013:1-3. <http://dx.doi.org/10.1136/bcr-2013-202124>
6. Jain P, Hu S, Jabbour E, Takahashi K, Pemmaraju N. Disseminated histoplasmosis as pseudo Richter's transformation in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol*. 2015;90:752-3. <https://doi.org/10.1002/ajh.24029>
7. Xu Z, German G, Jessamine P, Bormanis J, Giulivi A, Padmore R. Disseminated histoplasmosis diagnosed by peripheral blood film in a patient with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2013;162:572. <https://doi.org/10.1111/bjh.12468>
8. Rao RD, Morice WG, Phyllis RL. Hemophagocytosis in a patient with chronic lymphocytic leukemia and histoplasmosis. *Mayo Clin Proc*. 2002;77:287-90. <https://doi.org/10.4065/77.3.287>
9. Freedman AS, Aster JC. Clinical manifestations, pathologic features, and diagnosis of small lymphocytic lymphoma. Fecha de consulta: 10 de septiembre 2016. Disponible en: [http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-pathologic-features-and-diagnosis-of-small-lymphocytic-lymphoma?source=search\\_result&search=linfoma+linfociti+co+de+células+peque%C3%B1as&selectedTitle=1~150](http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-pathologic-features-and-diagnosis-of-small-lymphocytic-lymphoma?source=search_result&search=linfoma+linfociti+co+de+células+peque%C3%B1as&selectedTitle=1~150)
10. Viswanatha DS, Montgomery KD, Foucar K. Mature B-cell neoplasms: Chronic lymphocytic leukemia-small lymphocytic lymphoma, B-cell prolymphocytic leukemia, and lymphoplasmacytic lymphoma. En: Jaffe E, Lee N, Vardiman J, Campo E, Arber D, editors. *Hematopathology*. 1<sup>st</sup> edition. Philadelphia: Elsevier; 2011. p. 221-46. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-0040-6.00014-9>
11. Hus I, Roliński J. Current concepts in diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Contemp Oncol*. 2015;19:361-7. <https://doi.org/10.5114/wo.2015.55410>
12. Burke S, Swartz G, Robert L, Wolf C. Small lymphocytic lymphoma: A clinicopathologic analysis of 268 cases. *Blood*. 1989;73:579-87.
13. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: A report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008;111:5446-56. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-093906>
14. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2013 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol*. 2013;88:803-16 <https://doi.org/10.1002/ajh.23491>
15. Kilo M, Dorfman D. The utility of flow cytometric immunophenotypic analysis in the distinction of small lymphocytic lymphoma/ chronic lymphocytic leukemia from mantle cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 1996;105:451-7. <https://doi.org/10.1093/ajcp/105.4.451>
16. Gentile M, Mauro F, Guarini A. New development in the diagnosis, prognosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Curr Opin Oncol*. 2005;17:597-604.
17. Johnstone A. Chronic lymphocytic leukemia and its relationship to normal B-lymphopoiesis. *Immunol Today*. 1982; 3:342-53. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(82\)90020-2](https://doi.org/10.1016/0167-5699(82)90020-2)
18. Dighiero G, Travade P, Chevade P. B-cell chronic lymphocytic leukemia: Present status and future directions. *Blood*. 1991;78:1901-14.
19. Ardeshtna KM, Smith P, Norton A, Hancock BW, Hoskin PJ, Maclellan KA, et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: A randomised controlled trial. *Lancet*. 2003;362:516-22. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14110-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14110-4)
20. Maza PK, Suzuki E. *Histoplasma capsulatum*-induced cytokine secretion in lung epithelial cells is dependent on host integrins, Src-family kinase activation, and membrane raft recruitment. *Front Microbiol*. 2016;7:1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00580>
21. Smith JE, Kauffman CA. Pulmonary fungal infections. *Respirology*. 2012;17:913-26. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2012.02150.x>
22. Molica S. Infections in chronic lymphocytic leukemia: Risk factors, and impact on survival, and treatment. *Leuk Lymphoma*. 1994;13:203-14. <https://doi.org/10.3109/10428199409056283>

## PRESENTACIÓN DE CASO

### Mioclónías inducidas por salbutamol

María Alejandra Montoya-Giraldo, Dayana Vanessa Montoya, David Alexander Atehortúa,  
Jefferson Antonio Buendía, Andrés Felipe Zuluaga

Centro de Información y Estudio de Medicamentos y Tóxicos, Departamento de Farmacología y Toxicología,  
Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

El salbutamol es un agonista adrenérgico  $\beta_2$  ampliamente empleado en pacientes con enfermedades pulmonares obstructivas y restrictivas. Sus principales efectos secundarios son la taquicardia y el temblor. Las mioclónías son contracciones musculares involuntarias, irregulares, bruscas, breves y repentinas, y pueden ser generalizadas, focales o multifocales.

Se presenta el caso de un paciente de 61 años con mioclónías de difícil manejo que solo presentó mejoría tras la suspensión definitiva del agonista adrenérgico  $\beta_2$ . Se describen los hallazgos clínicos, las intervenciones y el resultado en las mioclónías asociadas con el uso de salbutamol y se discuten la posible génesis y la importancia de este efecto adverso. Para documentar el caso, se siguieron las recomendaciones de las guías para el reporte de casos (*CAsE REport*, CARE).

Aunque en diversos estudios se han descrito mioclónías secundarias al uso de diferentes fármacos, hasta donde se sabe, este sería el cuarto reporte de un caso asociado específicamente con el uso del salbutamol.

**Palabras clave:** mioclónía; albuterol; farmacovigilancia; efectos colaterales y reacciones adversas relacionadas con medicamento; farmacología; toxicología.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3813>

#### Myoclonus induced by salbutamol: A case report

Salbutamol is a  $\beta_2$  adrenergic agonist widely prescribed in patients with obstructive and restrictive lung diseases. The main side effects associated with its use are tachycardia and tremor. Myoclonus is an involuntary, irregular, abrupt, brief and sudden muscular contraction, which can be generalized, focal or multifocal.

We report the case of a 61-year-old patient presenting with myoclonus difficult to treat who showed improvement only after the definitive discontinuation of the  $\beta_2$  adrenergic agonist. We describe the clinical findings, the interventions, and the outcomes related to the onset of myoclonus secondary to the use of salbutamol, as well as the possible genesis and importance of this adverse effect. We used the CARE guidelines to delineate the clinical case.

Although myoclonus secondary to the use of different drugs has been described in the literature, as far as we know this is the fourth report of salbutamol-induced myoclonus to date.

**Key words:** Myoclonus; albuterol; pharmacovigilance; drug-related side effects and adverse reactions; pharmacology; toxicology.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3813>

Durante los últimos 40 años el salbutamol (albuterol) se ha utilizado especialmente para el tratamiento de pacientes asmáticos o con enfermedades obstructivas pulmonares, y en varios países se

encuentra entre los veinte medicamentos más vendidos (1). Su eficacia en enfermedades pulmonares de tipo obstructivo y restrictivo se relaciona con su capacidad para relajar el músculo liso bronquial por la unión a los receptores adrenérgicos  $\beta_2$  (2).

Según VigiBase™, la base de datos global sobre reacciones adversas a medicamentos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), a la cual

#### Correspondencia:

María Alejandra Montoya-Giraldo, Carrera 51D N° 62-42,  
oficina 210, Medellín, Colombia  
Teléfono: (574) 219 6046  
[maria.montoya4@udea.edu.co](mailto:maria.montoya4@udea.edu.co)

Recibido: 07/03/17; aceptado: 19/02/18

#### Contribución de los autores:

María Alejandra Montoya-Giraldo: asesoría en el diagnóstico y manejo del paciente  
Dayana Vanessa Montoya y David Alexander Atehortúa: consecución de la información adicional relevante  
Jefferson Antonio Buendía y Andrés Felipe Zuluaga: discusión del caso  
Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

puede accederse mediante la herramienta gratuita en línea VigiAccess™, en febrero de 2017 había 41.918 reportes de casos de reacciones adversas relacionadas con el salbutamol, de los cuales 23.043 (55 %) ocurrieron en mujeres y 15.389 (37 %) en hombres, siendo el continente americano donde se originaron 29.016 (69 %) de todos los reportes.

Entre los signos y síntomas adversos que se reportan con mayor frecuencia, se mencionan la disnea y el asma en 6.743 (16 %) casos, la taquicardia o las palpitaciones en 3.465 (8 %), el temblor en 3.326 (8 %), la tos en 1.865 (4 %), la cefalea en 1.072 (3 %) y la neumonía en 1.028 (2 %). Solo se encontraron 30 reportes de alteraciones motoras en dicha base de datos. Las mioclonías inducidas por fármacos, aunque infrecuentes y poco reportadas en la literatura médica, pueden afectar de forma significativa la salud de los pacientes.

En este reporte se describe el caso de un paciente de 61 años con múltiples comorbilidades y sin antecedentes de alteraciones motoras, el cual presentó un cuadro de mioclonías probablemente asociadas con el salbutamol.

### **Consideraciones éticas**

Se obtuvo la firma del consentimiento informado del paciente para la publicación del caso clínico. Además, se solicitó el permiso del Hospital La María E.S.E. de Medellín y del médico tratante, para recolectar y usar los datos clínicos.

### **Caso clínico**

El caso se documentó siguiendo las recomendaciones de las guías CARE (*CASE Report*) (3). Se trataba de un paciente de sexo masculino de 61 años de edad, caucásico, que consultó al servicio de urgencias por un cuadro clínico de dos días de evolución de temblor en reposo y en movimiento, que afectó primero las extremidades superiores, se extendió luego a los miembros inferiores y, posteriormente, se acompañó de movimientos bruscos, involuntarios, de corta duración, asociados con temblor postural.

El paciente presentaba enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) desde hacía 11 años, con disnea de mínimos esfuerzos, y en el momento de la atención en urgencias, requirió oxígeno. Además, había sufrido un infarto agudo de miocardio 20 años antes, el cual no había dejado secuelas, tenía hipertensión arterial sistémica esencial y, ocho

meses antes de que comenzaron los temblores, había manifestado dolor neuropático en la zona precordial izquierda irradiado a la espalda, la faringe y el cuello, el cual requería tratamiento diario con hidromorfona.

Entre los antecedentes toxicológicos, el paciente refirió haber consumido cocaína, marihuana y heroína hasta los 30 años, y hasta 11 años antes, solía ingerir 750 ml de aguardiente (alcohol al 29 %) y dos paquetes de cigarrillos diarios.

En el momento de su ingreso a urgencias, el paciente consumía diariamente acetaminofén (3 g), enalapril (10 mg), propanolol (40 mg), omeprazol (20 mg), lorazepam (4 mg), fluoxetina (20 mg) y bromuro de tiotropio (18 µg), así como salmeterol y fluticasona dos veces al día (50/250 µg) y salbutamol según necesidad. El paciente refirió que, en los cuatro días previos al ingreso, había hecho cinco inhalaciones de salbutamol cada dos a tres horas.

En el examen físico de ingreso presentaba estabilidad hemodinámica, estaba alerta, orientado y recibía oxígeno al 40 % a razón de 12 l/minuto utilizando una mascarilla de Ventury. En cuanto a los signos neurológicos, presentaba disartria y movimientos generalizados, bruscos e involuntarios que le impedían permanecer sedente. Las pupilas eran isocóricas y con reacción normal, sin desviación de la mirada ni pérdida de la conciencia. No tenía hemiparesia ni parálisis de nervios craneales.

Los médicos tratantes señalaron inicialmente que presentaba temblor, el cual estaba en estudio, y enfermedad pulmonar obstructiva crónica decompensada. Solicitaron exámenes de sangre y solo se encontró elevación del potasio a 5,48 mmol/L (valores de referencia entre 3,5 y 4,5). Además, se le practicó una tomografía computadorizada de cráneo, en la cual no se encontró ninguna anomalía. El electrocardiograma tampoco evidenció anomalías y no hubo reportes de exámenes adicionales.

Cuando se intentó retirar el oxígeno, el paciente no lo toleró y, como continuaba presentando disnea, se le administraron 0,5 ml de salbutamol al 0,5 % (5 mg/ml) diluido en 2,5 ml de solución salina normal en forma de vaporización, la cual se repitió cada 15 minutos hasta alcanzar una dosis de 2,5 mg/hora. Posteriormente, se le administraron 10 gotas del medicamento (equivalentes a 2,5 mg) diluidas en 2,5 ml de solución salina normal, para un total de

2,5 mg/hora durante cuatro horas más y, después, se le prescribió una dosis de mantenimiento de dos inhalaciones de salbutamol (200 µg en total) cada dos horas durante 24 horas más.

El paciente recibió, asimismo, vaporizaciones con 0,25 mg de bromuro de ipratropio mg y 0,5 mg de fenoterol, así como 10 gotas de los medicamentos en 3 ml de solución salina cada ocho horas (0,375 y 0,75 mg/día, respectivamente), 500 mg de metilprednisolona en ampolla cada ocho horas y 2 mg de lorazepam cada 12 horas.

Las siguientes fueron las dosis diarias totales de agonistas  $\beta_2$ : en vaporización, 2,5 mg de salbutamol, y en gotas, 10 mg de salbutamol; y con inhalador, 2,4 mg de salbutamol y 0,75 mg de fenoterol, es decir, 15,65 mg de agonistas  $\beta_2$  en 24 horas, aproximadamente; la cantidad diaria de salbutamol administrada fue equivalente a la mitad de la dosis diaria máxima recomendada.

Ante la persistencia de las mioclonías y la ausencia de mejoría clínica, el médico tratante se contactó con el Centro de Información y Estudio de Medicamentos y Tóxicos (CIEMTO) y solicitó asesoría. Los médicos expertos en farmacología y toxicología sugirieron que las mioclonías podían deberse a las altas dosis de agonistas adrenérgicos  $\beta_2$ , por lo que recomendaron suspenderlos.

A los dos días, el paciente presentó una mejoría clínica parcial, por lo que, tras una nueva consulta a dicho Centro, se estableció que solo le habían suspendido el salbutamol, no el fenoterol, y se les recomendó suspender este también. No hubo ningún otro cambio ni sugerencia sobre la medicación que venía recibiendo el paciente.

Las mioclonías desaparecieron espontáneamente al día siguiente de la suspensión del fenoterol y el paciente pudo ser dado de alta. Durante los siguientes siete meses, no volvió a presentar mioclonías, pero al cabo de este tiempo falleció como consecuencia de una neumonía complicada asociada con su enfermedad de base.

## Discusión

Las mioclonías son alteraciones motoras hipercinéticas, consistentes en contracciones musculares involuntarias, repentinas, breves y rápidas, cuyo origen principal está en el sistema nervioso central (4). Estas pueden ser la manifestación de una extensa variedad de condiciones médicas con diferentes localizaciones y mecanismos fisiopatológicos, y varios tipos pueden coexistir en un mismo paciente.

Se clasifican según la zona del sistema nervioso en que se originan, como corticales, subcorticales o reticulares y espinales. Las corticales se deben a una descarga neuronal situada en la corteza motora, sin que la lesión o el agente desencadenante se encuentre necesariamente en el mismo lugar; además, pueden tener diferentes etiologías, como enfermedades degenerativas, mitocondriales o por depósito en los lisosomas, y encefalopatías posteriores a lesiones anóxicas, de origen tóxico, metabólicas o causadas por fármacos (5).

Existen una gran variedad de fármacos cuya acción se focaliza en el sistema nervioso central y que se relacionan con la aparición de mioclonías. Poco se sabe sobre la frecuencia de esta reacción adversa, ya que la mayoría de los datos proviene de reportes de casos espontáneos. Entre los medicamentos que pueden inducir mioclonías, se encuentran anestésicos como el etomidato, con una frecuencia de 32 % (6), los medicamentos para el Parkinson, los antidepresivos, los agentes bloqueadores de dopamina, los opiáceos y los ansiolíticos, entre otros (7).

En un estudio en Francia en el que se analizaron las bases de datos nacionales sobre las reacciones adversas a los medicamentos, se encontraron 185.634 eventos reportados en un periodo de 20 años, catalogados como posibles, probables o definitivos, de los cuales solo 423 (0,2 %) correspondieron a mioclonías (8).

La revisión de artículos en Pubmed/Medline, utilizando los términos "myoclonus" y "albuterol" (salbutamol), permitió detectar dos artículos relacionados con el tema. En el primero, la aparición de mioclonías se asoció con altas concentraciones de gabapentina en suero (9). En el segundo, Micheli, *et al.*, describieron tres casos en los cuales el inicio y la remisión de las mioclonías se asociaron con el uso y la posterior suspensión de las altas dosis de salbutamol.

Estos autores consideraron que otros factores que coexistían en los pacientes (enfermedad cardiovascular, hipoxia, hematomas subdurales y tumores malignos), podían haber contribuido a la aparición de la reacción adversa. Señalaron, asimismo, que los pacientes habían recibido las dosis de salbutamol debido a episodios graves de crisis respiratorias y que, a las pocas horas, habían comenzado a presentar mioclonías que cedieron cuando el medicamento se suspendió. De todas maneras, en ningún caso se hicieron mediciones de las concentraciones séricas del fármaco (10).

Al comparar el caso que se presenta con los reportados en estos artículos, se evidencian varias características en común: la presencia de comorbilidades, la edad avanzada de los pacientes, las altas dosis diarias acumuladas de salbutamol y la remisión de las mioclonías con la suspensión del fármaco, así como la ausencia de medición de las concentraciones séricas del medicamento, lo que en nuestro medio se debe a las limitaciones para la realización oportuna de dicho examen.

Aunque en este caso el paciente recibió otros medicamentos, como los opioides, que también podrían haber estado asociados con la aparición de las mioclonías, solo con la suspensión de los agonistas beta-adrenérgicos se obtuvo su resolución clínica y, dado que el paciente siguió siendo tratado ambulatoriamente con otros medicamentos sin que reapareciera la sintomatología, la posibilidad de atribuirle la reacción adversa a un producto diferente al salbutamol se redujo.

Según la clasificación de causalidad de la OMS, las reacciones adversas se categorizan como probables cuando los signos clínicos tienen una secuencia temporal acorde con la administración del medicamento y la posterior recuperación al suspender el fármaco. Consideramos que este caso clínico se ajusta a dicha definición (11).

Según el algoritmo de Naranjo para evaluar la causalidad de una reacción adversa por medicamentos, el caso alcanzó un puntaje de 6, que también lo categoriza como un efecto probable (12). Debido a que no hubo una nueva exposición a un agonista adrenérgico  $\beta_2$ , no fue posible calificar el efecto como definitivo.

Otra consideración relevante en el presente caso es la posibilidad de interacciones medicamentosas debido a los múltiples fármacos administrados, lo cual podría explicar parcialmente el cuadro clínico. Sin embargo, ninguna de las interacciones con los otros medicamentos, ni ninguna condición neurológica del paciente, pudieron explicar las mioclonías.

Aunque poco se sabe sobre la asociación entre las mioclonías y el salbutamol (10,13), es posible que el mecanismo de acción de este medicamento en el sistema nervioso central esté involucrado en la génesis de las mioclonías. Aunque en las dosis terapéuticas el blanco molecular del salbutamol es el músculo liso bronquial, dicha selectividad se pierde con dosis (concentraciones) altas que desencadenan la acción del salbutamol como agonista selectivo de los receptores  $\beta_2$  en dicho

tejido, estimulando masivamente todo los tipos de receptores beta, lo que deriva en un aumento de la actividad adrenérgica corporal (10). Se ha propuesto que el estímulo excesivo de los receptores catecolaminérgicos del sistema nervioso central, induce convulsiones y, por supuesto, mioclonías (13-15).

Se deben mencionar las limitaciones que hubo en este caso como fue la imposibilidad de seguir recabando información por la muerte del paciente, lo que tampoco permitió obtener muestras sanguíneas cuyo análisis pudiera haber correlacionado algún defecto genético con los hallazgos clínicos. Además, no fue posible establecer si la presencia de comorbilidades y el consumo de otros medicamentos con acción sobre el sistema nervioso central, contribuyeron o no a la aparición de la reacción adversa.

Hasta donde se sabe, este sería el cuarto reporte de un caso de mioclonías asociadas con salbutamol, lo cual resalta la importancia de esta reacción adversa, y debería estimular a los profesionales de la salud a incluirla entre los posibles diagnósticos diferenciales cuando observen el inicio de mioclonías *de novo*, sin otra asociación clara, en un paciente adulto con enfermedad pulmonar obstructiva crónica que reciba altas dosis de salbutamol.

### Agradecimientos

Al Hospital La María, a los médicos tratantes de dicha institución y a la familia del paciente por manifestar su interés en aportar al conocimiento médico con la firma del consentimiento informado para la publicación de este caso.

### Financiación

Este trabajo fue financiado por la Universidad de Antioquia.

### Conflicto de intereses

Los autores no tienen conflictos de intereses relacionados con el contenido del manuscrito.

### Referencias

1. **Palmer E.** Top 20 generic molecules worldwide: Fierce Pharma. Fecha de consulta: 30 de enero de 2018. Disponible en: <https://www.fiercepharma.com/special-report/top-20-generic-molecules-worldwide>
2. **Cazzola M, Page CP, Rogliani P, Matera MG.**  $\beta_2$ -agonist therapy in lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013; 187:690-6. <https://doi.org/10.1164/rccm.201209-1739PP>
3. **Gagnier JJ, Kienle G, Altman DG, Moher D, Sox H, Riley D, et al.** The CARE guidelines: Consensus-based clinical case reporting guideline development. *BMJ Case Rep.* 2013. <https://doi.org/10.1136/bcr-2013-201554>

4. **Kojovic M, Cordivari C, Bhatia K.** Myoclonic disorders: A practical approach for diagnosis and treatment. *Ther Adv Neurol Disord.* 2011;4:47-62. <https://doi.org/10.1177/1756285610395653>
5. **Fahn S, Marsden CD, van Woert MH.** Definition and classification of myoclonus. *Adv Neurol.* 1986;43:1-5.
6. **Forman SA.** Clinical and molecular pharmacology of etomidate. *Anesthesiology.* 2011;114:695-707. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181ff72b5>
7. **Jiménez-Jiménez FJ, Puertas I, de Toledo-Heras M.** Drug-induced myoclonus: Frequency, mechanisms and management. *CNS Drugs.* 2004;18:93-104.
8. **Brefel-Courbon C, Gardette V, Ory F, Montastruc JL.** Drug-induced myoclonus: A French pharmacovigilance database study. *Neurophysiol Clin.* 2006;36:333-6. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2006.12.003>
9. **Pierce DA, Holt SR, Reeves-Daniel A.** A probable case of gabapentin-related reversible hearing loss in a patient with acute renal failure. *Clin Ther.* 2008;30:1681-4. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2008.09.004>
10. **Mícheli F, Cersósimo MG, Scorticati MC, Vélez M, González S.** Myoclonus secondary to albuterol (salbutamol) instillation. *Neurology.* 2000;54:2022-3.
11. **Holloway K, Green T, World Health Organization.** Drug and therapeutics committees: A practical guide. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2003. p. 146.
12. **Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, Sandor P, Ruiz I, Roberts EA, et al.** A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther.* 1981;30:239-45. <https://doi.org/10.1038/clpt.1981.154>
13. **Levy A, Chen R.** Myoclonus: Pathophysiology and treatment options. *Curr Treat Options Neurol.* 2016;18:21. <https://doi.org/10.1007/s11940-016-0404-7>
14. **Toro C, Hallett M.** Pathophysiology of myoclonic disorders. En: *Movement disorders: Neurologic principles and practice.* Tercera edición. Watts RL, Koller WC (editores) New York: McGraw-Hill; 2004. Capítulo 38.
15. **Hagen N, Swanson R.** Strychnine-like multifocal myoclonus and seizures in extremely high-dose opioid administration: Treatment strategies. *J Pain Symptom Manage.* 1997;14:51-8. [https://doi.org/10.1016/S0885-3924\(97\)00001-8](https://doi.org/10.1016/S0885-3924(97)00001-8)

## PRESENTACIÓN DE CASO

# Variante patogénica homocigótica del gen *BBS10* en un paciente con síndrome de Bardet-Biedl

Yaqueline Ladino<sup>1,2</sup>, Johanna Galvis<sup>1,2</sup>, Diana Yasnó<sup>3</sup>, Adriana Ramírez<sup>3</sup>, Orietta Ivonne Beltrán<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Genética, Grupo de Investigación GenHOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia-HOMI, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Maestría en Genética Humana, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación BioGenEtica & BioDerecho, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia

El síndrome de Bardet-Biedl es una enfermedad hereditaria, autosómica recesiva, con gran heterogeneidad de *locus*, que pertenece a las denominadas ciliopatías, denominadas así por la deficiencia funcional presente y porque las proteínas afectadas se localizan en el cilio primario. El síndrome afecta múltiples sistemas, con compromiso visual, renal, cognitivo, esquelético y gonadal, y obesidad. Este síndrome presenta una gran variabilidad intrafamiliar e interfamiliar.

Se presenta el caso clínico de un paciente adolescente con diagnóstico de síndrome de Bardet-Biedl, así como su manejo, los resultados de la secuenciación de 22 genes y el análisis actualizado de la literatura médica.

Se recopiló la información clínica y, previo consentimiento informado, se hizo la prueba de panel de secuenciación multigénica de los genes implicados. El paciente es hijo de la unión de personas consanguíneas. Fue el primer afectado en la familia y presentaba polidactilia posaxial, obesidad, micropene, retinitis pigmentaria y dificultades de aprendizaje.

En el panel multigénico, se identificó la variante patogénica homocigótica c.39\_46del en el gen *BBS10* y otras variantes de genes *BBS* asociadas con la obesidad. Dado que el síndrome de Bardet-Biedl es una enfermedad huérfana rara, interpretar el pleiotropismo y la heterogeneidad de *locus* y de alelos, constituye un reto. La confirmación molecular permite el manejo adecuado de los pacientes, así como el seguimiento y el asesoramiento genético apropiados.

**Palabras clave:** síndrome de Bardet-Biedl; polidactilia; obesidad; retinitis pigmentosa; discapacidad intelectual; cilios.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.4199>

## A pathogenic homozygous variant of the *BBS10* gene in a patient with Bardet Biedl syndrome

The Bardet-Biedl syndrome is an autosomal recessive hereditary disorder with vast locus heterogeneity that belongs to the so-called ciliopathies, whose proteins are localized in the primary cilia and present functional deficiency. The multisystemic features of the disease include ocular, renal, cognitive, skeletal, as well as gonadal involvement and obesity, among others, with high inter- and intrafamilial variability. We describe the clinical case of an adolescent male patient with Bardet-Biedl syndrome, including the approach, the results from a 22-gene sequencing panel, and the analysis of updated scientific literature. We collected the clinical data of the patient and, after obtaining the informed consent, we conducted a multigenic sequencing panel oriented to known implicated genes.

The patient was born to consanguineous parents and was the first affected member of the family. He presented with postaxial polydactyly, obesity, micropenis, retinitis pigmentosa, and learning disability. The multigenic panel allowed the identification of the homozygous pathogenic variant c.39\_46del in the *BBS10* gene and in other *BBS* genes variants associated with obesity. As the Bardet-Biedl syndrome is a rare disease, it is challenging to interpret its pleiotropism and gene/allelic heterogeneity. Its confirmation by molecular tests allows an adequate approach, follow-up, and genetic counseling of the patient and the family.

**Key words:** Bardet-Biedl syndrome; polydactyly; obesity; retinitis pigmentosa; intellectual disability; cilia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.4199>

## Contribución de los autores:

Yaqueline Ladino y Orietta Ivonne Beltrán: concepción del trabajo, recolección de datos, valoración y discusión del caso clínico

Johanna Galvis: valoración y discusión del caso

Diana Yasnó: revisión del caso y recolección de datos

Adriana Ramírez: discusión del caso, análisis de datos clínicos y moleculares

Todos los autores participaron en el análisis de datos, la revisión de la literatura y la escritura del manuscrito.

En 1865, los oftalmólogos Laurence y Moon describieron una familia de diez hijos (dos fallecidos y cuatro sanos) nacidos de una pareja no consanguínea, que presentaban un cuadro clínico variable compuesto por ceguera nocturna, retinitis pigmentaria, alteración cognitiva, obesidad, hipogonadismo y paraparesia espástica (1). Poco después, en 1920, Bardet reportó casos similares que presentaban, además, polidactilia posaxial. En 1922, Biedl observó, además, malformaciones del sistema digestivo, con lo cual se conformaba lo que entonces se conoció como el síndrome de Laurence-Moon-Bardet-Biedl. Posteriormente, el síndrome fue diferenciado en dos condiciones independientes: por un lado, el síndrome de Laurence-Moon, que cursa con paraparesia espástica, y por el otro, el síndrome de Bardet-Biedl (Online Mendelian Inheritance in Man™ #615987), que se manifiesta con polidactilia posaxial y obesidad, a pesar de la considerable superposición fenotípica entre ambos síndromes (2-7).

El síndrome de Bardet-Biedl es una condición cuya presentación clínica es variada; cursa con compromiso multisistémico (3,4), incluso, en pacientes con el mismo genotipo (6). Por lo general, las personas afectadas no presentan todas las características clínicas, aunque existe un importante pleiotropismo que incluye obesidad, discapacidad visual por distrofia de conos y bastones, malformaciones renales, polidactilia posaxial, alteraciones cognitivas, hipogenitalismo y otras muchas alteraciones del fenotipo (cuadro 1) (5).

Los criterios diagnósticos de este síndrome fueron descritos por Beales, *et al.* en 1999 (5), y fueron posteriormente modificados por Tobin, *et al.*, en 2007 (8). Finalmente, en 2010, Pawlik, *et al.*, recomendaron que el diagnóstico clínico de la entidad debía basarse en la detección de, por lo menos, cuatro características primarias, o de tres primarias y dos secundarias (9).

La etiología del síndrome está relacionada con un conjunto de proteínas que desempeñan un papel básico en la estructura y en la función de los cilios, los cuerpos basales o el transporte intracelular (10). Hasta la fecha, se conocen 22 genes causantes de este síndrome (11,12).

#### Correspondencia:

Luz Yaqueline Ladino, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia, Avenida Caracas N° 1-65, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 381 1970, extensión 307, y (301) 722-8499  
yaqueline.ladino@gmail.com; lyladinoc@unal.edu.co

Recibido: 01/12/17; aceptado: 02/04/18

**Cuadro 1.** Criterios para el diagnóstico del síndrome de Bardet-Biedl. El diagnóstico se basa en cuatro criterios primarios o tres criterios primarios más dos secundarios (1,7).

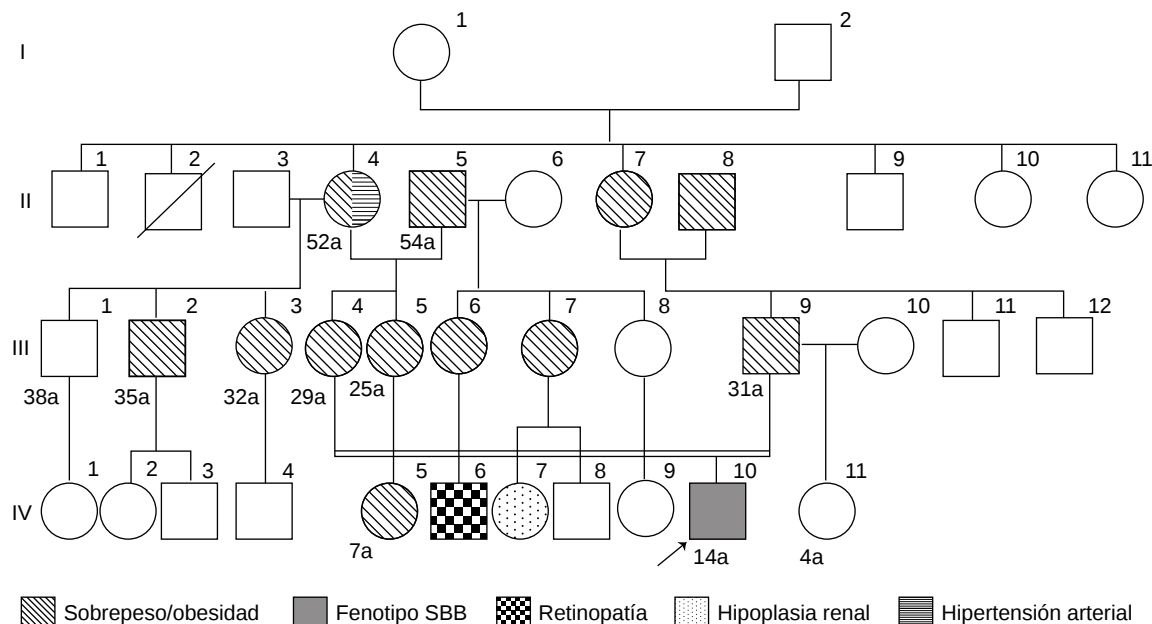
| Criterios mayores                                         | Criterios menores                                   |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Distrofia retiniana temprana                              | Retardo o alteración del lenguaje                   |
| Polidactilia posaxial                                     | Braquidactilia o sindactilia                        |
| Obesidad central                                          | Retardo del desarrollo                              |
| Hipogonadismo en hombres y anomalías genitales en mujeres | Alteración del comportamiento                       |
| Anomalías renales                                         | Anomalías oculares                                  |
| Alteraciones del aprendizaje                              | Poliuria-polidipsia (diabetes insípida nefrogénica) |
|                                                           | Ataxia, coordinación deficiente, desequilibrio      |
|                                                           | Hipertensión leve                                   |
|                                                           | Diabetes mellitus                                   |
|                                                           | Anomalías orodentales                               |
|                                                           | Anomalías hepáticas                                 |
|                                                           | Anomalías cardiovasculares                          |
|                                                           | Anosmia                                             |
|                                                           | Dismorfismo craneofacial                            |
|                                                           | Enfermedad de Hirschsprung                          |

Se presenta el caso de un adolescente con síndrome de Bardet-Biedl, a quien se le hizo seguimiento durante cuatro años y en quien se encontró una mutación poco común en uno de los genes causantes del síndrome y en algunas variantes de la secuencia del ADN de otros también implicados en su aparición. Se discute, además, la posible presencia de un fenotipo intermedio en los familiares no afectados.

#### Caso índice

Se trata de un adolescente de 14 años de edad, hijo de padres consanguíneos que tenían 16 (el padre) y 15 (la madre) años de edad cuando él nació, ambos originarios de Venecia (Cundinamarca) (figura 1). La gestación fue de 38 semanas, sin complicaciones, y la madre refirió movimientos fetales de vigor normal. El parto fue vaginal eutócico y el niño pesó 3.710 g ( $z=0,92$ ).

En el momento del nacimiento, se observó que presentaba polidactilia posaxial bilateral en manos y pies. En cuanto al desarrollo psicomotor, el niño sostuvo la cabeza a los dos meses, se pudo mantener sentado (sedestación) a los 6, gateó a los 8 y deambuló a los 24 meses; no se detectó hipotonía. A los 30 meses de edad, se hizo la corrección quirúrgica de la polidactilia de los pies y de la mano izquierda. Se observó retraso en el desarrollo del lenguaje e intención comunicativa a través de señas, por lo que se inició la terapia



**Figura 1.** Árbol genealógico del paciente con síndrome de Bardet-Biedl. Se observa la consanguinidad parental de primer grado (primos hermanos) en los individuos III.4 y III.9, padres del paciente (relleno gris) (IV.10). En las generaciones II, III y IV, se evidencian individuos con sobrepeso u obesidad (líneas oblicuas) en patrón vertical (II.4, II.5, II.7, II.8, III.2, III.3, III.4, III.5, III.6, III.7, III.9 y IV.5). La abuela materna padece hipertensión arterial sistémica (líneas horizontales) (II.4). Por línea materna hay dos primos hermanos medios del paciente, cada uno con una anomalía mayor: retinopatía no especificada en un varón (cuadrícula en blanco y negro) (IV.6) e hipoplasia renal en una niña (relleno punteado) (IV.7). Según los informes, la hermana por línea paterna, de 4 años de edad, está sana.

de lenguaje; a los tres años de edad, el niño pronunció la primera palabra bisílaba y, además, controló esfínteres. A los cuatro años, se le corrigió el frenillo lingual.

El niño inició la escolarización a los dos años de edad y en los reportes se informó sobre sus dificultades en el aprendizaje de las matemáticas, en la construcción de frases estructuradas y en narrativa, aunque logró aprender a leer y a escribir en el curso de su educación regular con la ayuda de estrategias de inclusión y adaptación curricular.

A partir de los dos años de edad, comenzó a tener sobrepeso, por lo cual se hicieron recomendaciones nutricionales. A los siete años de edad, se le detectó hipotiroidismo, para el cual se administró levotiroxina. Después de varios episodios de otitis media recurrente, se le hizo una miringotomía a los 10 años de edad.

La madre refirió que el niño tenía caídas frecuentes, y disminución de la agudeza visual en la penumbra y en la oscuridad. A los nueve años de edad, el neuropediatra sospechó un síndrome de Prader-Willi o un síndrome de Bardet-Biedl, y lo remitió a consulta genética. El análisis del cariotipo fue normal (46,XY). Los estudios de

los potenciales evocados visuales mostraron un compromiso moderado a grave de la transmisión retino-cortical bilateral y el electroretinograma confirmó una acusada reducción de las reacciones electrofisiológicas de la retina en ambos ojos, con una mínima actividad residual de la función de los conos correspondiente a retinopatía.

En una evaluación del coeficiente intelectual mediante la escala de inteligencia de Weschler para niños (WISC-IV), el paciente obtuvo puntajes de 75 en comprensión verbal, de 71 en memoria de trabajo, de 83 en velocidad de procesamiento, y de 61 en razonamiento perceptivo, para un puntaje total de 66.

A partir de los 10 años, ha sido evaluado en el Servicio de Genética de la Fundación Hospital Pediátrico de La Misericordia (HOMI) y el caso hace parte de la casuística de un estudio descriptivo aprobado por el Comité de Ética de esta institución.

El uso de las imágenes de los estudios previos y de las fotografías médicas del paciente, tomadas durante su evaluación clínica, fue autorizado mediante consentimiento informado firmado por los responsables legales del menor y con su asentimiento, según las recomendaciones para

las investigaciones médicas en seres humanos en Colombia contenidas en las resoluciones 8430 de 1993 (13) y 2378 de 2008 (14) del Ministerio de Salud y en la Declaración de Helsinki (15).

Los siguientes son los resultados del examen físico: peso, 48 kg ( $z=1,28$ ), talla, 138 cm ( $z=-1,02$ ), índice de masa corporal (IMC),  $25,2 \text{ kg/m}^2$  ( $z=2,03$ ), perímetro cefálico, 56 cm ( $z=1,48$ ), tensión arterial, 105/58 mm Hg, y frecuencia cardíaca, 78 por minuto. Se observó una disminución del diámetro bitemporal, así como cejas gruesas arqueadas, hendiduras palpebrales elongadas, sinofris leve, estrabismo, surco nasolabial largo, mejillas llenas, mentón puntiforme, elevación palatina bilateral, acantosis pigmentaria en el cuello, aumento del panículo adiposo abdominal, braquidactilia en manos, clinodactilia del quinto dedo en ambas manos y polidactilia posaxial del tipo de apéndice cutáneo en la mano derecha. En el borde cubital de la mano izquierda, se observó una zona de cicatrización antigua; en los pies se encontraron uñas displásicas y cortas, y en las manos y pies se evidenciaron cicatrices laterales antiguas debidas a la corrección de la polidactilia bilateral (figura 2). No había vello púbico y, además, se observó microfalosomía.

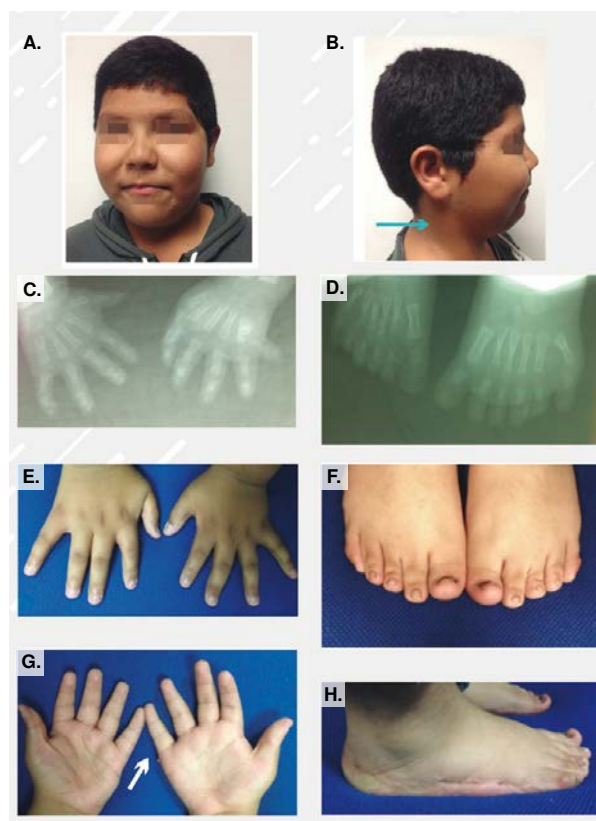
Se estableció el diagnóstico clínico de síndrome de Bardet-Biedl y se continuaron los estudios multidisciplinarios, el seguimiento clínico y los exámenes, para establecer la extensión de la enfermedad y las necesidades individuales del paciente, según las recomendaciones internacionales (3,4).

En los siguientes cuatro años, la ceguera nocturna del paciente avanzó, así como su sobrepeso y, asimismo, presentó alteraciones de su patrón de sueño por los frecuentes ronquidos.

En los estudios iniciales de extensión, se documentó la presencia de hígado graso por ultrasonografía hepática, hipercolesterolemia (colesterol: 239 mg/dl, HDL: 27 mg/dl), hipertrigliceridemia (525 mg/dl), glucemia normal (glucosa en ayunas: 84 mg/dl) con hiperinsulinemia leve (insulina: 39,4 UI/ml) y función tiroidea normal (TSH: 2,96 UI/ml y hormona T4 libre: 1.25 ng/dl). En cuanto a la función renal, se reportaron niveles normales de nitrógeno ureico (BUN: 10 mg/dl) y de creatinina sérica (0,77 mg/dl), el uroanálisis fue normal y los riñones no presentaban alteraciones estructurales en la ultrasonografía. Los valores de microalbuminuria fueron de 89 mg en 24 horas y, los de hiperreninemia, de 36 ng/ml por hora, ante lo cual se reforzaron las recomendaciones de dieta

baja en grasa y se inició la administración de gemfibrozilo, vitamina E y omega 3, así como otras medidas para proteger la función renal.

El electrocardiograma y el ecocardiograma evidenciaron un ritmo sinusal normal y un corazón sin alteraciones estructurales. También, la función biventricular era la adecuada, pero se observó hipertensión pulmonar leve con normotensión arterial durante todo el seguimiento. Se confirmó el síndrome de apnea e hipopnea (índice de 9,5), con lo cual se complementó la evaluación de neumología, y se recomendó extraer las amígdalas.



**Figura 2.** Características fenotípicas del individuo con síndrome de Bardet Biedl. **A.** Fotografía frontal: se observa un diámetro bitemporal estrecho, cejas gruesas arqueadas, hendiduras palpebrales elongadas, estrabismo, surco nasolabial largo, mejillas llenas y mentón puntiforme. **B.** Fotografía lateral: la flecha señala acantosis pigmentaria en el cuello. **C.** Radiografías de las manos a los dos años de edad: se observa polidactilia posaxial en la mano izquierda. **D.** Radiografías de los pies a los dos años de edad: se observa polidactilia posaxial bilateral. **E y G.** Manos: se observa braquidactilia y clinodactilia del quinto dedo en ambas manos, la flecha indica polidactilia posaxial de tipo apéndice cutáneo en la mano derecha. **F y H.** Pies: uñas displásicas cortas y cicatrices laterales antiguas de la corrección de la polidactilia. Las fotografías A y B, y E a H, fueron tomadas a los 13 años de edad, después de la firma de los consentimientos informados.

Durante el seguimiento clínico entre los 11 y los 14 años de edad, la condición metabólica del paciente mejoró, con disminución del colesterol y los triglicéridos (colesterol total: 195 mg/dl; LDL: 146 mg/dl; HDL: 39 mg/dl; TG: 112 mg/dl), y hubo una mejoría significativa de su patrón de sueño después de la adenoidectomía y la tonsilectomía. Su educación escolar ha continuado hasta cursar el tercer grado de secundaria con la ayuda de estrategias de inclusión, adaptación curricular y orientación vocacional para mejorar en el área de matemáticas. Su interacción social con pares ha sido adecuada.

### **Análisis molecular**

Cuando el paciente tenía 13 años de edad, se le solicitó una prueba de ADN con secuenciación de nueva generación (*New Generation Sequencing*, NGS), la cual incluyó el análisis de los 22 genes causantes del síndrome de Bardet-Biedl.

Para la extracción del ADN se utilizó el estuche comercial de QiAgen™ y, para la construcción de genotecas, el estuche Nextera XT™ (Illumina). La secuenciación de las librerías (2 x 150) se hizo en el secuenciador MiSeq (Illumina™).

A continuación, se hizo el análisis bioinformático de las regiones codificantes de los genes descritos. Para el control de calidad de los datos genómicos, se establecieron los siguientes parámetros: 100 % de representatividad de todos los exones del gen, con cobertura mínima de 20X, así como análisis mediante NGS de pequeñas deleciones o inserciones, y mutaciones puntuales en las regiones codificantes de los genes seleccionados y de los sitios de empalme alternativo.

Para el 'llamado de variantes' (*variant calling*), se utilizó el programa Variant Studio™, versión 3.0 (Annovar, Intervar) (16). Las variantes se clasificaron según los criterios del *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (17).

El análisis se centró en las regiones codificantes de los genes *ARL6*, *BBS21* (*C8orf37*), *BBS1*, *BBS10*, *BBS12*, *BBS2*, *BBS4*, *BBS5*, *BBS7*, *BBS9*, *CCDC28B*, *CEP290*, *BBIP1*, *IFT27*, *LZTFL1*, *MKKS*, *MKS1*, *SDCCAG8*, *TMEM67*, *TRIM32*, *TTC8* y *WDPCP* (cuadro 2).

El análisis molecular y el bioinformático se hicieron en el laboratorio de Genetix (<http://www.genetix.com.co/>). Se identificó la variante homocigótica BBS10: NM\_024685.3, c.39\_46delGGCGTTGC,

p.Ala14GlyfsTer79 (A14Gfs\*79), la cual se clasificó como patogénica del tipo PSV1, es decir, de gran peso según los criterios del ACMG (17). No se encontraron reportes sobre esta frecuencia alélica en los artículos consultados, como tampoco en la base de datos de 700 pacientes de control analizados en Genetix. La mutación se analizó *in silico* con tres predictores: *Mutation Taster* (18), *Ensembl Variant effect predictor* (19) e *InterVar* (20), los cuales la catalogan como patogénica. Además, en el análisis molecular se identificaron otras variantes no patológicas en cinco de los genes analizados (cuadro 3).

### **Discusión**

Los hallazgos clínicos y de los distintos exámenes que se le practicaron al paciente, demostraron el cumplimiento de cinco de los criterios primarios (retinitis pigmentaria, polidactilia posaxial, obesidad, micropene y dificultades de aprendizaje), y de cuatro de los criterios secundarios (retardo del desarrollo y en el lenguaje, braquidactilia, estrabismo y anomalías craneofaciales), los cuales son suficientes para sustentar el diagnóstico clínico del síndrome de Bardet-Biedl (cuadro 1) (5,9). Además, el antecedente de consanguinidad parental sugiere un patrón hereditario autosómico recesivo, tal y como se ha descrito en la mayoría de los casos.

Durante el seguimiento clínico, se evaluó nuevamente el fenotipo del paciente para considerar otros diagnósticos que pudieran superponer características clínicas similares a las de este síndrome. Por ejemplo, se descartó el síndrome de McKusick-Kaufman debido a la ausencia de cardiopatía congénita y anomalías urogenitales en hombres, principalmente, hipospadias y criptorquidia (21). Se descartó, asimismo, el síndrome de Alström, dada la ausencia de la hipoacusia neurosensorial progresiva y la cardiomiopatía dilatada que lo caracterizan; además, la polidactilia no hace parte de este último síndrome (22,23). También, se descartó el síndrome de Joubert, dado que este cursa con hipotonía, apraxia oculomotora, ataxia y pérdida de la regulación del patrón respiratorio neonatal con episodios de hiperpnea y taquipnea; además, con malformaciones típicas en el cerebelo y el tallo cerebral, o rasgos como los quistes renales, la nefronoptosis y, ocasionalmente, encefalocele occipital, fibrosis hepática, colobomas oculares y hamartomas orales. La retinopatía y la polidactilia se han reportado en este síndrome, pero como hallazgos poco frecuentes (24).

**Cuadro 2.** Genes implicados en el síndrome de Bardet-Biedl. Se describen 25 genes involucrados en la función ciliar, de los cuales 22 han sido confirmados como causantes del síndrome. No obstante, existen otros genes responsables del transporte intraflagelar anterógrado, el transporte intraflagelar retrógrado y del cuerpo basal, que podrían estar asociados con la enfermedad. Los genes estudiados mediante el análisis molecular en este caso clínico aparecen en negrilla. Para más detalles de los genes, consultar con el número MIM en la base de datos de OMIM (<http://omim.org>) (3,23-31).

| Gen            | Nombre del locus | Locus      | Función                                                         | Número MIM Gen/locus |
|----------------|------------------|------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------|
| <i>BBS1</i>    |                  | 11q13      | Proteína del BBS-oma                                            | 209901               |
| <i>BBS2</i>    | <i>BBS2</i>      | 16q13      | Proteína del BBS-oma                                            | 606151               |
| <i>ARL6</i>    | <i>BBS3</i>      | 3p12-p13   | GTP-asa<br>Modificador de <i>BBS1</i>                           | 608845               |
| <i>BBS4</i>    | <i>BBS4</i>      | 15q24.1    | Proteína del BBS-oma                                            | 600374               |
| <i>BBS5</i>    | <i>BBS5</i>      | 2q31       | Proteína del BBS-oma                                            | 603650               |
| <i>MKKS</i>    | <i>BBS6</i>      | 20p12      | Parte del complejo de chaperonas                                | 604896               |
| <i>BBS7</i>    |                  | 4q27       | Proteína del BBS-oma                                            | 607590               |
| <i>TTC8</i>    | <i>BBS8</i>      | 14q32.1    | Proteína del BBS-oma                                            | 608132               |
| <i>PTHB1</i>   | <i>BBS9</i>      | 7p14       | Proteína del BBS-oma                                            | 607968               |
| <i>BBS10</i>   | <i>BBS10</i>     | 12q21.2    | Parte del complejo de chaperonas                                | 610148               |
| <i>TRIM32</i>  | <i>BBS11</i>     | 9q31-q34.1 | Enzimas ligasas E3 de ubiquitina                                | 602290               |
| <i>BBS12</i>   | <i>BBS12</i>     | 4q27       | Parte del complejo de chaperonas                                | 610638               |
| <i>MKS1</i>    | <i>BBS13</i>     | 17q22      | Migración del centríolo                                         | 609883               |
| <i>CEP290</i>  | <i>BBS14</i>     | 12q21.3    | Cuerpo basal: interacción con retinitis pigmentaria             | 610142               |
| <i>WDPCP</i>   | <i>BBS15</i>     | 2p15       | Cuerpo basal: ciliogénesis                                      | 613580               |
| <i>SDCCAG8</i> | <i>BBS16</i>     | 1q43       | Cuerpo basal: interactúa con el gen <i>OFD1</i>                 | 613524               |
| <i>LZTFL1</i>  | <i>BBS17</i>     | 3p21.31    | Proteína del BBS-oma. Regulador negativo del tráfico ciliar     | 606568               |
| <i>BBIP1</i>   | <i>BBS18</i>     | 10q25.2    | Ciliogénesis y estabilización de los microtúbulos citoplásmicos | 613605               |
| <i>IFT27</i>   | <i>BBS19</i>     | 22q12.3    | Transporte intraflagelar                                        | 615870               |
| <i>IFT74</i>   | <i>BBS20</i>     | 9p21.1     | Requerido para la ciliogénesis                                  | 608040               |
| <i>C8ORF37</i> | <i>BBS21</i>     | 8q22.1     | Localizado en la base del cilio                                 | 614777               |
| <i>CCDC28B</i> |                  | 1p35.2     | Modificador de <i>BBS1</i>                                      | 610162               |
| <i>TMEM67</i>  |                  | 8q22.1     | Modificador de <i>BBS14</i>                                     | 609884               |
| <i>ALMS1</i>   |                  | 2p13.1     | Formación y mantenimiento del cilio primario                    | 606844               |
| <i>NPHP4</i>   |                  | 1p36.31    | Requerido para la formación del cilio funcional                 | 607215               |

**Cuadro 3.** Variantes benignas de los genes *BBS2*, *BBS4*, *BBS6*, *BBS12* y *BBS14*, identificadas en el paciente con síndrome de Bardet-Biedl debido a la mutación en el gen *BBS10*

| Variantes *                                  | Gen                            | Estado** | Localización/efecto de la proteína               | Tipo de variante                         | Frecuencia (ExAc)**** |
|----------------------------------------------|--------------------------------|----------|--------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------|
| NM_018848.3:c.534C>T (rs17852625)            | <i>BBS6</i> ( <i>MKKS</i> )    | He       | p.I178I                                          | Sinónima                                 | 0,1433                |
| NM_018848.3:c.1549C>T (rs1547)               | <i>BBS6</i> ( <i>MKKS</i> )    | He       | p.R517C                                          | Con cambio de sentido, benigna           | 0,1441                |
| NM_018848.3:c.1595G>T (rs1545)               | <i>BBS6</i> ( <i>MKKS</i> )    | He       | p.G532V                                          | Con cambio de sentido, benigna           | 0,1437                |
| NM_031885.3:c.367C>T (rs11373)               | <i>BBS2</i>                    | He       | p.I123V                                          | Con cambio de sentido, benigna           | 0,2092                |
| NM_033028.4:c.1061T>C (rs2277598)            | <i>BBS4</i>                    | Ho       | p.I354T                                          | Con cambio de sentido, benigna           | 0,5743                |
| NM_033028.4:c.906T>C (rs12914333)            | <i>BBS4</i>                    | Ho       | p.F302F                                          | Sinónima                                 | 0,9875                |
| NM_033028.4:c.77-6G>A (rs8033604)            | <i>BBS4</i>                    | Ho       | Sitio receptor de empalme de intrón 2***         | Variante en la región de corte y empalme | 0,9831                |
| NM_025114.3:c.853-12_853-11insG (rs71082425) | <i>BBS14</i> ( <i>CEP290</i> ) | Ho       | Inserción en receptor de empalme de intrón 10*** | Variante intrónica-sinónima              | 0,9284                |
| NM_025114.3:c.2268A>G (rs2468255)            | <i>BBS14</i>                   | Ho       | p.S756S                                          | Sinónima                                 | 0,00001415            |
| NM_152618.2:c.1872A>G (rs13102440)           | <i>BBS12</i>                   | Ho       | p.Q624Q                                          | Sinónima                                 | 0,1693                |

\* Nomenclatura de la *Human Genome Variation Society* (HGVS) (Nomenclatura de *Single Nucleotide Polymorphism Database*, dbSNP); \*\* He: heterocigoto; Ho: homocigoto; \*\*\*Efecto en el ARN clasificado como benigno con base en los datos de *Reference SNP* para racimos (*refSNP*) y frecuencia alélica, y del *International HapMap Project*; \*\*\*\*ExAC Browser (Beta) | *Exome Aggregation Consortium* (<http://exac.broadinstitute.org/>)

Como ya se mencionó, el síndrome de Bardet-Biedl es raro, con una prevalencia estimada cercana a un caso por 160.000 personas en Europa (3). Es más frecuente en las poblaciones de beduinos de Kuwait (1:13.500), donde existe una importante endogamia (3,4,25). En las islas danesas Feroe, se ha informado la mayor prevalencia del mundo (1:3.700), debida a una nueva mutación con efecto fundador en un sitio geográfico aislado (26).

Actualmente, se sabe que 22 de los genes que codifican las proteínas estructurales o funcionales de los cilios –las cuales tienen un papel estructural o funcional y forman los cuerpos basales o participan en el tráfico de moléculas intracelulares– son causantes del síndrome de Bardet-Biedl (10-13). Las proteínas codificadas por los genes *BBS1*, *BBS2*, *BBS4*, *BBS5*, *BBS7*, *BBS8*, *BBS9* y *BBS18*, llamadas proteínas BBS, se localizan en el cilio y forman complejos octaméricos estables que configuran el BBS-oma. El BBS-oma es indispensable para la ciliogénesis y la transducción de señales intracelulares (cuadro 2) (27-35). Otras proteínas BBS actúan como modificadoras y chaperonas, necesarias en el ensamblaje del BBS-oma, y participan activamente en el transporte intraflagelar, mecanismo de transporte celular bidireccional de los cilios fundamental en numerosos procesos biológicos de las vías de señalización importantes en el desarrollo de diferentes tejidos y órganos (cuadro 2) (27-35). El conocimiento sobre las proteínas implicadas y su participación en esta enfermedad sigue en constante desarrollo (29,30).

En el presente caso, se encontró una mutación patogénica en el gen *BBS10* (OMIM 610148). Este gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 (*locus* 12q21.2) y comprende dos exones. La proteína se denomina BBS10 y contiene 723 aminoácidos (~81 kDa) (30,36), cuenta con dos dominios TCP-1 (Pfam), que también están presentes en proteínas de la familia de las chaperonas, cuya función se asocia con su plegamiento. Esta proteína, así como la BBS6 y la BBS12, hacen parte de la superfamilia de chaperonas de tipo II, se asocian con las proteínas CCT/TRiC y forman el complejo de chaperonas BBS (31,37-42). La mayoría de las características clínicas humanas del síndrome de Bardet-Biedl, se han encontrado en estudios del modelo en ratones *Bbs10*<sup>-/-</sup> (39).

El estudio molecular, con un panel multigénico de 22 genes causales del síndrome, permitió identificar la variante patogénica homocigótica PVS1 en el gen *BBS10*. En los artículos consultados,

se describe esta mutación en una familia no consanguínea de etnia caucásica y de origen europeo (40,43). Además, se consultaron las variantes benignas identificadas en el paciente y se exploró su papel como factores genéticos modificadores del fenotipo.

La variante patogénica c.39\_46delGGCGTTGC (p.Ala14GlyfsTer79 (A14Gfs\*79)) identificada en el gen *BBS10*, corresponde a una delección de ocho nucleótidos que afecta el primer exón, el cual sería el causante del cambio en el marco de lectura a partir del aminoácido 14, con el reemplazo de un residuo de alanina por uno de glicina, así como del corrimiento del marco de lectura de la traducción de los aminoácidos subsiguientes para, finalmente, presentar un codón de parada anticipada en la posición 79. De esta manera, se traduce una proteína muy corta (al menos del 10 % de la cadena del polipéptido), la cual carece de los dominios TCP-1, por lo cual se codifica como una proteína probablemente no funcional.

Como perteneciente al grupo de chaperonas moleculares, la proteína BBS10 tiene como función principal reconocer y seleccionar su unión a péptidos de síntesis reciente (42). Se ubica en el citosol de los organismos eucariotas e interactúa con otras chaperonas llamadas CCT, formando el complejo de chaperonas BBS (41). Las chaperonas BBS previenen la agregación durante el plegamiento de cadenas de polipéptidos recién sintetizadas, evitan interacciones no deseadas con otros componentes celulares, y dirigen el ensamblaje de proteínas de gran tamaño y de complejos multiproteicos. Además, debe mencionarse que, durante situaciones de estrés, potencian el plegamiento de numerosas proteínas (31).

Se ha concluido que la proteína BBS10 es necesaria en la regulación de la interacción de las proteínas BBS6, BBS12 y BBS7 con las proteínas CCT para la formación del complejo de chaperonas BBS. La ausencia o disminución de la BBS10 reduce la interacción de la BBS6 con las proteínas CCT y sus dos subunidades TCP $\alpha$  y TCP $\beta$ , lo cual altera la conformación del BBS-oma, cuya formación debe avanzar en una secuencia ordenada en la que, inicialmente, se unen las proteínas BBS2 y BBS7. Posteriormente, el complejo de chaperonas BBS tiene un papel importante en la estabilización de esta unión, en tanto que, después, la proteína BBS9 se une a este complejo multiproteico y conforma un complejo ternario que corresponde al núcleo del BBS-oma.

En el ensamblaje del BBS-oma, la proteína BBS10 interactúa directamente con las proteínas BBS7 y BBS9 (31,38,41). También, se ha documentado que en su ausencia se presentan niveles bajos de la BBS2. En estudios *in vitro* de células en cultivo con depleción de la BBS10, la asociación entre la BBS2 y la BBS7 con la BBS9 fue muy débil, lo que demuestra que la depleción de la BBS10 conlleva una falla en el ensamblaje del BBS-oma (29,32,38), lo cual era de esperarse en el paciente de este caso.

Por otra parte, Marion, *et al.*, consideran que existe una ciliogénesis transitoria en la diferenciación adipogénica, con lo cual la alteración en las proteínas BBS10 y BBS12 conlleva obesidad. Estos autores describieron un modelo celular adipogénico a partir de fibroblastos de pacientes con síndrome de Bardet-Biedl, en el que observaron cilios primarios en los preadipocitos en diferenciación. Las proteínas BBS10 y BBS12 afectan la ciliogénesis y las vías adipogénicas, como la del receptor *gamma* activado por el factor proliferador de *peroxisomas* (PPAR $\gamma$ ) (33).

En el 2015, Cognard, *et al.*, compararon modelos de ratones *Bbs10*  $-/-$  con ratones normales, y encontraron que presentaban hiperfagia y un aumento en la ganancia de peso a las ocho semanas de vida. Durante el seguimiento, los ratones presentaron hiperleptinemia grave (leptina sérica: 125 ng), sobrepeso a partir de los tres meses de edad (39), degeneración retiniana grave, adelgazamiento de la retina, disminución importante de la rodopsina en el segmento externo, pérdida gradual de los fotorreceptores y un número elevado de núcleos, así como resultados positivos en la prueba de la transferasa desoxinucleotidilo terminal (TdT), lo cual sugiere un acentuado proceso de apoptosis (39). En cuanto al compromiso renal, se observó disminución del grosor de la membrana basal glomerular, con ausencia primaria y secundaria de la estructura de los podocitos, correlacionada con un elevado incremento de la albuminuria (39). Las características descritas en este modelo en ratón fueron similares a las manifestaciones clínicas evidentes en el presente caso.

Asimismo, en la prueba mediante NGS de ADN de los 22 genes causantes del síndrome de Bardet-Biedl, se identificaron 11 variantes polimórficas en cinco de los genes evaluados (*BBS2*, *BBS4*, *BBS6*, *BBS12* y *BBS14*) (cuadro 3). Estas variantes en la secuencia de ADN se analizaron para establecer si constituían factores genéticos modificadores

del fenotipo. Dos de estas, la c.534C>T y la c.1595G>T, se habían detectado en el gen *BBS6* (también denominado gen *MKKS*) del probando, con una presunta relevancia epistática y en estado heterocigótico compuesto.

La primera, c.534C>T, corresponde a una variante sinónima (p.I178=) que no produce cambios en la proteína BBS6, por lo que su comportamiento en las predicciones *in silico* (PolyPhen-2, puntuación: 0.00) (44), se considera benigno (45).

La segunda variante, c.1595G>T, corresponde a una con cambio de sentido debido al reemplazo del aminoácido glicina por valina en el residuo 532 (G532V), cambio que se considera benigno (PolyPhen-2, puntuación: 0.142) (45).

Ambas variantes se han asociado con un incremento de la prevalencia de obesidad, el síndrome metabólico y la hipertensión arterial sistémica en humanos, con base en los resultados de un estudio de casos y controles realizado en Grecia en 220 individuos obesos (IMC=30 kg/m<sup>2</sup>) y en 330 personas no obesas como control (cuadro 3) (46).

En la genealogía del paciente del caso en estudio se observó que varios familiares presentaban el fenotipo de obeso sin tener el síndrome de Bardet-Biedl, y aunque estos no fueron valorados para validar la hipótesis, llamó la atención la recurrencia del fenotipo de obeso en los familiares, lo cual será objeto de estudios posteriores.

También se detectó en el caso índice la variante c.367A>G (p.I123V) en el gen *BBS2* en estado heterocigoto, la cual ha sido reportada como benigna (PolyPhen-2, score: 0,0) (45); esta variante se ha identificado en el 4 % de europeos y americanos, y en el 8 % de individuos catalogados como "hispanos" evaluados como controles sanos (34,45). En el 2014, esta variante se identificó en estado homocigótico en uno de los pacientes evaluados por Lindstrand, *et al.*, a quien se le había diagnosticado nefronoptosis confirmada por histopatología, ocasionada por la mutación patológica del gen *NPHP1*, lo que sugiere la interacción génica entre el *BBS2* y el *NPHP1* (34).

Con el fin de comparar otros pacientes con el síndrome de Bardet-Biedl en quienes se hubieran identificado variantes polimórficas asociadas y evaluado su papel en el fenotipo, se hizo una búsqueda de casos del síndrome con confirmación molecular y evidencia de variantes en las proteínas del BBS-oma.

En un estudio publicado en 2013, Ajmal, et al., reportaron cuatro pakistaníes afectados por el síndrome ocasionado por mutaciones homocigóticas en el gen *BBS1* (47). En este estudio, se describían dos familias consanguíneas en las cuales se evidenció variabilidad fenotípica intrafamiliar. En la familia A, dos hermanos (una mujer y un hombre) presentaban la mutación homocigótica c.47+1G>T en el gen *BBS1*, acompañada de nueve variantes más en los genes *BBS2*, *BBS4*, *BBS7*, *BBS9* y *BBS12*. Ambos hermanos presentaban retinopatía pigmentaria, obesidad y problemas del aprendizaje, aunque solo la mujer presentó polidactilia.

Por otra parte, en la familia B, había dos hermanos -hombre y mujer- con el síndrome, ambos con la mutación homocigótica c.442G>A (p.Asp148Asn) y retinopatía pigmentaria, obesidad, problemas del aprendizaje, polidactilia e hipertensión arterial sistémica.

Los autores argumentaron que el efecto modificador de las variantes adicionales de las otras proteínas que conforman el BBS-oma, explicaba la variabilidad clínica observada en la familia A (47). Al comparar estos hallazgos con los del presente caso, hay cuatro variantes que coinciden con las observadas en la familia A: *BBS2* c.367T>C; *BBS4* c.906T>C; *BBS4* 77-6G>A, y *BBS12* c.1872A>G (cuadro 3).

Dichos estudios clínicos sugieren que aún no se han dilucidado los mecanismos subyacentes en las variaciones de expresión del síndrome de Bardet-Biedl y que, probablemente, se presentan alelos modificadores, así como eventos estocásticos. Aunque son grandes los avances logrados en los estudios fisiopatológicos y en el diagnóstico etiológico molecular, así como en la epigenética, las causas de muchos de los casos del síndrome siguen sin poder confirmarse (aproximadamente 20 %). Además, en los artículos publicados se evidencia un número creciente de nuevos genes SBB, así como menor frecuencia de variaciones en el número de copias; estas no se detectan mediante los métodos de secuenciación del ADN (34), lo que dificulta la comprensión de la variabilidad clínica y fenotípica de los afectados por el síndrome de Bardet-Biedl.

La predicción de la presencia de los genes causantes de ciliopatías ha mejorado, y cada vez es más frecuente el uso de herramientas para analizar la secuenciación del exoma completo (*Whole Exome Sequencing*, WGS). En octubre de 2016, Shim, et al., utilizaron una herramienta de

integración bayesiana (DanioNet) que integró ~85 % del genoma codificante de *Danio rerio* y ~61 % del genoma humano ortólogo, en busca de los genes asociados con alteraciones del desarrollo y otras relacionadas con defectos genéticos que alteran la formación o la función de los cilios primarios, y encontraron ocho nuevos genes candidatos, así como algunas variantes raras validadas después experimentalmente, aunque aún faltan pruebas para identificar su posible función ciliar (48).

A pesar de que no hay un tratamiento definitivo para el síndrome de Bardet-Biedl, ni para otras ciliopatías, se han informado resultados favorables en pacientes con otras enfermedades hereditarias que incluyen protocolos de terapia génica para la degeneración retiniana mediante la liberación subretiniana e intravítrea de vectores virales que contienen una copia del gen normal (49-51). La disfunción de conos y bastones es una de las características principales del compromiso retiniano en este síndrome y en otras ciliopatías, y en un futuro cercano se podría contar con herramientas terapéuticas innovadoras para su tratamiento.

En resumen, el síndrome de Bardet-Biedl es una enfermedad huérfana, cuya presentación clínica progresiva, así como las condiciones de discapacidad visual y cognitiva, y las comorbilidades producto de la disfunción metabólica y renal, ameritan la intervención de múltiples especialidades para lograr un manejo óptimo de los pacientes. En el modelo actual del sistema de salud colombiano, la atención es fragmentada y, aunque se está trabajando en ello, todavía no se cuenta con un programa de enfermedades raras (52,53). Por esto, los pacientes que las padecen no disponen de instituciones con la suficiente experiencia, y los recursos humanos y tecnológicos necesarios para su atención.

Aunque el diagnóstico clínico y molecular permite un manejo y un seguimiento apropiados, sigue siendo un reto clínico interpretar el pleiotropismo de los genes causales identificados, el papel de los factores ambientales, así como la heterogeneidad de *locus* y de alelos descrita en este síndrome (35). En el caso que se presenta, se confirmó su carácter autosómico recesivo, lo cual permitió estimar un riesgo de recurrencia de 25 % en eventuales gestaciones futuras de los progenitores. Por otra parte, se prevé la evaluación de otros miembros de la familia extensa para comprobar si son portadores de la variante determinante de obesidad o de la causante del síndrome, con el fin de brindar asesoría a la hora de decidir nuevos embarazos.

En general, el avance científico ha hecho posible identificar enfermedades genéticas con mayor precisión, lo cual permite a los profesionales de la salud un mejor conocimiento del papel de los factores genéticos en los diversos procesos patológicos para, así, proporcionar una asesoría genética adecuada basada en la identificación precisa del mecanismo de herencia, sobre todo cuando se trata de enfermedades con gran heterogeneidad molecular.

### Agradecimientos

Al paciente, a su familia, y a la Gerencia Científica y la Coordinación de Consulta Externa de la Fundación HOMI, por su apoyo para la revisión documental del caso. Al personal que realizó la extracción del ADN, la secuenciación de nueva generación y el análisis bioinformático, en el Laboratorio de Biología Molecular de Genetix. Al equipo de comunicaciones y diseño gráfico de la Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia, por su apoyo para la edición y diagramación de las figuras.

### Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflictos de intereses.

### Financiación

Los recursos de este estudio provinieron del proyecto INVME2084 financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Militar Nueva Granada.

### Referencias

1. **Laurence JZ, Moon RC.** Four cases of "retinitis pigmentosa" occurring in the same family, and accompanied by general imperfections of development. *Obes Res.* 1995;3:400-3. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1995.tb00166.x>
2. **Wilhelm V, Pacheco V.** Síndrome de Laurence-Moon-Biedl. *Rev Chil Pediatr.* 1979;50:77-80. <https://doi.org/10.4067/S0370-41061979000100013>
3. **Forsythe E, Beales PL.** Bardet-Biedl syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2013;21:8-13. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.115>
4. **Forsythe E, Beales PL.** Bardet-Biedl syndrome. *Gene Reviews®* [Internet]. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1363/>
5. **Beales PL, Elcioglu N, Woolf AS, Parker D, Flinter FA.** New criteria for improved diagnosis of Bardet-Biedl syndrome: results of a population survey. *J Med Genet.* 1999;36:437-46. <https://doi.org/10.1136/jmg.36.6.437>
6. **Daniels AB, Sandberg MA, Chen J, Weigel-DiFranco C, Hejtmanick JF, Berson EL.** Genotype-phenotype correlations in Bardet-Biedl syndrome. *Arch Ophthalmol.* 2012;130:901-7. <https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2012.89>
7. **Green JS, Parfrey PS, Harnett JD, Farid NR, Cramer BC, Johnson G, et al.** The cardinal manifestations of Bardet-Biedl syndrome, a form of Laurence-Moon-Biedl syndrome. *N Engl J Med.* 1989;321:1002-9. <https://doi.org/10.1056/NEJM198910123211503>
8. **Tobin JL, Beales PL.** Bardet-Biedl syndrome: beyond the cilium. *Pediatr Nephrol.* 2007;22:926-36. <https://doi.org/10.1007/s00467-007-0435-0>
9. **Pawlik B, Mir A, Iqbal H, Li Y, Nürnberg G, Becker C, et al.** A novel familial BBS12 mutation associated with a mild phenotype: implications for clinical and molecular diagnostic strategies. *Mol Syndromol.* 2010;1:27-34. <https://doi.org/10.1159/000276763>
10. **Hostelley TL, Lodh S, Zaghloul NA.** Whole organism transcriptome analysis of zebrafish models of Bardet-Biedl syndrome and Alström syndrome provides mechanistic insight into shared and divergent phenotypes. *BMC Genomics.* 2016;17:318. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2679-1>
11. **Heon E, Kim G, Qin S, Garrison JE, Tavares E, Vincent A, et al.** Mutations in C8ORF37 cause Bardet Biedl syndrome (BBS21). *Human Mol Genet.* 2016;25:2283-94. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw096>
12. **Lindstrand A, Frangakis S, Carvalho CM, Richardson EB, McFadden KA, Willer JR, et al.** Copy-number variation contributes to the mutational load of Bardet-Biedl syndrome. *Am J Hum Genet.* 2016;99:318-36. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.04.023>
13. **Ministerio de Salud.** Resolución 8430 de 1993. Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/RESOLUCION-8430-DE-1993.PDF>
14. **Ministerio de la Protección Social.** Resolución 2378 de 2008. Por la que se adoptan las buenas prácticas clínicas para las instituciones que conducen investigación con medicamentos en seres humanos. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=31169>
15. **World Medical Association.** Declaración de Helsinki - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 64a Asamblea General, octubre de 2013. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicinas-en-seres-humanos/>
16. **Wang K, Li M, Hakonarson H.** ANNOVAR: Functional annotation of genetic variants from next-generation sequencing data. *Nucleic Acids Research.* 2010;38:e164.
17. **Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al.** Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17:405-24. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
18. **Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D.** Mutation Taster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods.* 2014;11:361-2. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2890>

19. McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GR, Thormann A, *et al.* The Ensemble Variant Effect Predictor. *Genome Biol.* 2016;17:122. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0974-4>
20. Li Q, Wang K. InterVar: Clinical Interpretation of Genetic Variants by the 2015 ACMG-AMP Guidelines. *Am J Hum Genet.* 2017;100:267-80. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.004>
21. Slavotinek AM. McKusick-Kaufman Syndrome. *Gene Reviews®*. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1502/>
22. Marshall JD, Maffei P, Beck S, Barrett TG, Paisey R, Naggert JK. Clinical utility gene card for: Alström Syndrome - update 2013. *Eur J Hum Genet.* 2013;21. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.61>
23. Marshall JD, Paisey RB, Carey C, Macdermott S. Alström syndrome. *GeneReviews®*. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1267/>
24. Parisi M, Glass I. Joubert Syndrome and Related Disorders. *GeneReviews®*. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1325/>
25. Farag TI, Teebi AS. High incidence of Bardet Biedl syndrome among the Bedouin. *Clin Genet.* 1989;36:463-4. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.1989.tb03378.x>
26. Hjortshøj TD, Grønskov K, Brøndum-Nielsen K, Rosenberg T. A novel founder BBS1 mutation explains a unique high prevalence of Bardet-Biedl syndrome in the Faroe Islands. *Br J Ophthalmol.* 2009;93:409-13. <https://doi.org/10.1136/bjo.2007.131110>
27. Nachury MV, Loktev AV, Zhang Q, Westlake CJ, Peränen J, Merdes A, *et al.* A core complex of BBS proteins cooperates with the GTPase Rab8 to promote ciliary membrane biogenesis. *Cell.* 2007;129:1201-13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.053>
28. Loktev AV, Zhang Q, Beck JS, Searby CC, Scheetz TE, Bazan JF, *et al.* A BBSome subunit links ciliogenesis, microtubule stability, and acetylation. *Dev Cell.* 2008;15:854-65. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.11.001>
29. Seo S, Baye LM, Schulz NP, Beck JS, Zhang Q, Slusarski DC, *et al.* BBS6, BBS10, and BBS12 form a complex with CCT/TRiC family chaperonins and mediate BBSome assembly. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:1488-93. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910268107>
30. Cardenas-Rodriguez M, Badano JL. Ciliary biology: understanding the cellular and genetic basis of human ciliopathies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009;151C:263-80. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30227>
31. Young JC, Agashe VR, Siegers K, Hartl FU. Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004;5:781-91. <https://doi.org/10.1038/nrm1492>
32. Álvarez-Satta M, Castro-Sánchez S, Valverde D. Bardet-Biedl syndrome as a chaperonopathy: dissecting the major role of chaperonin-like BBS proteins (BBS6-BBS10-BBS12). *Front Mol Biosci.* 2017;4:55. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00055>
33. Marion V, Stutzmann F, Gérard M, De Melo C, Schaefer E, Claussmann A, *et al.* Exome sequencing identifies mutations in LZTFL1, a BBSome and smoothened trafficking regulator, in a family with Bardet-Biedl syndrome with situs inversus and insertional polydactyly. *J Med Genet.* 2012;49:317-21. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-100737>
34. Lindstrand A, Davis EE, Carvalho CM, Pehlivan D, Willer JR, Tsai IC, *et al.* Recurrent CNVs and SNVs at the NPHP1 locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome. *Am J Hum Genet.* 2014;94:745-54. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.03.017>
35. Priya S, Nampoothiri S, Sen P, Sripriya S. Bardet-Biedl syndrome: Genetics, molecular pathophysiology, and disease management. *Indian J Ophthalmol.* 2016;64:620-7. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.194328>
36. ET, Liu YP, Chan Y, Tiinamäki T, Käräjämäki A, Madsen E, *et al.* A novel test for recessive contributions to complex diseases implicates Bardet-Biedl syndrome gene BBS10 in idiopathic type 2 diabetes and obesity. *Am J Hum Genet.* 2014;95:509-20. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.09.015>
37. Stoetzel C, Muller J, Laurier V, Davis EE, Zaghloul NA, Vicaire S, *et al.* Identification of a novel BBS gene (BBS12) highlights the major role of a vertebrate-specific branch of chaperonin-related proteins in Bardet-Biedl syndrome. *Am J Hum Genet.* 2007;80:1-11. <https://doi.org/10.1086/510256>
38. Zhang Q, Yu D, Seo S, Stone EM, Sheffield VC. Intrinsic protein-protein interaction-mediated and chaperonin-assisted sequential assembly of stable Bardet-Biedl syndrome protein complex, the BBSome. *J Biol Chem.* 2012;287:20625-35. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.341487>
39. Cognard N, Scerbo MJ, Obringer C, Yu X, Cosata F, Haser E, *et al.* Comparing the Bbs10 complete knockout phenotype with a specific renal epithelial knockout one highlights the link between renal defects and systemic inactivation in mice. *Cilia.* 2015;4:10. <https://doi.org/10.1186/s13630-015-0019-8>
40. Stoezel C, Laurier V, Davis EE, Muller J, Rix S, Badano JL, *et al.* BBS10 encodes a vertebrate-specific chaperonin-like protein and is a major BBS locus. *Nat Genet.* 2006;38:521-4. Erratum in: *Nat Genet.* 2006;38(6):727. <https://doi.org/10.1038/ng1771>
41. Leroux MR, Hartl FU. Protein folding: versatility of the cytosolic chaperonin TRiC/CCT. *Curr Biol.* 2000;10:R260-4. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00432-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00432-2)
42. Cuellar JP. Caracterización estructural y funcional de la interacción entre las chaperonas CCT y Hsc70. [disertación]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2008. p. 7-8.
43. Leiden Open Variation Database. Gene BBS10. Fecha de consulta: 17 de marzo de 2018. Disponible en: [https://lovd.euro-wabb.org/variants.php?select\\_db=BBS10&action=view&view=0000955%2C0000029%2C0](https://lovd.euro-wabb.org/variants.php?select_db=BBS10&action=view&view=0000955%2C0000029%2C0)
44. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, *et al.* A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.* 2010;7(4):248-9. <https://doi.org/10.1038/nmeth0410-248>
45. NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP). Exome Variant Server. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>

46. Rouskas K, Paletas K, Kalogeridis A, Sarigianni M, Ioannidou-Papagiannaki E, Tsapas A, *et al.* Association between BBS6/MKKS gene polymorphisms, obesity and metabolic syndrome in the Greek population. *Int J Obes.* 2008;32:1618-25. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.167>
47. Ajmal M, Imran M, Neveling K, Tayyab A, Jaffar S, Sadeque A, *et al.* Exome sequencing identifies a novel and a recurrent BBS1 mutation in Pakistani families with Bardet-Biedl syndrome. *Mol Vis.* 2013;19:644-53.
48. Shim H, Kim JH, Kim CY, Hwang S, Kim H, Yang S, *et al.* Function-driven discovery of disease genes in zebrafish using an integrated genomics big data resource. *Nucleic Acids Res.* 2016;44:9611-23. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw897>
49. Oud MM, Lamers IJ, Arts HH. Ciliopathies: genetics in pediatric medicine. *J Pediatr Genet.* 2017;6:18-29. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1593841>
50. Sengillo JD, Justus S, Tsai YT, Cabral T, Tsang SH. Gene and cell-based therapies for inherited retinal disorders: An update. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2016; 172:349-66. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31534>
51. Sengillo JD, Justus S, Cabral T, Tsang SH. Correction of monogenic and common retinal disorders with gene therapy. *Genes.* 2017;8:53. <https://doi.org/10.3390/genes8020053>
52. Congreso de Colombia. Ley 1392 de 2010. Por medio de la cual se reconocen las enfermedades huérfanas como de especial interés y se adoptan normas tendientes a garantizar la protección social por parte del Estado colombiano a la población que padece enfermedades huérfanas y sus cuidadores. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/ley-1392-de-2010.pdf>
53. De Castro M, Restrepo CM. Genetics and genomic medicine in Colombia. *Mol Genet Genomic Med.* 2015;3:84-91. <https://doi.org/10.1002/mgg3.139>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* asociados con la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México

Sandra Marlen González-Peña<sup>1</sup>, Eduardo Campos-Góngora<sup>1</sup>, Hilda Guadalupe Ávila-Rodríguez<sup>1</sup>, Erik Ramírez-López<sup>1</sup>, Rafael Velázquez-Cruz<sup>2</sup>, Zacarías Jiménez-Salas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México

<sup>2</sup> Laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Ciudad de México, México

**Introducción.** La osteoporosis se caracteriza por una baja densidad mineral ósea; la composición genética es uno de los factores que más influyen en ella, pero hay pocos estudios de genes asociados con esta condición en la población mexicana.

**Objetivo.** Investigar la posible asociación de ocho polimorfismos de un solo nucleótido (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* con la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México.

**Materiales y métodos.** Participaron 124 mujeres de 40 a 80 años, sin parentesco entre ellas. Su densidad mineral ósea se determinó mediante absorciometría dual de rayos X y la genotipificación se hizo utilizando discriminación alélica mediante PCR en tiempo real; se estudiaron cuatro de los SNP del gen *JAG1* (rs6514116, rs2273061, rs2235811 y rs6040061), tres del *MEF2C* (rs1366594, rs12521522 y rs11951031) y uno del *BDNF* (rs6265). El análisis estadístico de los datos obtenidos se hizo por regresión lineal.

**Resultados.** El SNP rs2235811 presentó asociación significativa con la densidad mineral ósea de todo el cuerpo bajo el modelo de herencia dominante ( $p=0,024$ ) y, aunque los otros SNP no tuvieron relación significativa con esta densidad, en ninguno de los modelos de herencia estudiados, se observó una tendencia hacia esta asociación.

**Conclusión.** Los resultados sugieren que el SNP rs2235811 del gen *JAG1* podría contribuir a la variación en la densidad mineral ósea de las mujeres del norte de México.

**Palabras clave:** densidad mineral ósea; osteoporosis; polimorfismo genético; mujeres; México.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.4014>

### *JAG1*, *MEF2C* and *BDNF* polymorphisms associated with bone mineral density in women from Northern México

**Introduction:** Osteoporosis is characterized by a low bone mineral density. Genetic composition is one of the most influential factors in determining bone mineral density (BMD). There are few studies on genes associated with BMD in the Mexican population.

**Objective:** To investigate the association of eight single nucleotide polymorphisms (SNP) of *JAG1*, *MEF2C* and *BDNF* genes with BMD in women of Northern México.

**Materials and methods:** This study involved 124 unrelated Mexican women between 40 and 80 years old. BMD was determined by dual X-ray absorptiometry. Genotyping was performed using allelic discrimination by real time PCR. We analyzed the SNP of *JAG1* (rs6514116, rs2273061, rs2235811 and rs6040061), *MEF2C* (rs1366594, rs12521522 and rs11951031), and *BDNF* (rs6265) and the data using linear regression.

**Results:** The *JAG1* SNP rs2235811 was associated with the BMD of the total body under the dominant inheritance model ( $p=0,024$ ). Although the other SNPs were not associated with BMD in any of the inheritance models studied, a trend was observed.

#### Contribución de los autores:

Sandra Marlen González-Peña: desarrollo del proyecto, mediciones y redacción del manuscrito

Eduardo Campos-Góngora: desarrollo del proyecto, interpretación de resultados y redacción del manuscrito

Hilda Guadalupe Ávila-Rodríguez: desarrollo del proyecto y determinación de la densidad mineral ósea

Erik Ramírez-López: mediciones de densidad mineral ósea y redacción del manuscrito

Rafael Velázquez-Cruz: análisis de los polimorfismos y redacción del manuscrito

Zacarías Jiménez-Salas: diseño del estudio, análisis de resultados y redacción del manuscrito

**Conclusion:** Our results suggest that the SNP rs2235811 in the *JAG1* gene might contribute to the variation in BMD in women from northern México.

**Key words:** Bone mineral density; osteoporosis; polymorphism, genetic; women; México.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.4014>

La osteoporosis es una alteración esquelética común que se caracteriza por una baja densidad mineral ósea, deterioro de la microarquitectura ósea y un incremento de la propensión a las fracturas, especialmente de cadera, columna vertebral y muñeca (1). Se ha determinado que su relevancia aumenta en relación directa con el envejecimiento de la población, ya que la probabilidad de fracturas relacionadas con esta condición es mayor en mujeres de más de 50 años (2). En México, la osteoporosis representa un serio problema de salud pública; Clark, *et al.*, en el 2009, señalaron que el 17 % de las mujeres y el 9 % de los hombres mayores de 50 años de ese país presentaban osteoporosis y estimaron que para el 2050 la cantidad de casos de fracturas de cadera será de 110.055, lo que representaría un costo sumamente elevado para los sistemas de salud (3).

La patogenia de la osteoporosis es multifactorial, ya que resulta de la interacción de componentes genéticos y ambientales. Se estima que la densidad mineral ósea es de carácter hereditario en más del 60 % de los casos (4,5). En diversos estudios, se han podido identificar múltiples regiones génicas que se asocian con variaciones en la densidad mineral ósea y con la etiología de la osteoporosis, principalmente, en poblaciones con ascendencia europea y asiática (6-8). En el caso de la población mexicana, los estudios de caracterización de los factores genéticos involucrados en la propensión a desarrollar osteoporosis han sido de asociación en series de casos y controles. Los principales genes han sido el del receptor de la vitamina D, *VDR* (9-12), el del receptor de estrógenos alfa, *ER-alfa* (13), el del colágeno de tipo I alfa1, *COL1A1* (14), el de la interleucina 6, *IL-6* (15), el de la calcitonina (16) y el de la proteína 5 relacionada con el receptor de las lipoproteínas de baja densidad (*Low-Density Lipoproteins*, LDL), *LRP5* (17).

En varios estudios sobre la asociación con genes candidatos y del genoma completo (*Genome-Wide*

*Association Study*), se han evidenciado múltiples regiones génicas relacionadas con variaciones en la densidad mineral ósea en algunas poblaciones. Sin embargo, algunos resultados son contradictorios, ya que dichas asociaciones no se repiten en otras poblaciones (6,18). Una de estas regiones se localiza en el gen *MEF2C* (*Miocyte Enhancer Factor 2C*), miembro de la vía de señalización Wnt (19). El producto de este gen participa en la regulación de la expresión de la esclerostina (SOST), la cual controla la actividad osteoblástica (20,21), y se ha sugerido que algunos de sus polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) pueden estar asociados con variaciones de la densidad mineral ósea en el cuello femoral y en ambas caderas en la población europea y asiática, respectivamente (7,8,22).

Otro gen que participa en las variaciones de la densidad mineral ósea es el gen *JAG1*, el cual está involucrado en la diferenciación osteoblástica de las células madre mesenquimales (*Human Mesenchymal Stem Cells*, hMSC) por medio de la vía de señalización canónica Notch (23,24). En recientes informes del *Genome-Wide Association Study*, se ha establecido que el SNP rs2273061 del gen *JAG1* se asocia con una baja densidad mineral ósea en la columna lumbar y en el cuello femoral en sujetos de ascendencia europea y en poblaciones asiáticas (25). En cuanto a los estudios en población mexicana, los grupos de trabajo de Rojano-Mejía y Velázquez-Cruz han investigado la posible asociación del polimorfismo rs2273061 con la densidad mineral ósea en mujeres mestizas mexicanas posmenopáusicas, en la Ciudad de México y en Cuernavaca, respectivamente, sin encontrar asociación (26,27).

Por otro lado, la proteína del factor neurotrófico derivado del cerebro (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*, BDNF) codifica un miembro de la familia de neurotrofinas de factores de crecimiento que están relacionadas con la vía canónica del factor de crecimiento nervioso. En varios estudios se ha demostrado que dicho factor desempeña un papel clave en la diferenciación de los condrocitos, el desarrollo del cartílago y la osteogénesis (28). Se ha reportado que su ARN mensajero (ARNm) se expresa en osteoblastos de ratón (células MC3T3-E1) (29), y que el SNP rs6265,

Correspondencia:

Zacarías Jiménez-Salas, Facultad de Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León, Aguirre Pequeño y Yuriria, s/n. 64460, Monterrey, Nuevo León, México  
[zacarias.jimenezs@uanl.mx](mailto:zacarias.jimenezs@uanl.mx)

Recibido: 10/08/17; aceptado: 05/11/17

relacionado con la fosforilación en el factor neurotrófico derivado del cerebro, está asociado con la densidad mineral ósea en humanos (30). En estudios recientes, se ha descrito que el gen *BDNF* está asociado con las fracturas debidas a la osteoporosis y, en estudios funcionales, se ha demostrado que tiene un papel preponderante en la diferenciación osteoblástica (31).

La población mexicana es una mezcla con una estructura genética compleja; incluye genes de origen nativo americano (51 %), europeo (45,4 %) y africano (3,7 %) (32,33). Dicha complejidad genética se ha puesto de manifiesto en los análisis de las variaciones existentes entre las diferentes regiones geográficas (34) y, por ello, es necesario estudiar detalladamente la estructura poblacional con datos geográficos para evaluar la frecuencia y la prevalencia de enfermedades genéticas en las diversas poblaciones del país.

Delezé, *et al.*, compararon la densidad mineral ósea del cuello femoral y de la columna lumbar de 4.460 mujeres entre los 20 y los 69 años de edad, provenientes de zonas urbanas de México, y concluyeron que la densidad mineral ósea variaba significativamente según la región de la población estudiada: las mujeres del norte tenían una densidad mineral ósea más alta en la columna lumbar que las mujeres del centro o del sur (35).

Dado que son pocos los estudios que examinan la asociación de los SNP y la variación de la densidad mineral ósea, y que estos corresponden a poblaciones del centro del país, el objetivo de este estudio fue examinar la posible asociación de los SNP de los genes *JAG1* (rs2273061, rs6514116, rs2235811 y rs6040061), *MEF2C* (rs12521522, rs11951031 y rs1366594) y *BDNF* (rs6265), con la variación de la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México.

## **Materiales y métodos**

### **Población de estudio**

El grupo de estudio incluyó mujeres nacidas en el norte de México, con antecedentes de, al menos, dos generaciones oriundas de esta región; no se consideraron la raza ni la etnia.

La invitación a participar en el estudio se hizo de forma directa o a través de redes sociales. En total, 180 mujeres de 40 a 80 años de edad respondieron a la invitación y acudieron al Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Se excluyeron las participantes con enfermedades o condiciones que pudiesen tener efecto sobre el metabolismo óseo (trastornos crónicos, enfermedades metabólicas y enfermedades esqueléticas diferentes a la osteoporosis), menopausia precoz (antes de los 40 años), pacientes que utilizaban fármacos con efecto en el metabolismo óseo (terapia de reemplazo hormonal, corticoides, anabolizantes, medicamentos anticonvulsivos e inhibidores de la resorción ósea); además, como lo sugieren Deng, *et al.* (36), para este tipo de estudios, se excluyeron las mujeres con parentesco familiar, con lo cual se incluyeron 124 mujeres aparentemente sanas.

El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación de la Facultad de Salud Pública y Nutrición (14-FaSPyN-SA-07), y se obtuvo el consentimiento informado de todas las participantes según lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud de México en materia de investigación para la salud (37).

### **Determinación de la densidad mineral ósea**

La determinación de la densidad mineral ósea de todo el cuerpo, en ambas caderas, en el cuello femoral, en el triángulo de Ward, en el trocánter, en la columna lumbar antero-posterior, L1-L4 y L2-L4, se hizo mediante absorciometría dual de rayos X utilizando el densitómetro Lunar Prodigy Advance™, modelo 301264, (GE Healthcare), según el protocolo proporcionado por el fabricante. Las mediciones se presentan en gramos por centímetro cuadrado (g/cm<sup>2</sup>).

### **Genotipificación**

La extracción del ADN genómico a partir de muestras de sangre periférica de las participantes, se hizo utilizando el estuche comercial QIAamp DNA Blood Maxi Kit™ (QIAGEN Inc., Valencia, CA), según las instrucciones del fabricante.

Los SNP se seleccionaron de acuerdo con los siguientes criterios: una frecuencia del alelo menor (*Minor Allele Frequency*, MAF) de más del 5 % en población caucásica, aquellos previamente asociados con la densidad mineral ósea en estudios de asociación con el gen candidato, en el *Genome-Wide Association Study* y en metaanálisis.

La genotipificación de los SNP se hizo mediante ensayos de discriminación alélica, utilizando las siguientes sondas TaqMan™ ya diseñadas (Applied Biosystems, Foster City, CA): C\_29449322\_10 para rs6514116, C\_16177763\_10 para rs2273061, C\_1265674\_1\_ para rs2235811 y C\_1265679\_20

para rs6040061 en el gen *JAG1*; C\_3297670\_10 para rs1366594, C\_2836624\_10 para rs12521522, C\_2836609\_10 para rs11951031 en el gen *MEF2C*, y C\_11592758\_10 para rs6265 del gen *BDNF*.

Cada sonda TaqMan™ consta de un solo tubo listo para su uso, el cual contiene dos oligonucleótidos específicos de la secuencia para amplificar el SNP de interés, dos sondas TaqMan™ específicas para la detección de los alelos del SNP, una marcada en el extremo 5' con el fluoróforo VIC™ para el alelo 1 y con FAM™ para el alelo 2. Además, ambas sondas contienen en el extremo 3' una molécula apagadora (*quencher*) unida al fluoróforo TAMRA™, el cual inhibe la emisión de la fluorescencia mientras la sonda permanece intacta.

Durante la reacción de PCR, hay hibridación de los oligonucleótidos con una secuencia específica del molde de ADN; si este contiene la secuencia polimórfica, la sonda TaqMan también presenta hibridación con su secuencia homóloga. En la PCR, la enzima AmpliTaqGold, que tiene actividad tanto de la ADN polimerasa como de la exonucleasa 5' → 3', es capaz de digerir la sonda marcada durante la amplificación y liberar al fluoróforo de la acción del *quencher*, por lo que, bajo las condiciones utilizadas durante la reacción, solo la sonda específica para el SNP presente sufre hibridación. De esta forma, es posible diferenciar un alelo del otro con base en el tipo de fluorescencia emitida.

Las reacciones de PCR se hicieron en un volumen final de 5 µl cada una, siguiendo el protocolo del fabricante; se llevaron a cabo en una placa de 96 pocillos en un sistema de PCR en tiempo real (StepOnePlus Real-Time PCR System™, Thermo Fisher Scientific, Inc.). El protocolo de amplificación consistió en un ciclo de 10 minutos a 95 °C, seguido de 45 ciclos de 15 segundos a 95 °C y de 60 segundos a 60 °C. Los genotipos se asignaron mediante la detección de fluorescencia específica del alelo con el programa SDS 2.2.3 para la discriminación alélica (Applied Biosystems, Foster City, CA).

### Análisis estadístico

Los datos bioquímicos y antropométricos se presentan como promedios y desviaciones estándar. Las frecuencias genotípicas y alélicas de todos los SNP se expresaron como porcentajes. Para descartar la subestructura genética de la población, se compararon las frecuencias alélicas de los SNP presentes en las mujeres que conformaban la generación 15 (54 a 80 años) y la generación

16 (menores de 53 años), para lo cual, primero se determinó que ambas poblaciones estuvieran en equilibrio de Hardy-Weinberg y, posteriormente, se analizó la similitud en la frecuencia de alelos con la prueba de ji al cuadrado. El equilibrio de Hardy-Weinberg se determinó utilizando el programa de Court (38), disponible en internet.

La asociación entre la densidad mineral ósea y los polimorfismos, se determinó mediante un análisis de regresión lineal simple, ajustando los valores por edad e índice de masa corporal (IMC). En estos análisis se utilizaron los modelos de herencia aditivo (1/1 Vs. 1/2 Vs. 2/2), dominante (1/1 Vs. 1/2 + 2/2) y recesivo (1/1 + 1/2 Vs. 2/2), como lo proponen Iniesta, *et al.* (39). Los análisis estadísticos se hicieron con el programa SPSS™, versión 20 (SPSS, Inc.; Chicago, IL, USA). Los valores de p menores de 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

### Resultados

Las características generales de la población estudiada se presentan en el cuadro 1. En la etapa inicial se analizaron ocho SNP: cuatro del gen *JAG1*, tres del gen *MEF2C* y uno del gen *BDNF*, cuyos detalles se describen en el cuadro 2. Dos de los polimorfismos del gen *MEF2C* resultaron monomorfos en la población estudiada (para el rs12521522 solo se obtuvo el genotipo TT y, para el rs11951031, solamente el genotipo CC), por lo que fueron excluidos de los análisis posteriores.

Para descartar la existencia de subestructuras genéticas y, dado que la ciudad de Monterrey fue fundada en 1596 y hasta el momento han transcurrido 17 generaciones, se compararon las frecuencias alélicas de los SNP presentes en las generaciones 15 (mujeres de 54 a 80 años, n=103) y 16 (mujeres de 40 a 53 años, n=21). En general, en las dos generaciones la distribución alélica de los SNP analizados fue similar, observándose valores de p entre 0,19 y 0,52; ambas poblaciones estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg (p entre 0,51 y 0,99). El único SNP que no cumplió con esta condición fue el rs6265 del gen *BDNF* (p=0,01 y p=0,03 para las generaciones 15 y 16, respectivamente).

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos en la población total, se muestran en el cuadro 3. Se observó que los polimorfismos de los genes *JAG1* y *MEF2C* se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg, en tanto que el correspondiente al gen *BDNF* no cumplía con esta condición.

**Cuadro 1.** Características generales de la población estudiada

| Variable                 | Media (DE)    |
|--------------------------|---------------|
| Edad (años)              | 63,45 (9,02)  |
| Peso (kg)                | 69,34 (13,13) |
| Estatura (cm)            | 154,39 (6,34) |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> ) | 29,14 (4,95)  |
| Grasa corporal (%)       | 44,69 (6,09)  |
| DMO (g/cm <sup>2</sup> ) |               |
| DMO-CT                   | 1,058 (0,099) |
| DMO-C                    | 0,926 (0,127) |
| DMO-CF                   | 0,862 (0,120) |
| DMO-TW                   | 0,682 (0,137) |
| DMO-T                    | 0,749 (0,115) |
| DMO L1-L4                | 0,999 (0,154) |
| DMO L2-L4                | 1,018 (0,165) |
|                          | n=124         |

DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; DMO: densidad mineral ósea; CT: todo el cuerpo; C: cadera, CF: cuello femoral; TW: triángulo de Ward; T: trocánter; n: número de pacientes.

L1-L4: lumbar 1-4

L2-L4: lumbar 2-4

**Cuadro 2.** Información correspondiente a los polimorfismos de un solo nucleótido analizados en este estudio

| Gen          | Posición del gen | SNP        | Alelo | Posición en el gen |
|--------------|------------------|------------|-------|--------------------|
| <i>MEF2C</i> | 5q14.3           | rs1366594  | C/A   | Intergénico        |
|              |                  | rs12521522 | A/T   | Intrón 4           |
|              |                  | rs11951031 | C/T   | Intrón 3           |
| <i>JAG1</i>  | 20p12.1 – p11.23 | rs6514116  | A/G   | Intrón 4           |
|              |                  | rs2273061  | A/G   | Intrón 3           |
|              |                  | rs2235811  | C/T   | Intrón 3           |
|              |                  | rs6040061  | A/C   | Intrón 3           |
| <i>BDNF</i>  | 11p14.1          | rs6265     | G/A   | Exón 2             |

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

Los resultados de los análisis de regresión lineal con asociación significativa o tendencias de asociación entre los SNP y las variaciones de la densidad mineral ósea, se presentan en el cuadro 4. Solo el rs2235811 del gen *JAG1* se asoció significativamente con variaciones de la densidad mineral ósea de todo el cuerpo, al utilizar el modelo dominante. El resto de los SNP del gen *JAG1* (rs6514116, rs2273061 y rs6040061) mostraron tendencias a asociarse (valores de  $p > 0,050$  y  $< 0,099$ ) con variaciones de la densidad mineral ósea de todo el cuerpo con el mismo modelo. Asimismo, los SNP rs2273061, rs2235811 y rs6040061 mostraron tendencia a asociarse con la densidad del trocánter en el modelo dominante, en tanto que con los rs2235811 y rs6040061 se observaron tendencias de asociación con la densidad mineral ósea del triángulo de Ward en el modelo recesivo.

Por otra parte, el rs1366594 del gen *MEF2C* no mostró asociación estadísticamente significativa con las regiones óseas analizadas; sin embargo, en la columna lumbar (L1-L4) se determinó una tendencia a la asociación con variaciones de la densidad mineral ósea en los modelos aditivo y recesivo; también, se observó esta tendencia a la asociación con la región L2-L4. Por último, con el rs6265 del gen *BDNF* solo se observó una tendencia a la asociación con la región L1-L4 en el modelo de herencia recesivo.

## Discusión

En este estudio se analizó la asociación de ocho polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* con variaciones en la densidad mineral ósea de mujeres del norte de México.

En la población analizada, los SNP rs12521522 y rs11951031 del gen *MEF2C* fueron monomorfos,

**Cuadro 3.** Frecuencias genotípicas, alélicas y valores de p del equilibrio de Hardy-Weinberg de los polimorfismos de un solo nucleótido de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* en mujeres del norte de México

| SNP                                             | Genotipo | Número de pacientes | %    | HWE     |
|-------------------------------------------------|----------|---------------------|------|---------|
| rs6514116<br><i>JAG1</i>                        | A/A      | 42                  | 33,9 | p=0,483 |
|                                                 | A/G      | 57                  | 45,9 |         |
|                                                 | G/G      | 25                  | 20,2 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs2273061<br><i>JAG1</i>  | A        | 141                 | 56,9 | p=0,963 |
|                                                 | G        | 107                 | 43,1 |         |
|                                                 | A/A      | 35                  | 28,2 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs2235811<br><i>JAG1</i>  | A/G      | 62                  | 50,0 | p=0,382 |
|                                                 | G/G      | 27                  | 21,8 |         |
|                                                 | A        | 132                 | 53,2 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs6040061<br><i>JAG1</i>  | G        | 116                 | 46,8 | p=0,965 |
|                                                 | C/C      | 49                  | 40,2 |         |
|                                                 | C/T      | 53                  | 43,7 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs1366594<br><i>MEF2C</i> | T/T      | 20                  | 16,1 | p=0,899 |
|                                                 | C        | 151                 | 61,9 |         |
|                                                 | T        | 93                  | 38,1 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs6265<br><i>BDNF</i>     | A/A      | 45                  | 36,9 | p=0,005 |
|                                                 | A/C      | 58                  | 47,5 |         |
|                                                 | C/C      | 19                  | 15,6 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs1366594<br><i>MEF2C</i> | A        | 148                 | 60,7 | p=0,899 |
|                                                 | C        | 96                  | 39,3 |         |
|                                                 | C/C      | 41                  | 33,1 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs2273061<br><i>JAG1</i>  | C/A      | 60                  | 48,4 | p=0,005 |
|                                                 | A/A      | 23                  | 18,5 |         |
|                                                 | C        | 142                 | 57,3 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs6265<br><i>BDNF</i>     | A        | 106                 | 42,7 | p=0,005 |
|                                                 | G/G      | 90                  | 72,6 |         |
|                                                 | G/A      | 26                  | 21,0 |         |
| Frecuencia alélica<br>rs1366594<br><i>MEF2C</i> | A/A      | 8                   | 6,4  | p=0,005 |
|                                                 | G        | 206                 | 83,1 |         |
|                                                 | A        | 42                  | 16,9 |         |

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

HWE: equilibrio de Hardy-Weinberg

resultados similares a los reportados en estudios de otros autores en la población mexicana (27). Con el rs1366594, el alelo A resultó ser el de menor frecuencia, aunque con una frecuencia superior (0,43) a la encontrada previamente en la población mexicana (0,33) y en la africana (0,14) (27), y fue similar a la de la europea (0,52) y la asiática (0,39) (8,40). Aunque se confirmó la presencia del rs1366594, no se encontró asociación significativa con la densidad mineral ósea de las diferentes regiones corporales analizadas. Este resultado concuerda con lo descrito previamente en la población del centro de México (27), pero difiere de los resultados obtenidos por Park, *et al.* (23), quienes reportaron una asociación de este SNP con la densidad mineral ósea del cuello femoral, pero no con la de la columna lumbar, en una población coreana.

Las frecuencias de los alelos menores de los SNP rs2273061, rs2235811 y rs6040061 del gen JAG1, fueron similares a las reportadas previamente para la población mexicana (26,27); la frecuencia del alelo menor del rs2273061 fue superior a la descrita para la población de Hong Kong (25). Los análisis de asociación de los polimorfismos del JAG1 con la

densidad mineral ósea, revelaron que únicamente el rs2235811 se asociaba con variaciones en la densidad ósea de todo el cuerpo. Estos resultados concuerdan con lo reportado en estudios en mujeres mexicanas posmenopáusicas de origen étnico mestizo en el centro del país, en los que tampoco se encontró una asociación significativa (26,27). Aunque no de manera significativa, algunos SNP mostraron tendencia a asociarse con diferentes regiones óseas, principalmente en el modelo dominante.

Es interesante señalar que los resultados obtenidos, tanto en este estudio como en estudios previos en población mexicana, evidencian que, mientras que el rs2235811 del JAG1 se asoció con variaciones de la densidad mineral ósea, en el resto de los SNP no se observó tal asociación. Estos resultados son completamente antagónicos a los reportados en estudios en poblaciones europeas o asiáticas, en los cuales se ha determinado que los SNP rs2273061 y rs6514116 son los que presentan asociación significativa con la densidad mineral ósea del cuello femoral y la columna lumbar, mientras que con el rs2235811 no se ha observado tal asociación.

**Cuadro 4.** Asociación de los polimorfismos de los genes JAG1, MEF2C y BDNF con la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México

| Polimorfismo de un solo nucleótido | Genotipo      |               |               | Modelo    | $\beta$ (IC <sub>95%</sub> ) | p      |
|------------------------------------|---------------|---------------|---------------|-----------|------------------------------|--------|
| JAG1                               |               |               |               |           |                              |        |
| rs6514116                          | A/A           | A/G           | G/G           |           |                              |        |
|                                    | Media (DE)    | Media (DE)    | Media (DE)    |           |                              |        |
| DMO-CT                             | 1,079 (0,104) | 1,046 (0,093) | 1,064 (0,106) | Dominante | - 0,026 (-0,001; 0,053)      | 0,062  |
| rs2273061                          | A/A           | A/G           | G/G           |           |                              |        |
| DMO-CT                             | 1,081 (0,098) | 1,054 (0,095) | 1,050 (0,114) | Dominante | - 0,028 (0,000; 0,056)       | 0,052  |
| DMO-T                              | 0,776 (0,123) | 0,742 (0,102) | 0,733 (0,128) | Dominante | - 0,032 (-0,005; 0,069)      | 0,087  |
| rs2235811                          | C/C           | C/T           | T/T           |           |                              |        |
| DMO-CT                             | 1,071 (0,102) | 1,040 (0,097) | 1,079 (0,100) | Dominante | - 0,030 (0,004; 0,056)       | 0,024* |
| DMO-TW                             | 0,694 (0,109) | 0,660 (0,145) | 0,722 (0,175) | Recesivo  | 0,042 (-0,091; 0,007)        | 0,093  |
| DMO-T                              | 0,741 (0,119) | 0,731 (0,110) | 0,774 (0,115) | Dominante | - 0,032 (-0,001; 0,066)      | 0,061  |
| rs6040061                          | A/A           | A/C           | C/C           |           |                              |        |
| DMO-CT                             | 1,075 (0,100) | 1,045 (0,098) | 1,074 (0,103) | Dominante | - 0,024 (-0,003; 0,051)      | 0,078  |
| DMO-TW                             | 0,695 (0,108) | 0,659 (0,143) | 0,729 (0,173) | Recesivo  | 0,047 (-0,097; 0,003)        | 0,063  |
| DMO-T                              | 0,771 (0,111) | 0,735 (0,115) | 0,747 (0,119) | Dominante | - 0,029 (-0,005; 0,063)      | 0,099  |
| MEF2C                              |               |               |               |           |                              |        |
| rs1366594                          | C/C           | C/A           | A/A           |           |                              |        |
| DMO L1-L4                          | 1,000 (0,169) | 0,991 (0,143) | 1,027 (0,167) | Aditivo   | 0,034 (-0,069; 0,001)        | 0,057  |
|                                    |               |               |               | Recesivo  | 0,054 (-0,116; 0,009)        | 0,091  |
| DMO L2-L4                          | 1,026 (0,179) | 1,006 (0,153) | 1,049 (0,180) | Aditivo   | 0,032 (-0,070; 0,005)        | 0,092  |
|                                    |               |               |               | Recesivo  | 0,058 (-0,125; 0,009)        | 0,091  |
| BDNF                               |               |               |               |           |                              |        |
| rs6265                             | G/G           | G/A           | A/A           |           |                              |        |
| DMO L1-L4                          | 1,001 (0,159) | 1,032 (0,150) | 0,902 (0,111) | Recesivo  | - 0,084 (-0,014; 0,182)      | 0,092  |

DE: desviación estándar; DMO: densidad mineral ósea; CT: todo el cuerpo; TW: triángulo de Ward; T: trocánter; L1-L4: lumbar 1-lumbar 4; L2-L4: lumbar 2-lumbar 4; \*Diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ )

En cuanto a los polimorfismos del gen *BDNF*, en investigaciones recientes se ha encontrado que el polimorfismo rs6265 se asociaba con variaciones en la densidad mineral ósea (6,30,41). Este SNP se caracteriza por el cambio alélico G/A y, en el estudio de Estrada, *et al.*, de 2012 en varones de Europa y de Asia Oriental, se asoció significativamente con la densidad mineral ósea del cuello femoral, siendo los homocigotos para el alelo de menor frecuencia (A) los que presentaron menor densidad mineral ósea, en comparación con los individuos con el alelo G (GA y GG) (6). En otro estudio, Deng, *et al.* (30), reportaron resultados similares al encontrar una asociación entre el rs6265 y la densidad mineral ósea de ambas caderas en sujetos tanto de origen caucásico como de origen asiático, en tanto que, en los individuos homocigotos AA, se determinaron niveles menores de densidad mineral ósea comparados con quienes presentaban el alelo G (GA y GG).

Por el contrario, en el presente estudio no se encontró asociación entre el rs6265 y la densidad mineral ósea de las mujeres participantes, aunque debe señalarse que este SNP no presentaba el equilibrio de Hardy-Weinberg. La pérdida de dicho equilibrio puede deberse a una baja frecuencia del alelo menor y al método de genotipificación empleado, lo que podría dar lugar a sesgos en la interpretación de los resultados, ya que en ocasiones resulta más fácil detectar un genotipo que otros (39). Esta es una de las posibles razones de no haber encontrado asociación entre el rs6265 y la densidad mineral ósea en la población de estudio, ya que la frecuencia del alelo menor fue muy baja en ella (0,17) y, por ello, estos datos deben tratarse con reserva. Otra posible interpretación de las discrepancias encontradas es que en el estudio de Deng, *et al.*, de 2013, se hizo en varones de origen caucásico y asiático.

Por último, es importante considerar que, en la población estudiada, el alelo que presentó mayor frecuencia fue el G (83,1), el cual se ha asociado con valores de densidad mineral ósea mayores en el cuello femoral en comparación con el alelo A, hallazgo que sugiere que la población incluida en el presente estudio posee un alelo protector frente a los valores bajos de densidad mineral ósea.

La población de México es genéticamente diversa (34,42), por lo que se requieren estudios más detallados de la estructura genética para evaluar la frecuencia y la prevalencia de las enfermedades genéticas más comunes en sus poblaciones

nativas y mestizas. En estudios anteriores, se han reportado diferencias significativas tanto genéticas como fenotípicas según la región geográfica, lo cual evidencia la necesidad de un análisis exhaustivo de las diferentes poblaciones del país.

En conclusión, este es el primer reporte sobre las frecuencias de los polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* en mujeres del norte de México en el que se ha detectado una asociación entre el SNP rs2235811 y la densidad mineral ósea de todo el cuerpo. Sin embargo, debido a la gran diversidad genética de la población mexicana, se requiere de una muestra más grande para confirmar la asociación detectada y tener un cuadro más completo de la predisposición genética hacia la osteoporosis y los SNP asociados con ella en la población del norte de México.

### Agradecimientos

Los autores desean agradecer a todos los participantes en la investigación por su colaboración, así como a la Universidad Autónoma de Nuevo León por la Beca de Formación Académica de Profesores y Egresados (0479-13-E) y a la Facultad de Salud Pública y Nutrición de dicha institución.

### Financiación

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica PAICYT-UANL 2010-2012 (CS1168-11) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SALUD-2010-01-139795).

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Referencias

1. **World Health Organization.** Prevention and management of osteoporosis: Report of a WHO scientific group. Singapur: WHO; 2003. p. 921.
2. **Muñoz-Torres M, Varsavsky M, Avilés-Pérez MD.** Osteoporosis. Definición epidemiología. Rev Osteoporos Metab Miner. 2010;2(Supl.3):S5-7.
3. **Clark P, Carlos F, Vázquez-Martínez LJ.** Epidemiology, costs and burden of osteoporosis in México. Arch Osteoporos. 2010;5:9-17.
4. **Özbaş H, Tutgun-Onrat S, Özdamar K.** Genetic and environmental factors in human osteoporosis. Mol Biol Rep. 2012;39:11289-96. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2038-5>
5. **Ng MYM, Sham PC, Paterson AD, Chan V, Kung AW.** Effect of environmental factors and gender on the heritability of bone mineral density and bone size. Ann Hum Genet. 2006;70: 428-38. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2005.00242.x>

6. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelos E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, *et al.* Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet.* 2012;44:491-501. <https://doi.org/10.1038/ng.2249>
7. Rivadeneira F, Styrkarsdottir U, Estrada K, Halldórsson BV, Hsu YH, Richards JB, *et al.* Twenty bone mineral density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2009;41:1199-206. <https://doi.org/10.1038/ng.446>
8. Styrkarsdottir U, Halldórsson BV, Gudbjartsson DF, Tang NL, Koh JM, Xiao S, *et al.* European bone mineral density loci are also associated with BMD in East-Asian population. *PLoS One.* 2010;5:e13217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013217>
9. Lisker R, López MA, Jasqui S, Ponce de León Rosales, S, Correa-Rotter R, Sánchez S, *et al.* Association of vitamin D receptor polymorphisms with osteoporosis in Mexican postmenopausal women. *Hum Biol.* 2003;75:399-403. <https://doi.org/10.1353/hub.2003.0045>
10. González-Mercado A, Sánchez-López JY, Regla-Nava JA, Gámez-Nava JI, González-López L, Durán-González J, *et al.* Association analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Mexican-Mestizo women. *Genet Mol Res.* 2013;12:2755-63. <https://doi.org/10.4238/2013.July.30.13>
11. Castelan-Martínez OD, Vivanco-Muñoz N, Falcón-Ramírez E, Valdés-Flores M, Clark P. *Apa1 VDR* polymorphism and osteoporosis risk in postmenopausal Mexican women. *Gac Med Mex.* 2015;151:472-6.
12. Jiménez-Salas Z, Hernández-Tobías EA, Ramírez-López TE, Campos-Góngora E. Association of polymorphism TaqI of vitamin D receptor with bone mineral density in young Mexican women. *Nutr Hosp.* 2012;27:1505-10. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.5.5673>
13. Gómez R, Magaña JJ, Cisneros B, Pérez-Salazar E, Faugeron S, Véliz D, *et al.* Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with osteoporosis in the Mexican population. *Clin Genet.* 2007;72:574-81. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00898.x>
14. Falcón-Ramírez E, Casas-Ávila L, Miranda A, Díez P, Castro C, Rubio J, *et al.* *Sp1* polymorphism in collagen I  $\alpha 1$  gene is associated with osteoporosis in lumbar spine of Mexican women. *Mol Biol Rep.* 2011;38:2987-92. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-9963-y>
15. Magaña JJ, Gómez R, Cisneros B, Casas L, Valdés-Flores M. Association of interleukin-6 gene polymorphisms with bone mineral density in Mexican women. *Arch Med Res.* 2008;39:618-24. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2008.05.006>
16. Magaña JJ, Gómez R, Cisneros B, Casas L, Castorena F, Miranda A, *et al.* Association of the CT gene (CA) polymorphism with BMD in osteoporotic Mexican women. *Clin Genet.* 2006;70:402-8. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2006.00703.x>
17. Falcón-Ramírez E, Casas-Ávila L, Cerda-Flores RM, Castro-Hernández C, Rubio-Lightbourn J, Velázquez-Cruz R, *et al.* Association of *LRP5* haplotypes with osteoporosis in Mexican women. *Mol Biol Rep.* 2013;40:2705-10. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2357-6>
18. Villalobos-Comparán M, Jiménez-Ortega RF, Estrada K, Parra-Torres AY, González-Mercado A, Patiño N, *et al.* A pilot genome-wide association study in postmenopausal Mexican-Mestizo women implicates the RMND1/CCDC170 locus is associated with bone mineral density. *Int J Genomics.* 2017;2017:5831020. <https://doi.org/10.1155/2017/5831020>
19. Kramer I, Baertschi S, Halleux C, Keller H, Kneissel M. *Mef2c* deletion in osteocytes results in increased bone mass. *J Bone Miner Res.* 2012;27:360-73. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1492>
20. Monroe DG, McGee-Lawrence ME, Oursler MJ, Westendorf JJ. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene.* 2012;492:1-18. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.10.044>
21. Gifre L, Ruiz-Gaspá S, Monegal A, Nomdedeu B, Filella X, Guañabens N, *et al.* Effect of glucocorticoid treatment on Wnt signalling antagonists (sclerostin and Dkk-1) and their relationship with bone turnover. *Bone.* 2013;57:272-6. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.08.016>
22. Johnson ME, Deliard S, Zhu F, Xia Q, Wells AD, Hankenson KD, *et al.* A ChIP-seq-defined genome-wide map of *MEF2C* binding reveals inflammatory pathways associated with its role in bone density determination. *Calcif Tissue Int.* 2014;94:396-402. <https://doi.org/10.1007/s00223-013-9824-5>
23. Park SE, Oh KW, Lee WY, Baek KH, Yoon KH, Son HY, *et al.* Association of osteoporosis susceptibility genes with bone mineral density and bone metabolism related markers in Koreans: The Chungju Metabolic Disease Cohort (CMC) study. *Endocr J.* 2014;61:1069-78. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ14-0119>
24. Zhu F, Sweetwyne MT, Hankenson KD. PKC $\delta$  is required for Jagged-1 induction of human mesenchymal stem cell osteogenic differentiation. *Stem Cells.* 2013;31:1181-92. <https://doi.org/10.1002/stem.1353>
25. Kung AW, Xiao SM, Cherny S, Li GH, Gao Y, Tso G, *et al.* Association of *JAG1* with bone mineral density and osteoporotic fractures: A genome-wide association study and follow-up replication studies. *Am J Hum Genet.* 2010;86:229-39. <https://doi.org/10.1016/j.ahg.2009.12.014>
26. Rojano-Mejía D, Coral-Vázquez RM, Cortés-Espinosa L, López-Medina G, Aguirre-García MC, Coronel A, *et al.* *JAG1* and *COL1A1* polymorphisms and haplotypes in relation to bone mineral density variations in postmenopausal Mexican-Mestizo women. *Age (Dordr).* 2013;35:471-8. <https://doi.org/10.1007/s11357-011-9363-9>
27. Velázquez-Cruz R, Jiménez-Ortega RF, Parra-Torres A, Castillejos-López M, Patiño N, Qúterio M, *et al.* Analysis of association of *MEF2C*, *SOST* and *JAG1* genes with bone mineral density in Mexican-Mestizo postmenopausal women. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014;15:400. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-15-400>
28. McDowell KA, Hutchinson AN, Wong-Goodrich SJ, Presby MM, Su D, Rodríguez RM, *et al.* Reduced cortical *BDNF* expression and aberrant memory in *Carf* knock-out mice. *J Neurosci.* 2010;30:7453-65. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3997-09.2010>
29. Nakanishi T, Takahashi K, Aoki C, Nishikawa K, Hattori T, Taniguchi S. Expression of nerve growth factor family

- neurotrophins in a mouse osteoblastic cell line. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;198:891-7. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1127>
30. Deng FY, Tan LJ, Shen H, Liu YJ, Liu YZ, Li J, *et al.* SNP rs6265 regulates protein phosphorylation and osteoblast differentiation and influences BMD in humans. *J Bone Miner Res.* 2013;28:2498-507. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1997>
  31. Guo Y, Dong SS, Chen XF, Jing YA, Yang M, Yan H, *et al.* Integrating epigenomic elements and GWASs identifies *BDNF* gene affecting bone mineral density and osteoporotic fracture risk. *Sci Rep.* 2016;6:30558. <https://doi.org/10.1038/srep30558>
  32. Price AL, Butler J, Patterson N, Capelli C, Pascali VL, Scarnicci F, *et al.* Discerning the ancestry of European Americans in genetic association studies. *PLoS Genet.* 2008;4:e236. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030236>
  33. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernández-López JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, *et al.* Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in México. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:8611-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903045106>
  34. Moreno-Estrada A, Gignoux CR, Fernández-López JC, Zakharia F, Sikora M, Contreras AV, *et al.* Human genetics. The genetics of México recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. *Science.* 2014; 344:1280-5. <https://doi.org/10.1126/science.1251688>
  35. Delezé M, Cons-Molina F, Villa AR, Morales-Torres J, González-González JG, Calva JJ, *et al.* Geographic differences in bone mineral density of Mexican women. *Osteoporos Int.* 2000;11:562-9.
  36. Deng HW, Shen H, Xu FH, Deng HY, Conway T, Zhang HT, *et al.* Test of linkage and/or association of genes for vitamin D receptor, osteocalcin, and parathyroid hormone with bone mineral density. *J Bone Miner Res.* 2002;17:678-86. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2002.17.4.678>
  37. **Secretaría de Salud.** Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Fecha de consulta: 21 de marzo de 2016. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>
  38. Court MH. A simple calculator to determine whether observed genotype frequencies are consistent with Hardy-Weinberg equilibrium. (2005-2008). Comparative and Molecular Pharmacogenomics Laboratory, Tufts University. Fecha de consulta: 12 de marzo de 2016. Disponible en: <http://fletcher.tufts.edu/~media/Fletcher/Microsites/congratulations/AY2016-2017%20Certification%20of%20Souces%20of%20Funds%20Form.pdf>
  39. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005;19:333-41.
  40. **Ensembl.org.** Human (GRCh38.p10). Fecha de consulta: 12 de marzo de 2016. Disponible en: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=5:89079744-89080744;v=rs1366594;vdb=variation;vf=926764#population\\_freq\\_AMR](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=5:89079744-89080744;v=rs1366594;vdb=variation;vf=926764#population_freq_AMR)
  41. Kajiyama M, Shiba H, Fujita T, Ouhara K, Takeda K, Mizuno N, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor stimulates bone/cementum-related protein gene expression in cementoblasts. *J Biol Chem.* 2008;283:16259-67. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800668200>
  42. Contreras-Cubas C, Sánchez-Hernández BE, García-Ortiz H, Martínez-Hernández A, Barajas-Olmos F, Cid M, *et al.* Heterogenous distribution of MTHFR gene variants among Mestizos and diverse Amerindian groups from Mexico. *PLoS One.* 2016;11:e0163248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163248>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Polimorfismos de un solo nucleótido representativos para los alelos clásicos del antígeno leucocitario humano en familias antioqueñas con diabetes mellitus tipo 1

Diana Clobeth Sarrazola<sup>1</sup>, Alejandra Marcela Rodríguez<sup>1</sup>, Martín Toro<sup>2</sup>, Alejandra Vélez<sup>3</sup>, Jorge García-Ramírez<sup>4</sup>, María Victoria Lopera<sup>2</sup>, Cristian M. Álvarez<sup>5</sup>, Vital Balthazar González<sup>†,1,6</sup>, Juan Manuel Alfaro<sup>1,6</sup>, Nicolás Pineda-Trujillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Mapeo Genético, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> IPS Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Pontificia Universidad Bolivariana, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Instituto Antioqueño de Diabetes, Medellín, Colombia

<sup>5</sup> Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, GICIC, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>6</sup> Sección de Endocrinología Pediátrica, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** La región del antígeno leucocitario humano (*Human Leukocyte Antigen*, HLA) se ha asociado claramente con enfermedades autoinmunitarias, como la diabetes mellitus de tipo 1. Los polimorfismos representativos de un solo nucleótido (*tag Single Nucleotide Polymorphism*, tag SNP) constituyen una forma alternativa de evaluar los alelos clásicos del HLA. En la población europea se ha reportado un grupo de tag SNP para múltiples alelos clásicos relacionados con la predisposición o la resistencia frente a dicha enfermedad.

**Objetivo.** Validar la metodología basada en los tag SNP enfocada en la inferencia de alelos HLA clásicos, y evaluar su asociación con la diabetes mellitus de tipo 1 en una muestra de familias antioqueñas.

**Materiales y métodos.** Se estudió una muestra de 200 familias antioqueñas con uno a dos hijos afectados por diabetes mellitus de tipo 1. Se genotipificaron 13 SNP mediante el ARMS-PCR (*Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction*) con cuatro iniciadores, o mediante la PCR-RFLP (*PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism*). Además, se evaluó la validez de los tag SNP de 1.000 genomas reportados en europeos en una muestra de 60 individuos de la población colombiana de Medellín. Se hicieron las pruebas de desequilibrio de la transmisión, de desequilibrio de ligamiento y de equilibrio de Hardy-Weinberg.

**Resultados.** En la población de estudio no se encontró suficiente desequilibrio de ligamiento entre los SNP y los alelos clásicos evaluados, por lo cual no fue posible inferir los alelos clásicos del HLA para el conjunto de familias con diabetes mellitus de tipo 1. El estudio de asociación evidenció que esta región aporta factores tanto de riesgo como de protección para el desarrollo de la enfermedad. Los tag SNP apropiados para la muestra de estudio se determinaron usando los SNP ubicados en la región HLA en la base de datos del *1000 Genomes Project* en la mencionada población.

**Conclusiones.** Los patrones de desequilibrio de ligamiento en la población estudiada fueron diferentes a los reportados para la población europea. A pesar de esto, se encontró evidencia clara sobre el papel de la región HLA en el riesgo de padecer diabetes mellitus de tipo 1 en la población de estudio.

**Palabras clave:** diabetes mellitus de tipo 1; complejo mayor de histocompatibilidad; desequilibrio de ligamiento; enfermedades autoinmunitarias.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3768>

### Classical HLA alleles tag SNP in families from Antioquia with type 1 diabetes mellitus

**Introduction:** The HLA region strongly associates with autoimmune diseases, such as type 1 diabetes. An alternative way to test classical HLA alleles is by using tag SNP. A set of tag SNP for several classical HLA alleles has been reported as associated with susceptibility or resistance to this disease in Europeans.

#### Contribución de los autores:

Alejandra Marcela Rodríguez, Vital Balthazar González, Juan Manuel Alfaro y Nicolás Pineda-Trujillo: idea y diseño del estudio  
Diana Clobeth Sarrazola, Martín Toro, Alejandra Vélez, Jorge García-Ramírez y María Victoria Lopera: obtención de la muestra y de los datos clínicos y moleculares

Diana Clobeth Sarrazola, Cristian M. Álvarez y Nicolás Pineda-Trujillo: análisis genéticos y moleculares, escritura del manuscrito

**Objective:** We aimed at validating the methodology based on tag SNP focused on the inference of classical HLA alleles, and at evaluating their association with type 1 diabetes mellitus in a sample of 200 families from Antioquia.

**Materials and methods:** We studied a sample of 200 families from Antioquia. Each family had one or two children with T1D. We genotyped 13 SNPs using tetra-primer ARMS-PCR or PCR-RFLP. In addition, we tested the validity of the tag SNP reported for Europeans in 60 individuals from a population of Colombians living in Medellín (CLM) from the 1000 Genomes Project database. Statistical analyses included the Hardy-Weinberg equilibrium, the transmission disequilibrium and the linkage disequilibrium tests.

**Results:** The linkage disequilibrium was low in reported tag SNP and classical HLA alleles in this CLM population. Association analyses revealed both risk and protection factors to develop type 1 diabetes mellitus. Appropriate tag SNPs for the CLM population were determined by using the genotype information available in the 1000 Genome Project database.

**Conclusions:** Although linkage disequilibrium patterns in this CLM population were different from those reported in Europeans, we did find strong evidence of the role of HLA in the development of type 1 diabetes mellitus in the study population.

**Key words:** Diabetes mellitus, type 1; major histocompatibility complex; linkage disequilibrium; autoimmune diseases.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3768>

La región HLA (*Human Leukocyte Antigen*, HLA) del complejo mayor de histocompatibilidad en humanos comprende aproximadamente 4 Mb de ADN, y en ella se codifican alrededor de 200 genes. Se encuentra localizada en el brazo corto del cromosoma 6, región 6p21.3. Esta región se ha subdividido en tres con base en las proteínas codificadas: la HLA de clase I, en la que se codifican las moléculas clásicas HLA-A, HLA-B y HLA-C; la HLA de clase II, en la que se codifican las moléculas clásicas HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP, y la HLA de clase III, en la cual se codifican otras proteínas involucradas en la inmunidad (1).

La diabetes mellitus de tipo 1 es una enfermedad compleja causada por la destrucción autoinmunitaria de las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos. Esta destrucción se ha descrito como un proceso crónico que, generalmente, se inicia en la infancia o la adolescencia, el cual genera deficiencia en la producción y la liberación de insulina, así como pérdida de la regulación del metabolismo de la glucosa (2).

Como sucede en la mayoría de las enfermedades autoinmunitarias, las variaciones en la región del HLA representan el mayor riesgo genético para el desencadenamiento de la diabetes mellitus de

tipo 1. De hecho, se ha descrito que esta región aporta cerca del 50 % del riesgo genético de desarrollarla (3).

En la población caucásica, dicho riesgo es conferido por las moléculas de HLA de clase II, especialmente los alelos DRB1\*03 y DRB1\*04 cuando se encuentran en haplotipos con los alelos DQB1\*02:01 y DQB1\*03:02, respectivamente (4). Asimismo, se ha observado que ciertos alelos HLA de clase I confieren el riesgo de ser afectado por la enfermedad, siendo el alelo HLA-A\*24:02 el de mayor asociación reportada (5).

También, se ha observado que algunos alelos, como el HLA-DQB1\*06:02 y el HLA-A\*03:01, confieren protección frente al riesgo de padecer esta enfermedad. Además, se ha observado que los alelos HLA-I, en conjunto con los HLA-II, pueden conferir un alto grado de protección. Por ejemplo, se ha determinado que el alelo A\*32:01 y el DRB1\*11:01 en combinación con el DQB1\*03:01, así como el A\*11:01 y el DRB1\*15:01 en combinación con el DQB1\*06:02 o con el DRB1\*07:01 y el DQB1\*02, configuran haplotipos que confieren protección frente al riesgo de desarrollar diabetes mellitus de tipo 1 (6,7).

En Antioquia, Colombia, el único reporte sobre la asociación entre el desarrollo de esta enfermedad y la región HLA, ha sido el de Montoya, *et al.*, quienes llevaron a cabo un estudio de casos y controles en 1996 para establecer la posible asociación con la enfermedad de los alelos clásicos de los HLA de clases I y II (8). En este estudio no se encontró asociación estadísticamente significativa entre los

#### Correspondencia:

Nicolás Pineda Trujillo, Grupo de Mapeo Genético, Departamento de Pediatría y Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Carrera 51D N° 62-29, Medellín, Colombia  
Teléfono: (54) 219 6065  
[nicolas.pineda@udea.edu.co](mailto:nicolas.pineda@udea.edu.co)

Recibido: 21/02/17; aceptado: 12/12/17

alelos clásicos de los HLA de clase I y la enfermedad, pero sí entre el alelo HLA-DRB1\*03:01 y un riesgo cuatro veces mayor de desarrollarla.

Se sabe que los genes del complejo mayor de histocompatibilidad se heredan como bloques de haplotipos, lo cual se traduce en un gran desequilibrio de ligamiento en la región. Este hecho favorece los estudios basados en metodologías como la de los polimorfismos representativos de un solo nucleótido (*tag Single Nucleotide Polymorphism*, *tag SNP*), pues con ellas no se requiere caracterizar todas las variantes presentes en la región y es posible obtener información acerca de la mayor parte de ellas e, incluso, asignar los alelos clásicos de los HLA presentes en una población (9).

En su estudio, de Bakker, *et al.*, genotipificaron más de 7.500 SNP dentro de la región HLA de clase I y de clase II en cuatro poblaciones, africana (YRI), europea (CEU), china (CHB) y japonesa (JPT)), y determinaron la variación dentro de esta región genética. En ese estudio se identificaron los *tag SNP* informativos para la captura de variantes en la región HLA en cada una de estas poblaciones (9), con lo cual se pudieron capturar los alelos clásicos del HLA.

Esta metodología ofrece una alternativa atractiva cuando no se requiere una exactitud del 100 %, lo que permite analizar la asociación entre la región del HLA y las enfermedades autoinmunitarias y, además, llevar a cabo estudios epidemiológicos en los cuales el tipo de HLA puede ser la causa potencial de una enfermedad. Además, es una alternativa económica para predecir el riesgo de recurrencia en los familiares de pacientes con enfermedades como la diabetes mellitus tipo 1 (10,11).

El propósito de este estudio fue validar los *tag SNP* de los alelos HLA clásicos reportados para población europea (9) y evaluar su asociación en una muestra de 200 familias antioqueñas nucleares con integrantes afectados por la diabetes mellitus de tipo 1.

## Materiales y métodos

### Muestras

Se contó con una muestra de 200 familias antioqueñas conformadas por 192 tríos familiares (los dos padres y un hijo con diabetes mellitus de tipo 1), y ocho familias con dos hijos afectados. Los pacientes fueron seleccionados en el Servicio de

Endocrinología Pediátrica de la Universidad de Antioquia, el Hospital Universitario San Vicente Fundación, la Clínica UPB-Medellín, la IPS Universitaria-Universidad de Antioquia y el Instituto Antioqueño de Diabetes, Metabolismo y Nutrición.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: 1) tener un diagnóstico clínico acorde con los criterios de la *American Diabetes Association* (ADA) y confirmado por el laboratorio (12); 2) haber sido diagnosticado antes de los 15 años de edad; 3) contar con ambos padres vivos, y 4) tener ancestro 'paisa' según la información de la propia familia en la encuesta que se hizo para recopilar los datos demográficos y sobre la procedencia de los bisabuelos del paciente. Se asumió que si al menos seis de los ocho bisabuelos eran de ascendencia paisa, el caso podría ingresar al estudio.

### Elección y genotipificación de los *tag SNP*

Se genotipificaron 13 marcadores dentro de la región HLA, así: rs2844821, rs762324, rs9380122, rs1611430, rs2523933, rs29243, rs2844535, rs3094117, rs3819294, rs1265100, rs7745906, rs2524074, para la región HLA de clase I, y rs2854275 para la región HLA de clase II. Estos marcadores fueron propuestos por de Bakker, *et al.*, como *tag SNP* para alelos clásicos de HLA en la población europea asociados con la protección o el riesgo de desarrollar diabetes mellitus de tipo 1 (9).

La genotipificación se hizo mediante el ARMS-PCR (*Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction*), o mediante la PCR-RFLP (*PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism*). La elección de los iniciadores se hizo con la aplicación diseñada por Ye, *et al.* (13), y la de las enzimas de restricción, con el programa NEBcutter™, versión 2.0. (New England Biolabs, Inc.) diseñado por Vincze, *et al.* (14). Estos dos métodos se basan en las PCR, las cuales se realizaron en un termociclador Dyad Dual-Bay™ (BioRad). El cuadro suplementario 1 presenta la secuencia de oligonucleótidos y las enzimas de restricción usadas para el proceso de genotipificación.

### Análisis por simulación computacional y elección de los *tag SNP* para la población antioqueña

Se tomaron los datos de 60 individuos pertenecientes a la población de colombianos que viven en Medellín participantes en la fase 3 del proyecto de

mil genomas (*1000 Genomes Project*) iniciada en mayo de 2013 (15). Se contaba con la información de los alelos de estos individuos para los SNP mencionados, así como de los alelos HLA clásicos (16). El objetivo era validar que estos tag SNP estuvieran en desequilibrio de ligamiento con los alelos clásicos de HLA que se querían analizar en esta población. La información sobre la diversidad de HLA para esta población, se tomó de los ensayos de tipificación realizados por Gourraud, et al., en el 2013 (16), cuyos datos están disponibles en la página del *1000 Genomes Project* (<http://www.internationalgenome.org/>). Los cálculos y gráficos del desequilibrio de ligamiento se hicieron con el programa Haploview™, versión 4.2 (Broad Institute of MIT and Harvard) (17).

La búsqueda de los SNP en acentuado desequilibrio de ligamiento con los alelos clásicos HLA, se hizo en la población colombiana registrada en la base de datos del *1000 Genomes Project*. Para ello, se tomaron todos los SNP reportados en dicha base de datos ubicados dentro de la región HLA de clases I y II, clásica y extendida. En total, se tomaron 133.289 SNP que abarcan una región de 6,86 Mb.

Dado el gran número de SNP, primero se calculó el desequilibrio de ligamiento de los SNP con los alelos clásicos reportados para 60 individuos de esta población usando el paquete Plink™, versión 1.07 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>) (18), y así, se hallaron los marcadores con un desequilibrio de ligamiento moderado ( $R^2 > 0,5$ ). Posteriormente, usando la función *tagger* del programa Haploview™, versión 4.2 (17), se obtuvieron los tag SNP ( $R^2 > 0,8$ ) más apropiados para la población antioqueña.

#### **Análisis de asociación e interacción**

El análisis de asociación entre los marcadores y la diabetes mellitus de tipo 1, se hizo usando la prueba no paramétrica de desequilibrio de transmisión (*Transmission Disequilibrium Test*, TDT), la cual mide las transmisiones desde los padres heterocigotos hacia los hijos afectados (19), con el programa Unphased™, versión 3.1.7 (S. Karger AG, Basel) (20). La interacción se analizó con el paquete *Trio logic regression* implementado por el R Project™, versión 3.2.0 (The R Foundation) (21), entre los 13 marcadores de HLA y los siguientes nueve marcadores en otros genes asociados con la diabetes mellitus de tipo 1 genotificados en un estudio previo (22): rs2476601, rs1217418 y rs2488457 para el gen *PTPN22*; rs1990760,

rs3747517 y rs10930046 para el gen *IFIH1*, y los SNP rs231775, rs3087243 y rs231779 para el gen *CTLA4*.

El valor corregido de p se asumió como 0,0023 para mantener una significación alfa de 0,05, y se usó tanto para los análisis de asociación como para los de interacción.

#### **Consideraciones éticas**

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado aprobado para este estudio.

#### **Resultados**

En el cuadro 1 se presentan los valores de desequilibrio de ligamiento entre los tag SNP (9) y los alelos clásicos en la población del *1000 Genomes Project*. Ninguno de los SNP (solos o en haplotipos) obtuvo un  $R^2 > 0,8$ . Por lo tanto, no se puede decir que estos marcadores sean *tags* apropiados para inferir los alelos clásicos del HLA en esta población. Por su parte, el SNP analizado para la región de HLA-II (rs2854275) registró un acentuado desequilibrio de ligamiento ( $R^2 = 0,826$ ) con el alelo clásico HLA-DRB1\*03:01 para esta población.

#### **Los tag SNP basados en la CLM del 1000 Genomes Project**

Dados los resultados que se presentan en el cuadro 1, se hizo necesario identificar los tag SNP propios de la población en estudio. Para ello, se usó la información de los SNP presentes en la región HLA de clase I y II, clásica y extendida.

Para la región clásica y la extendida de los HLA de clase I, se analizaron 98.743 marcadores comprendidos entre la posición 25.730.000 y la 31.480.000, la cual abarca una región de 5,75 Mb. Para la región clásica y la extendida de los HLA de clase II, se analizaron 34.546 SNP comprendidos entre las posiciones 32.260.000 y 33.370.000, las cuales abarcan una región de 1,11 Mb.

Tres (HLA-DRB1\*04:01, HLA-DRB1\*04:02, HLA-DRB1\*04:05) de los 19 alelos clásicos de interés por su asociación con la diabetes mellitus de tipo 1, no se pudieron analizar por su baja frecuencia en la población objeto. Para otros cuatro alelos (HLA-A\*02:01, HLA-B\*15:01, HLA-C\*03:04 y HLA-DQB\*06:02) no se encontraron SNP que tuvieran un acentuado desequilibrio de ligamiento ( $R^2 > 0,8$ ). Para los restantes doce alelos HLA clásicos, se pudieron obtener *tags* con un  $r^2 > 0,8$  para esta población (cuadro 2).

**Cuadro 1.** Medidas del desequilibrio de ligamiento D' y r<sup>2</sup> entre los tag SNP reportados y los alelos clásicos de HLA en población colombiana en la base de datos del 1000 Genomes Project

| rs2844821 – HLA-A*02:01 – rs762324 |         |                | rs9380122 – rs1611430 – HLA-A*03:01 |    |                |
|------------------------------------|---------|----------------|-------------------------------------|----|----------------|
| Haplotipo                          | D'      | R <sup>2</sup> | Haplotipo                           | D' | R <sup>2</sup> |
| A-A-C                              | -0,8511 | 0,4925         | A-A-A                               | -1 | 0,01182        |
| A-A-T                              | -0,6284 | 0,03748        | A-A-C                               | -1 | 1,019e-010     |
| A-C-C                              | 0,6565  | 0,4154         | A-G-A                               | 1  | 0,00277        |
| A-C-T                              | 0,9227  | 0,01026        | A-G-C                               | 1  | 0,008097       |
| G-A-C                              | 0,8511  | 0,4925         | G-A-A                               | 1  | 0,01182        |
| G-A-T                              | 0,6284  | 0,03748        | G-A-C                               | 1  | 1,019e-010     |
| G-C-C                              | -0,6565 | 0,4154         | G-G-A                               | -1 | 0,00277        |
| G-C-T                              | -0,9227 | 0,01026        | G-G-C                               | -1 | 0,008097       |

| rs3094117 – HLA-B*15:01 – rs3819294 |         |                | rs1265100 – rs7745906 – HLA-C*03:03 |         |                |
|-------------------------------------|---------|----------------|-------------------------------------|---------|----------------|
| Haplotipo                           | D'      | R <sup>2</sup> | Haplotipo                           | D'      | R <sup>2</sup> |
| G-A-C                               | 0,9703  | 3,982e-014     | C-A-C                               | 0,7163  | 0,3534         |
| G-A-T                               | -0,2897 | 0,0009646      | C-G-C                               | -0,585  | 0,2795         |
| G-C-C                               | 0,8224  | 0,03469        | T-A-A                               | 1       | 0,007444       |
| G-C-T                               | -1      | 0,03704        | T-A-C                               | -0,7163 | 0,3534         |
| T-A-C                               | -0,9703 | 3,982e-014     | T-G-A                               | 1       | 3,079e-012     |
| T-A-T                               | 0,2897  | 0,0009646      | T-G-C                               | 0,585   | 0,2795         |
| T-C-C                               | -0,8224 | 0,03469        |                                     |         |                |
| T-C-T                               | 1       | 0,03704        |                                     |         |                |

Los haplotipos se componen de dos tag SNP reportados para la población europea (CEU) y el alelo HLA clásico con el cual fueron asociados en dicha población. En la posición del alelo clásico se colocó A/C para la presencia o ausencia del alelo analizado. Se presentan los resultados para la población de estudio con base en cuatro alelos HLA clásicos y sus tag SNP según de Bakker, *et al.* (9).

**Cuadro 2.** Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en desequilibrio de ligamiento con alelos clásicos de HLA en población colombiana

| Alelo clásico  | Frecuencia* | Tag SNP     | Sustitución | Alelos | MAF    | R <sup>2</sup> |
|----------------|-------------|-------------|-------------|--------|--------|----------------|
| HLA-A*03:01    | 0,150       | rs1736995   | T/C         | T      | 0,0769 | 0,928          |
| HLA-A*24:02    | 0,175       | rs140232731 | C/A         | A      | 0,1078 | 0,944          |
| HLA-A*30:02    | 0,042       | rs3893467   | T/C         | C      | 0,0276 | 1,0            |
| HLA-B*07:02    | 0,050       | rs3130497   | C/T         | T      | 0,0511 | 0,826          |
| HLA-B*08:01    | 0,017       | rs2394980   | C/T         | T      | 0,0701 | 1,0            |
| HLA-C*01:02    | 0,108       | rs9368669   | T/C         | T      | 0,0697 | 1,0            |
| HLA-C*03:03    | 0,025       | rs114411923 | A/T         | T      | 0,0134 | 1,0            |
| HLA-C*07:01    | 0,092       | rs2853949   | C/T         | T      | 0,0923 | 1,0            |
| HLA-DRB1*03:01 | 0,042       | rs2856674   | T/C         | C      | 0,0649 | 0,826          |
| HLA-DRB1*15:01 | 0,058       | rs3117100   | C/T         | T      | 0,0375 | 1,0            |
| HLA-DQB1*02:01 | 0,133       | rs9273494   | G/T         | T      | 0,1645 | 1,0            |
| HLA-DQB1*03:02 | 0,183       | rs9275437   | C/T         | T      | 0,0851 | 1,0            |

\* Frecuencia de alelos clásicos en la población de colombianos de Medellín; MAF: frecuencia del alelo menor; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación. Los datos que dieron origen a este cuadro provienen de [www.1000genomes.org](http://www.1000genomes.org), particularmente los de la población de colombianos de Medellín.

La figura 1 muestra el desequilibrio de ligamiento entre el alelo HLA-B\*07:02 y doce marcadores (SNP) dentro de la región de HLA-I, los cuales tienen un perfecto desequilibrio de ligamiento entre sí, es decir, cualquiera de estos marcadores serviría como tag para este alelo HLA clásico en la población de estudio.

### Análisis de asociación

En el cuadro 3 se presentan los resultados de asociación de los 13 SNP probados en las 200 familias nucleares antioqueñas. Se observó que los

SNPs rs29243 ( $p=2,634e-5$ ; *odds ratio* (OR)=2,85 [1,67-4,85]) y rs2854275 ( $p=1,27e-7$ ; OR=2,71 [1,82-4,02]) contribuyen al riesgo genético de padecer la enfermedad en la población analizada.

Los marcadores rs9380122 ( $p=4,19e-6$ ; OR=0,24 [0,12-0,47]) y rs1611430 ( $p=0,002$ ; OR=0,63 [0,51-0,86]) están asociados con la protección frente al riesgo de desarrollar diabetes mellitus de tipo 1. Los demás marcadores no superaron el nivel de confianza del 95 % después de la corrección para múltiples comparaciones.

El análisis de interacción entre los marcadores analizados para el HLA no evidenció interacciones estadísticamente significativas, pues ninguna de ellas superó el valor de  $p$  corregido (0,0023) para múltiples comparaciones.

### Discusión

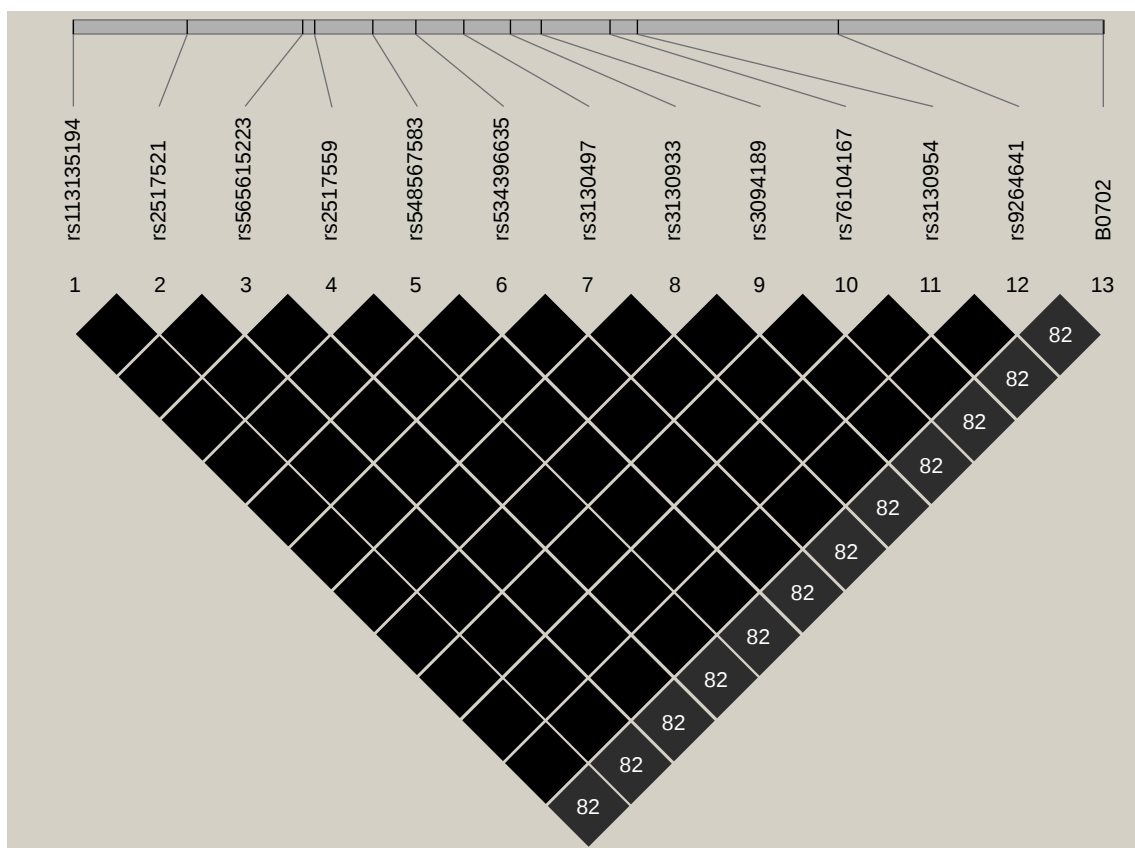
Las causas del desequilibrio de ligamiento son diversas. Una de ellas es la cercanía física entre los *loci*, por lo cual la probabilidad de que ocurra un evento de recombinación entre ambos disminuye. Otra fuente de este desequilibrio es la mezcla de dos poblaciones que pueden estar inicialmente en equilibrio de Hardy-Weinberg y que poseen diferentes frecuencias alélicas (23).

En este estudio se estimó el desequilibrio de ligamiento entre los tag SNP analizados (reportados por de Bakker, *et al.*) y los alelos clásicos de HLA reportados para la población CLM en el *1000 Genomes Project* para validar si estos SNP eran *tags* apropiados de los alelos clásicos en la población de estudio.

Teniendo en cuenta la ascendencia predominantemente europea de los antioqueños (24,25), se eligieron los marcadores reportados por de Bakker, *et al.*, en el 2006 para población europea residente entonces en los Estados Unidos (CEU) (9).

El análisis reveló diferencias en el desequilibrio de ligamiento en la región de HLA entre la población europea y la antioqueña. Tales diferencias pueden estar relacionadas con el efecto de mezcla y con el crecimiento poblacional de esta última en relativo aislamiento. Además, la ascendencia amerindia y africana de los antioqueños también contribuye a diferenciar los bloques de haplotipos definidos por eventos de recombinación (23,26).

Con el propósito de identificar los tag SNP de los alelos HLA clásicos para esta población de Antioquia, se usó la información disponible en la base de datos del *1000 Genomes Project*. Se logró la identificación de los tag SNP de 12 de 19 alelos HLA clásicos. A diferencia de lo observado por de Bakker, *et al.*, en población europea, en la cual se



**Figura 1.** Desequilibrio de ligamiento entre el alelo HLA-B\*07:02 y doce marcadores en la región HLA de clase I. Valores expresados en  $R^2$ . El intervalo entre los polimorfismos de un solo nucleótido incluye una región física de 248,322 pb. El alelo clásico se localiza en posición centromérica (identificado con la marca # 13).

**Cuadro 3.** Asociación alélica de los tag SNP con la diabetes mellitus de tipo 1 establecida mediante la prueba TDT

| SNP       | Alelo | T:UT    | Frec. T:UT  | $\chi^2$ | p               | Odds ratio (IC <sub>95%</sub> ) |
|-----------|-------|---------|-------------|----------|-----------------|---------------------------------|
| rs9380122 | G     | 10:42   | 0,025:0,105 | 21,17    | <b>4,19e-6</b>  | <b>0,24 (0,12-0,47)</b>         |
|           | A     | 388:356 | 0,97:0,89   |          |                 |                                 |
| rs29243   | T     | 58:22   | 0,15:0,06   | 17,67    | <b>2,634e-5</b> | <b>2,85 (1,67-4,85)</b>         |
|           | C     | 320:356 | 0,85: 0,94  |          |                 |                                 |
| rs2844821 | G     | 63:79   | 0,17:0,21   | 1,76     | 0,18            | 0,802(0,58-1,11)                |
|           | A     | 317:301 | 0,83:0,79   |          |                 |                                 |
| rs1611430 | G     | 159:206 | 0,46:0,59   | 9,57     | <b>0,002</b>    | <b>0,63 (0,51-0,86)</b>         |
|           | A     | 189:142 | 0,54:0,41   |          |                 |                                 |
| rs2523933 | A     | 123:105 | 0,31:0,26   | 1,98     | 0,16            | 1,25 (0,92-1,69)                |
|           | C     | 273:291 | 0,69:0,73   |          |                 |                                 |
| rs762324  | C     | 358:368 | 0,904:0,93  | 1,48     | 0,22            | 0,74 (0,46-1,204)               |
|           | T     | 38:28   | 0,096:0,071 |          |                 |                                 |
| rs3094117 | G     | 226:201 | 0,57:0,51   | 2,35     | 0,13            | 1,21 (0,95-1,54)                |
|           | T     | 172:197 | 0,43:0,49   |          |                 |                                 |
| rs1265100 | C     | 153:121 | 0,39:0,31   | 5,37     | 0,02            | 1,402(1,05-1,87)                |
|           | T     | 243:275 | 0,61:0,69   |          |                 |                                 |
| rs7745906 | A     | 82:118  | 0,23:0,33   | 6,88     | 0,009           | 0,68 (0,51-0,91)                |
|           | G     | 278:242 | 0,77:0,67   |          |                 |                                 |
| rs2524074 | C     | 63:77   | 0,17:0,20   | 2,05     | 0,15            | 0,75 (0,49-1,12)                |
|           | T     | 317:303 | 0,83:0,79   |          |                 |                                 |
| rs3819294 | T     | 56:90   | 0,15:0,25   | 8,76     | 0,003           | 0,59 (0,42-0,84)                |
|           | C     | 310:276 | 0,85:0,75   |          |                 |                                 |
| rs2844535 | A     | 125:161 | 0,32:0,41   | 6,47     | 0,01            | 0,69 (0,53-0,92)                |
|           | C     | 263:227 | 0,68: 0,59  |          |                 |                                 |
| rs2854275 | T     | 145:86  | 0,41:0,24   | 27,90    | <b>1,27e-7</b>  | <b>2,71 (1,82-4,02)</b>         |
|           | G     | 207:266 | 0,59:0,76   |          |                 |                                 |

SNP: *Single nucleotide polymorphism*; T:U: transmisiones Vs. no transmisiones; Frec. T:UT: frecuencias de transmisiones Vs. no transmisiones. Las negrillas representan los resultados significativos.

requerían dos SNP para alcanzar un valor de  $R^2$  por encima de 0,8, se observó que en la población del presente estudio un SNP era suficiente para alcanzar dicho valor.

Este hallazgo puede explicarse por el reciente cuello de botella experimentado por la población antioqueña. Con la colonización europea se diezmó la población amerindia y llegaron esclavos africanos. Entre estos tres grupos étnicos ocurrieron cruces que originaron la nueva población (27). Durante las migraciones, no todos los cromosomas de la población parental han de quedar representados en la población naciente. Se acepta que ha existido un mayor número de generaciones desde el origen de la población europea que desde el origen de la población antioqueña, lo cual implica que ha ocurrido un mayor número de meiosis en aquella población que en la antioqueña. A su vez, este fenómeno aumenta la probabilidad de que hayan ocurrido más eventos de recombinación en la región HLA de los europeos que en la de los antioqueños, y explicaría por qué el desequilibrio de ligamiento es mayor en estos, además con alelos diferentes (28).

Llama la atención que varios marcadores se encuentran en perfecto desequilibrio de ligamiento ( $R^2=1,0$ ) con los alelos clásicos HLA y

entre ellos (figura 1). Esta observación concuerda con el fuerte desequilibrio de ligamiento que se ha descrito previamente para la región de HLA y con el bajo número de generaciones después de ocurrida la mezcla.

El análisis de asociación entre los marcadores analizados y la diabetes mellitus tipo 1 evidenció que estos marcadores influyen en el riesgo genético para desarrollar la enfermedad. Cuatro de los 13 marcadores analizados mostraron asociación estadísticamente significativa al aplicar la prueba no paramétrica de desequilibrio de transmisión (*Transmission Disequilibrium Test*, TDT). De los doce marcadores de HLA de clase I analizados, rs29243(T) se asoció con un aumento de más de dos veces en el riesgo de desarrollar la enfermedad, en tanto que los marcadores rs9380122(G) y rs1611430(G) se asociaron con una disminución importante del riesgo de padecerla. También, se observó que el haplotipo G-G de los marcadores rs9380122 y rs1611430 es un elemento claramente protector frente al riesgo de desarrollar la enfermedad (no se presentan los datos). Estos marcadores no se encuentran dentro de un gen, pero pueden estar en desequilibrio con otros SNP dentro de los genes del HLA-I y, probablemente, con un alelo HLA clásico.

Según de Bakker, *et al.*, estos tres SNP serían marcas apropiadas para los alelos clásicos HLA-A\*30:02 y HLA-A\*03:01. Los SNP rs9380122 y rs1611430 aparecen como *tags* de HLA-A\*03:01, en tanto que el SNP rs29243 aparece como *tag* del alelo clásico HLA-A\*30:02 (9). Según nuestros análisis, esta inferencia habría sido imprecisa para nuestra población.

En el estudio de Montoya, *et al.*, en 1996, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre los alelos clásicos de HLA de clase I y la diabetes mellitus de tipo 1 (8). Sin embargo, estos autores sí encontraron una asociación del alelo HLA-DRB1\*03:01 con un riesgo cuatro veces mayor de desarrollar la enfermedad (28).

El presente análisis de asociación no permite concluir cuáles alelos HLA clásicos estarían implicados en la asociación identificada. La imposibilidad de inferirlos se debió al bajo desequilibrio de ligamiento ( $R^2 < 0,8$ ) de los tag SNP usados como referencia (9), y los alelos HLA clásicos reportados para la población CLM (16). No obstante, es evidente la fuerte asociación entre la región HLA y la predisposición o la protección frente a la diabetes mellitus de tipo 1.

En la región HLA de clase II solo se analizó un marcador (rs2854275), el cual está en un alto desequilibrio de ligamiento ( $R^2 = 0,83$ ) con el alelo clásico HLA-DRB1\*03:01 según los datos del *1000 Genomes Project*. En la prueba TDT este marcador evidenció una asociación estadísticamente significativa con el riesgo de desarrollar diabetes mellitus de tipo 1, resultado que concuerda con lo reportado en otros estudios, en los cuales este alelo clásico se ha asociado claramente con el riesgo de desarrollar la enfermedad en varios grupos poblacionales, incluidos algunos de Colombia y Latinoamérica (7,8,29-31).

No se hallaron interacciones estadísticamente significativas entre los marcadores de HLA analizados. Se ha reportado que los alelos HLA de clase I influyen en el riesgo de padecer diabetes mellitus de tipo 1 cuando se expresan conjuntamente con alelos HLA de clase II. Es el caso del HLA-A\*24, que aumenta en un 2,04 el riesgo de padecer la enfermedad cuando se expresa conjuntamente con el haplotipo DQA1\*03-DQB1\*03:02 (DQ8) (32). Tampoco se encontró evidencia de interacción entre los marcadores de HLA y los de otros genes (*PTPN22*, *IFIH1* y *CTLA4*) asociados con esta enfermedad (22).

En conclusión, el desequilibrio de ligamiento en la región HLA para la población antioqueña (CLM) analizada no se comportó de manera similar a lo reportado para la población europea (CEU). Por lo tanto, es importante tener en cuenta los tag SNP específicos aquí reportados para la población de estudio. Asimismo, dicho comportamiento debería ser objeto de otros estudios que incluyan el análisis de HLA en población latinoamericana. En el presente estudio, además, se confirmó que la región HLA contribuye a la predisposición o protección frente a la diabetes mellitus de tipo 1 en la población analizada.

El equipo de investigación está actualmente en proceso de evaluar los tag SNP aquí reportados para los alelos HLA clásicos en todo el conjunto de familias con diabetes mellitus de tipo 1.

### Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existió conflicto de intereses en el desarrollo de este estudio.

### Financiación

Proyecto código 2548, financiado por el CODI, Universidad de Antioquia.

### Referencias

1. Kim MS, Polychronakos C. Immunogenetics of type 1 diabetes. *Horm Res.* 2005;64:180-8. <https://doi.org/10.1159/000089190>
2. Černá M. Genetics of autoimmune diabetes mellitus. *Wien Med Wochenschr.* 2008;158:2-12. <https://doi.org/10.1007/s10354-007-0448-0>
3. Concannon P, Rich SS, Nepom GT. Genetics of type 1A diabetes. *N Engl J Med.* 2009;360:1646-54. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0808284>
4. Al-Mutairi HF, Mohsen AM, Al-Mazidi ZM. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Kuwait Med J.* 2007;39:107-15.
5. Sia C, Weinem M. The role of HLA class I gene variation in autoimmune diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2005;2:97-109. <https://doi.org/10.1900/RDS.2005.2.97>
6. Noble JA, Valdés AM, Varney MD, Carlson JA, Moonsamy P, Fear AL, et al. HLA class I and genetic susceptibility to type 1 diabetes: Results from the Type 1 Diabetes Genetics Consortium. *Diabetes.* 2010;59:2972-9. <https://doi.org/10.2337/db10-0699>
7. Cruz-Tapias P, Pérez-Fernández OM, Rojas-Villarraga A, Rodríguez-Rodríguez A, Arango M-T, Anaya JM. Shared HLA class II in six autoimmune diseases in Latin America: A meta-analysis. *Autoimmune Dis.* 2012;2012:569728. <https://doi.org/10.1155/2012/569728>
8. Montoya F, Bedoya CI, Restrepo MC, Villegas A, Posada SC, García HI, et al. Determinación de marcadores genéticos en pacientes con diabetes tipo I y población sana. *Acta Médica Colombiana.* 1996;21:10-6.

9. **de Bakker PI, McVean G, Sabeti PC, Miretti MM, Green T, Marchini J, et al.** A high-resolution HLA and SNP haplotype map for disease association studies in the extended human MHC. *Nat Genet.* 2006;38:1166-72. <https://doi.org/10.1038/ng1885>
10. **Halperin E, Kimmel G, Shamir R.** Tag SNP selection in genotype data for maximizing SNP prediction accuracy. *Bioinformatics.* 2005;21(Suppl.1):i195-203. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti1021>
11. **Barker JM, Triolo TM, Aly TA, Baschal EE, Babu SR, Kretowski A, et al.** Two single nucleotide polymorphisms identify the highest-risk diabetes HLA genotype potential for rapid screening. *Diabetes.* 2008;57:3152-5. <https://doi.org/10.2337/db08-0605>
12. **American Diabetes Association.** Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2016;39(Supl.1):S13-22. <https://doi.org/10.2337/dc16-er09>
13. **Ye S, Dhillon S, Ke X, Collins AR, Day IN.** An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res.* 2001;29:E88-8.
14. **Vincze T, Posfai J, Roberts R.** NEBcutter: A program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Res.* 2003;31:3688-91.
15. **Durbin RM, Altshuler DL, Abecasis GR, Bentley DR, Chakravarti A, Clark AG, et al.** A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature.* 2010;467:1061-73. <https://doi.org/10.1038/nature09534>
16. **Gourraud PA, Khankhanian P, Cereb N, Yang SY, Feolo M, Maiers M, et al.** HLA diversity in the 1000 genomes dataset. *PLoS One.* 2014;9:e97282. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097282>
17. **Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ.** Haploview: Analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005;21:263-5. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth457>
18. **Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, et al.** PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet.* 2007;81:559-75. <https://doi.org/10.1086/519795>
19. **Spielman RS, Ewens WJ.** The TDT and other family-based tests for linkage disequilibrium and association. *Am J Hum Genet.* 1996;59:983-9.
20. **Dudbridge F.** Likelihood-based association analysis for nuclear families and unrelated subjects with missing genotype data. *Hum Hered.* 2008;66:87-98. <https://doi.org/10.1159/000119108>
21. **Li Q, Fallin MD, Louis TA, Lasseter VK, McGrath JA, Avramopoulos D, et al.** Trio logic regression - detection of SNP-SNP interactions in case-parent trios. *Genet Epidemiol.* 2010;34:396-406. <https://doi.org/10.1002/gepi.20488>
22. **Rodríguez A, Alfaro JM, Balthazar V, Pineda-Trujillo N.** Association analysis of *PTPN22*, *CTLA4* and *IFIH1* genes with type 1 diabetes in Colombian families. *J Diabetes.* 2015;7:402-10. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12192>
23. **Slatkin M.** Linkage disequilibrium — understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nat Rev Genet.* 2008;9:477-85. <https://doi.org/10.1038/nrg2361>
24. **Bedoya G, Montoya P, García J, Soto I, Bourgeois S, Carvajal L, et al.** Admixture dynamics in Hispanics: A shift in the nuclear genetic ancestry of a South American population isolate. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:7234-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508716103>
25. **Gravel S, Zakharia F, Moreno-Estrada A, Byrnes JK, Muzzio M, Rodríguez-Flores JL, et al.** Reconstructing Native American migrations from whole-genome and whole-exome data. *PLoS Genet.* 2013;9:e1004023. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004023>
26. **Stephens JC, Schneider JA, Tanguay DA, Choi J, Acharya T, Stanley SE, et al.** Haplotype variation and linkage disequilibrium in 313 human genes. *Science.* 2001;293:489-93. <https://doi.org/10.1126/science.1059431>
27. **Federal Research Division Library of Congress.** Colombia: A country study. 5th ed. Washington, D.C.; U.S. Government Printing Office Official Editions; 2010. p. 541.
28. **Miretti MM, Walsh EC, Ke X, Delgado M, Griffiths M, Hunt S, et al.** A high-resolution linkage-disequilibrium map of the human major histocompatibility complex and first generation of tag single-nucleotide polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 2005;76:634-46. <https://doi.org/10.1086/429393>
29. **Rani R, Sood A, Goswami R.** Molecular basis of predisposition to develop type 1 diabetes mellitus in North Indians. *Tissue Antigens.* 2004;64:145-55. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2004.00246.x>
30. **Aly TA, Ide A, Jahromi MM, Barker JM, Fernando MS, Babu SR, et al.** Extreme genetic risk for type 1A diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:14074-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606349103>
31. **Noble JA, Martin A, Valdés AM, Lane JA, Galgani A, Petrone A, et al.** Type 1 diabetes risk for HLA-DR3 haplotypes depends on genotypic context: Association of DPB1 and HLA class I loci among DR3 and DR4 matched Italian patients and controls. *Hum Immunol.* 2008;69:291-300. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2008.02.003>
32. **Mbunwe E, van der Auwera BJ, Weets I, van Crombrugge P, Crenier L, Coeckelberghs M, et al.** In antibody-positive first-degree relatives of patients with type 1 diabetes, HLA-A\*24 and HLA-B\*18, but not HLA-B\*39, are predictors of impending diabetes with distinct HLA-DQ interactions. *Diabetologia.* 2013;56:1964-70. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-2951-8>

**Cuadro suplementario 1.** Iniciadores y enzimas de restricción usadas para la genotipificación de los tag SNP reportados por de Bakker, *et al.*

| HLA, alelo clásico    | Tag SNP   | Iniciadores                                                                                                                                                                                | Enzimas                                  |
|-----------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| HLA-A*02:01           | rs2844821 | rs2844821F:CTGGATTACGTAGAGACAATAGACAGCC<br>rs2844821R:AGCCATTACTCAGGAGATTGTACTACTG                                                                                                         | ApaLI                                    |
|                       | rs762324  | rs762324R: ATCCCGTTTCcaggctaaat<br>rs762324F: TGCTCTAATGAAGGGGTTGG                                                                                                                         | HhaI                                     |
| HLA-A*03:01           | rs9380122 | rs9380122Fi(A):GATTCACTACAGGGGTGACGGCGCTCTA<br>rs9380122Ri(G): ATTCAGGACCGGATAATGGCCATCAGGC<br>rs9380122Fo: CCCTCATTAGTCTAGTGGTGTGCTGCCA<br>rs9380122Ro: TGTCCACTTGTGCTCCCATTTTATGTTG      | --                                       |
|                       | rs1611430 | rs1611430Fi(A):CCTGTTGTAATGCTTTCAGACACATTTCTA<br>rs1611430Ri(G):AAAATGTAACCTTTGGCCCTTGAGAC<br>rs1611430Fo: TGAGGTGAATAAAGTCTGTACTGGCTCC<br>rs1611430Ro: GGCGTAGAGACAGGTTTTTGTGTTTTTTT      | --                                       |
| HLA-A*24:02           | rs3893538 | rs3893538Fi(G):AGGGTATGTTTCATACCCACTGAGGCGG<br>rs3893538Ri(A):AGCTGCGACGTGGACTCGGACTGCCGT<br>rs3893538Fo: GTACCTGGGCACTGCAGCCTCTCCTTCC<br>rs3893538Ro: ACCGGATTCCATTTTCAGTTCAGGCCCA        | --                                       |
|                       | rs2523933 | rs2523933Fi(c):GAATTTCTGCTTAGCTGGCAGGACCCC<br>rs2523933Ri(A):AGAGACAGCAGCATCCTCCTGGGTGAT<br>rs2523933Fo: TCTGCAGAAATGCAGAGGGAGTCTCCTC<br>rs2523933Ro: GCCACTCTCGGAAGATCCCTCAGTTTA          | --                                       |
| HLA-A*30:02           | rs29243   | rs29243Fo: TTCCTGCCAGTGGACTATGAGATTGAGT<br>rs29243Ro: TCAATGTTATAGGCCAATGATCAGTGGC                                                                                                         | TaaI                                     |
| HLA-B*07:02           | rs2596438 | rs2596438Fi(A):AAAGTATGACTCATTACAGGAAAAGAAA<br>rs2596438Ri(G):GTTCTTCAGGAACAATTTCTTTTCGAC<br>rs2596438Fo: AACAGACACATAGACCAATGGAATAGAA<br>rs2596438Ro: TGCTATTAGTGAACATAGTCTCCTCTG         | -                                        |
|                       | rs805288  | rs805288Fi(G):CCCTAGAGGAGGTGGGGTACAGAGTCG<br>rs805288Ri(A):GAGGCAAGGGCTAGGCTCACACACT<br>rs805288Fo: GTCCCCTCCAGGATTTAAGCCTCTGTTC<br>rs805288Ro: CTGGGATTCTGATGCTGCTGCACAAAT                | --                                       |
| HLA-B*08:01           | rs6457374 | rs6457374Fi(C):AAAAAACCCAGATAGGTTTAGTGGGGC<br>rs6457374Ri(T):CAAACCTCCTGCATCTGTAAAGAAGAAA<br>rs6457374Fo: TCTGCATGAAACAAGCTTGAAGAAATA<br>rs6457374Ro: GAGCTGAGCTGTGTTTATGAAATCGAAT         | --                                       |
|                       | rs2844535 | rs2844535R: TGGTTCAGTCCCTCACACCTG<br>rs2844535F: CACCTCCTTCTCTGCCTCTG                                                                                                                      | SfiI                                     |
| HLA-B*15:01           | rs3094117 | rs3094117R: GCAGCAAGGATGACTCACAA<br>rs3094117F: CAGGTTCCCAAGGTCTGTGA                                                                                                                       | SfaNI                                    |
|                       | rs3819294 | rs3819294R: ACCTTAGGAGGGCAGTTGGT<br>rs3819294F: CACTTACACGACGCTGAGA                                                                                                                        | HaeIII                                   |
| HLA-C*01:02           | rs9380234 | rs9380234Fi(A): CATGAAGAAGTACTGCCAAGTCATCTTCA<br>rs9380234Ri(G): AGTTGCATCTGGGTGTGGGCAATTAC<br>rs9380234Fo: ACTTGCAAGACTGTCTTCGCTGAGCAC<br>rs9380234Ro: CTGCCCAAACACTTGTTCACAGGTACCT       | -                                        |
| HLA-C*03:03           | rs1265100 | rs1265100R: GCTTCCATGAAACGGAAAAA<br>rs1265100F: gaggcagaatagcgtgaacc                                                                                                                       | MluCI                                    |
|                       | rs7745906 | rs7745906Fo: GCAGAGATTTTGTATTAGGCCAGTTTT<br>rs7745906Ro: AAGGAAGGAAGGAGGAAAGAAAGAAAGA                                                                                                      | TspRI                                    |
| HLA-C*03:04           | rs4713391 | rs4713391Fi(T): CCCAAGGCCCATTTGCACAGGACATTT<br>rs4713391Ri(c): AAGATGCACTTTTCAAGTGGGAAAGTCAG<br>rs4713391Fo: GCATCTGGGACGAGGTTTAGAAGGAAT<br>rs4713391Ro: ACTGCTAGCTGGATTGAAGCACACCTCC      | rs471339 1Fo:GCATCTGGGACGAGGTTTAGAAGGAAT |
|                       | rs7745906 | rs7745906Fo: GCAGAGATTTTGTATTAGGCCAGTTTT<br>rs7745906Ro: AAGGAAGGAAGGAGGAAAGAAAGAAAGA                                                                                                      | TspRI                                    |
| HLA-C*07:01           | rs2524074 | rs2524074Fo: GGCCCATTCACAGGAGAGT<br>rs2524074Ro: ACTGCTAGCTGGATTGAAGCACACCTCC                                                                                                              | MlyI                                     |
|                       | rs7382297 | rs7382297Fi(G):ATTTTGAGTAAGTGCAGTGCTTTCTCAG<br>rs7382297Ri(T):AAAATAGCTTTGCCCTGTCAATTTCA<br>rs7382297Fo: CATGTGGTCTTTCTGTGAACTTAGA<br>rs7382297Ro: TTTAAGATAAAGATTTAGCGCACCCAAAT           | -                                        |
| DR3/DR4-DQB2/<br>DQB8 | rs3104413 | rs3104413Fi(C): AGTAGGGGTGTGGCCAGCAGCTGGTC<br>rs3104413Ri(G): CCACTGCAGGAGAAGCAAGCCAATAGGTGC<br>rs3104413Fo: CAGGGCTCTGGAGCTGGGTGTAAGTGTGGC<br>rs3104413Ro: TGAGAGGACCTTCTTCTGCCCCAACTCCCA | --                                       |
|                       | rs2854275 | rs2854275Fi(G): AGCCTTAAGTTTGGTGGCATCTTCTATG<br>rs2854275Ri(T): AGCTGTGGTTCTGGCTCCACATTCAA<br>rs2854275Fo: TAATATTTAGCCATGATCCAGTGTGGG<br>rs2854275Ro: TCTTCTGGGGAATATGAAGGGTTCACTC        | --                                       |
|                       | rs9273363 | rs9273363Fi(A): ATGTCTGCTTTCAGGGTCATGGCCCTA<br>rs9273363Ri(C): GAGTCTGGGAGCTTCTGCGAGGTTATAGG<br>rs9273363Fo: AATCTCAAGTGTGGTGCCTCTTTGTGC<br>rs9273363Ro: TCTGAGCTCCCTTTGTCAATTGACGTTGT     | --                                       |

ARTÍCULO ORIGINAL

## Aislamiento de *Bacillus cereus* en restaurantes escolares de Colombia

Ana Yibby Forero, Marisol Galindo, Gina E. Morales

Grupo de Nutrición, Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica,  
Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** *Bacillus cereus* es reconocido como un agente patógeno causante de intoxicaciones alimentarias. Se trata de una bacteria de metabolismo aerobio facultativo capaz de formar esporas, lo que le permite sobrevivir a la pasteurización y el calentamiento e, incluso, a la irradiación con los rayos gamma usados para reducir los agentes patógenos de los alimentos.

**Objetivo.** Estudiar la presencia de *B. cereus* y su toxina diarreica en el arroz y en alimentos a base de cereales, harinas o féculas listos para el consumo en restaurantes escolares de algunos departamentos de Colombia.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio descriptivo y transversal con alimentos listos para el consumo distribuidos en restaurantes escolares de los departamentos que más notifican enfermedades transmitidas por alimentos al sistema de vigilancia, así como en los de menor notificación.

**Resultados.** Se recolectaron 479 muestras en ocho departamentos, 74 municipios y 363 restaurantes escolares; el 63 % correspondió a muestras de arroz y el 37 % a alimentos como coladas. El 9 % de las muestras analizadas fueron positivas para *B. cereus* y, en el 91 % de estas, se detectó la toxina diarreica.

**Conclusiones.** En todos los departamentos estudiados se encontró *B. cereus*. El manejo de materias primas y el inadecuado tratamiento térmico de los alimentos fueron los factores directamente relacionados con las enfermedades transmitidas por alimentos. Es importante reforzar la vigilancia e incentivar la investigación y la notificación de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos para mejorar la calidad de la información, llevar a cabo acciones de comunicación, prevención y coordinación intersectorial, y con los manipuladores, con el fin de adoptar las medidas necesarias que garanticen la inocuidad de los alimentos, así como la eliminación de los factores de riesgo de estas enfermedades.

**Palabras clave:** enfermedades transmitidas por alimentos; *Bacillus cereus*; factores de riesgo, harina, almidones y féculas.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3802>

### Isolation of *Bacillus cereus* in school restaurants in Colombia

**Introduction:** *Bacillus cereus* is recognized as a pathogen that causes food poisoning. It is a facultative aerobic metabolism bacterium capable of forming spores, which allows it to survive pasteurization and heating even by the gamma irradiation used to reduce pathogens in food.

**Objective:** To study the presence of *Bacillus cereus* and its diarrheal toxin in rice and ready-to-eat cereals, flours, and starches in school restaurants in Colombia.

**Materials and methods:** We conducted a descriptive cross-sectional study of ready-to-eat foods distributed in school restaurants in the departments with the most and the least notification of food-borne diseases to the surveillance system.

**Results:** A total of 479 samples were collected from eight departments, 74 municipalities, and 363 school restaurants, 63% of which were rice samples and 37%, starchy food samples; 9% of them tested positive for *Bacillus cereus*. In 91% of the samples that tested positive, the bacterium was isolated with the presence of the diarrheal toxin.

**Conclusions:** In all the departments with *B. cereus* in the samples, the factors directly related to food-borne diseases were the handling of raw materials and the poor thermal treatment of food. Strengthening surveillance by stimulating research and reporting on outbreaks of foodborne diseases

#### Contribución de los autores:

Yibby Forero: dirección y enfoque del proyecto

Marisol Galindo: coordinación del trabajo de campo, recolección de información y muestras en campo

Gina Morales: recolección de información y muestras en campo

Todas las autoras participaron en el análisis de la información, los resultados y la discusión.

is important to improve the quality of information, to develop communication, prevention and intersectional coordination and manipulation measures, as well as to take the necessary actions to guarantee the safety of food and to eliminate the risk factors that may contribute to this problem.

**Key words:** Foodborne diseases; *Bacillus cereus*; risk factors; flour; starch and fecula.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3802>

Las enfermedades transmitidas por alimentos son originadas por la ingestión de alimentos o agua contaminados con agentes infecciosos específicos (bacterias, virus, hongos, parásitos), que pueden multiplicarse o romper su membrana celular en la luz intestinal y producir toxinas o invadir la pared intestinal y, desde allí, alcanzar otros aparatos o sistemas (1). Constituyen uno de los problemas de salud pública de mayor importancia a nivel mundial, ya que ocasionan gran morbilidad y mortalidad, principalmente en la población pobre, y en niños, mujeres embarazadas y ancianos, lo que genera pérdidas económicas y grandes costos para los servicios de salud (2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la incidencia anual de diarreas en el mundo es de 1.500 millones de casos, y que tres millones de niños menores de cinco años de edad mueren anualmente por esta causa (3).

Los cambios en los hábitos alimentarios de la sociedad, así como el consumo de alimentos envasados, de comidas por fuera del hogar, de comidas preparadas y de comidas rápidas, son factores que contribuyen al incremento de estas enfermedades (4,5).

En Estados Unidos se estiman en 76 millones los casos anuales de enfermedades transmitidas por alimentos, lo que implica 325.000 hospitalizaciones y 5.000 muertes (6). La tarea de estimar con cierta precisión la incidencia de estas enfermedades es difícil, ya que en muchos países los sistemas de vigilancia epidemiológica son inadecuados, los brotes se registran de manera insatisfactoria y solo una mínima parte se notifica a los servicios de salud; además, la investigación de los brotes es limitada. Según los registros del Sistema de Información de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA), durante

los últimos nueve años se informaron solo 6.511 brotes de estas enfermedades en 22 países de la región, y cerca de 250.000 personas se enfermaron y 317 fallecieron (7).

En Colombia, la vigilancia de las enfermedades transmitidas por alimentos empezó en el 2000, año en que se notificaron 2.983 casos. A partir de entonces, la notificación ha ido en aumento (8). Durante el 2015, se notificaron al Sistema de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila) 10.243 casos en 858 brotes reportados. Los grupos de edad con mayor proporción de casos fueron los de 10 a 14 años (15,40 %), de 5 a 9 años (15,36 %) y de 20 a 24 años (9,4 %) (9). En el 2016, se reportó al Sivigila *B. cereus* como uno de los principales agentes patógenos asociados con los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, especialmente por el queso y las verduras crudas en hogares y establecimientos educativos (10). El alto porcentaje de muestras de alimentos con pH neutro positivas para *B. cereus* puso de manifiesto el peligro de almacenar durante largos períodos y a temperatura ambiente estos productos.

Se sabe que *B. cereus* es un agente patógeno causante de intoxicaciones alimentarias (11) y que su patogenia se basa en la lisis de las células del tubo digestivo y en la posterior liberación de la toxina que ocasiona la diarrea, lo cual agudiza el cuadro clínico y representa un riesgo para la salud (12).

Los alimentos crudos de origen vegetal son la mayor fuente de *B. cereus*, organismo que se ha encontrado en vegetales, cereales y derivados (especialmente arroz), especias, leche cruda y pasteurizada, derivados lácteos, carnes crudas y sus derivados, entre otros (13).

En nuestro país, el arroz es de consumo masivo y hace parte de los menús de los establecimientos escolares, lo que lo convierte en un alimento muy importante para la población. Sin embargo, hay pocos estudios e información documentada sobre *B. cereus* y la mayoría de los datos disponibles son los consignados en el Sivigila y en el documento sobre el perfil de riesgo para *B. cereus* del Instituto Nacional de Salud (14).

Correspondencia:

Ana Yibby Forero, Avenida Calle 26 N° 51-20, oficinas B-250 y B-247, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 220 7700; extensión 1222  
[aforero@ins.gov.co](mailto:aforero@ins.gov.co)

Recibido: 15/02/17; aceptado: 08/12/17

En este contexto, en el presente estudio se estableció el perfil sanitario que permitió cuantificar el nivel de cumplimiento del Decreto 3075 de 1997 del Ministerio de Salud, en el cual se establecen los requisitos técnicos y sanitarios para los establecimientos de alimentos en Colombia (15).

Para diseñar las estrategias que garanticen la inocuidad de los alimentos y prevenir las enfermedades transmitidas por alimentos, es necesario constatar o descartar la presencia de *B. cereus* e identificar la toxina diarreica que es la que, en últimas, provoca la enfermedad, especialmente en poblaciones vulnerables como la de los niños beneficiarios de los restaurantes escolares.

### Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio descriptivo y transversal para determinar la presencia de *B. cereus* y su toxina diarreica en alimentos a base de cereales, el arroz, la harina o las féculas, listos para el consumo que se distribuyen en los restaurantes escolares de los establecimientos educativos de los departamentos que más notifican brotes de enfermedades transmitidas por alimentos debidas a *B. cereus* (Santander, Atlántico, Bolívar y Valle) y aquellos de poca notificación (Boyacá, Caquetá, Vichada y Chocó). Se hizo con el fin de detectar el posible subregistro en la notificación, y establecer la presencia del agente patógeno y su posible asociación con factores de riesgo presentes en los restaurantes escolares muestreados.

La muestra se seleccionó con base en un diseño probabilístico de dos etapas (inferencia del universo) utilizando un método aleatorio simple y un algoritmo coordinado negativo para escoger las unidades de muestreo: una primaria, el municipio, y una secundaria, el restaurante escolar, con un nivel de confianza del 95 %.

Todos los profesionales encargados de la recolección de la información, de las muestras y de su transporte, se capacitaron previamente y se estandarizó el proceso teniendo en cuenta los protocolos y los procedimientos del Grupo de Nutrición del Instituto Nacional de Salud.

Se verificaron los estándares de calidad en los restaurantes escolares en cuanto a su infraestructura, sus condiciones de saneamiento, y de manejo, almacenamiento, inocuidad, transporte y conservación de las materias primas, aspectos contemplados en la encuesta y en la lista de chequeo, con el fin de evaluar los aspectos relacionados con el uso

y el estado de los elementos de protección personal, los utensilios y el manejo de los alimentos por parte de los manipuladores. Por último, se tomaron las muestras de los alimentos a base de cereal y arroz, preparados y listos para el consumo.

La encuesta se le hizo al 100 % de los manipuladores de alimentos de cada uno de los establecimientos y la información se recolectó mediante el programa de captura de datos diseñado en el programa CSPro, aplicación del *Computer Assisted Personal Interviewing* (CAPI), desarrollada por la *Census Bureau* de los Estados Unidos para dispositivos móviles de captura. Con el fin de tener un control efectivo y detallado del avance de la recolección de la información y de las muestras, los datos se consolidaron una vez terminado el procedimiento en cada municipio. Con los cuadros de datos, se generaron frecuencias simples, las cuales se revisaron posteriormente. Para su verificación, se tabularon los datos recolectados en tiempo real, con el fin de detectar posibles errores. La información se sistematizó en las bases de datos de los programas Excel y Epi-Info™, 3.5.4.

Se recolectaron muestras de alimentos listos para el consumo a la hora del almuerzo. Cada muestra se recogió en un envase estéril y se rotuló según el protocolo, para luego mantenerlas a temperatura de refrigeración (4 a 8 °C) y enviarlas al Laboratorio de Nutrición del Instituto Nacional de Salud para su análisis en un tiempo máximo de 36 horas.

Una vez recibidas las muestras y verificadas las condiciones de almacenamiento, se procedió a detectar e identificar *B. cereus* empleando la metodología de recuento en placa; se utilizó el medio de cultivo agar verde brillante con polimixina B y trimetoprim (16). Para la confirmación de la toxina diarreica, se tomaron las colonias positivas y se usó el método de aglutinación pasiva con látex en fase inversa (*Reverse Passive Latex Agglutination*, RPLA) (17), utilizado en el Grupo de Nutrición.

Los resultados se registraron en términos de la presencia o ausencia de *B. cereus*. En las muestras positivas, se determinó la presencia o ausencia de la toxina diarreica.

### Consideraciones éticas

Esta investigación tuvo en cuenta las Normas Científicas, Técnicas y Administrativas de la Investigación en Salud establecidas en la resolución N° 008430 de 1993 en Colombia (18), según las cuales se clasificó como una investigación sin riesgo en la que se utilizaron encuestas y se recolectaron

muestras de alimentos que no requirieron ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los participantes en el estudio. Asimismo, a los participantes en el estudio se les explicaron los procedimientos y se les pidió la firma del consentimiento informado.

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética y el Comité Técnico del Instituto Nacional de Salud.

## Resultados

La encuesta se hizo en todos (100 %) los restaurantes seleccionados, 97,2 % de los cuales correspondía a restaurantes escolares en donde se preparan y sirven los alimentos y, el 2,8 % restante, a lugares de preparación de los alimentos diferentes al restaurante donde se sirven.

La mayoría de los establecimientos compraba las materias prima (leche y cereales) semanalmente, con excepción del pollo, el cual se compraba diariamente. En el 89,2 % de los restaurantes, se limpiaban y desinfectaban los vegetales antes de su almacenamiento. En el 78,2 %, las materias primas o alimentos crudos se almacenaban en sitios diferentes a los del almacenamiento de los productos terminados o cocidos; el 93,1 % de los restaurantes escolares no contaba con registros para llevar el control de la temperatura de los equipos de las áreas de frío. En Chocó y Caquetá no hubo ningún registro: en el 95,1 % de los establecimientos visitados solo se revisaba la fecha de vencimiento, pero sin registrarla, por lo que no se encontró evidencia del control de calidad de las materias prima que llegaban al servicio.

En el 66,6 % de los restaurantes, los encargados refirieron que el agua utilizada para la preparación de los alimentos provenía del acueducto; sin embargo, el 12 % utilizaba agua lluvia y el 8,6 % usaba agua de los ríos o quebradas, lo que, en caso de no estar tratada adecuadamente, aumenta el riesgo de enfermar. En 38,4% de los restaurantes encuestados no se disponía de tanque de almacenamiento para el agua. En 81 % de los restaurantes escolares en Bolívar y en 50 % de los de Boyacá, no se disponía de tanques de almacenamiento.

El 93,9 % de los equipos empleados para el manejo de alimentos estaban fabricados con materiales resistentes al uso y a la corrosión, y se registró la utilización frecuente de agentes de limpieza y desinfección. En el 43,6 % de los establecimientos escolares donde se preparaban y servían los

alimentos, las mesas y los mesones donde se manipulaban los alimentos tenían superficies lisas, con bordes sin aristas y estaban elaboradas con materiales resistentes, impermeables y lavables.

En todos (100 %) los restaurantes escolares los alimentos se preparaban para un solo día de servicio; el tiempo transcurrido desde la preparación y la hora en que se empezaba a servir variaba: en 15,3 % de ellos los servían antes de transcurrida una hora, en 37,4 %, entre una y dos horas; en 30,9%, entre dos y tres horas, y en 16,2 %, en un tiempo superior a las tres horas.

En cuanto a los manipuladores, el 60,5 % de ellos usaba ropa adecuada para la preparación de los alimentos. El 80,7 % de los encuestados dijo lavarse las manos con agua y jabón antes de comenzar su trabajo, después de utilizar el baño, cada vez que salía o regresaba al área asignada y después de manipular cualquier material u objeto que pudiera contaminar el alimento. Casi la mitad (46,1 %) no usaba el tapabocas de forma adecuada. Aunque estos datos no son relevantes a la hora de determinar la presencia o el incremento de *B. cereus*, estas preguntas se contemplaron en el perfil sanitario.

Las muestras de alimentos listos para el consumo (479), se recolectaron en ocho entidades territoriales, 74 municipios y 36 restaurantes escolares.

En Atlántico, se encontró *B. cereus* en 11 restaurantes de los 16 muestreados; en tres de ellos, las muestras de arroz y de alimento a base de cereal fueron positivas para este microorganismo. En Bolívar, en 20 restaurantes de los 93 en donde se tomaron muestras, se detectó *B. cereus* en alguna de ellas. En Boyacá, se detectó *B. cereus* en 10 restaurantes de 78 y, en uno de ellos, las dos muestras en estudio (arroz y colada) fueron positivas para este agente. En tres restaurantes de Santander, en siete de Caquetá, en tres de Chocó, en dos de Valle del Cauca y en uno de Vichada, las muestras fueron positivas para *B. cereus*. En estos departamentos todas las muestras con resultados positivos para *B. cereus* también lo fueron para la toxina diarreica.

En general, en el 17 % de los 363 restaurantes visitados se detectó *B. cereus*; 11 % de estos se ubicaba en el área urbana y, 6 %, en la rural. El 63 % de las muestras procesadas correspondió a arroz y, el 37 %, a alimentos a base de cereal, principalmente coladas.

Como se observa en el cuadro 1, el 9 % de las muestras analizadas fueron positivas para *B. cereus*.

En el 91 % de estas, se aisló la bacteria con presencia de toxina diarreica. En Boyacá, se tomó el mayor número de muestras (26 %), tanto de arroz como de alimentos a base de cereal. En Vichada, solo se tomaron muestras de alimentos a base de cereal. En todos los departamentos incluidos en el estudio, se encontraron muestras positivas para *B. cereus*, y Bolívar fue el de mayor número de muestras positivas. En proporción con la cantidad de muestras, Atlántico y Vichada registraron los mayores porcentajes de presencia de la bacteria. Se logró aislar la toxina diarreica en todas las muestras positivas para *B. cereus* en Caquetá, Chocó, Santander, Valle del Cauca y Vichada.

## Discusión

Es importante tener en cuenta que los restaurantes escolares del país son una estrategia gubernamental que promueve el acceso y la permanencia de los niños en el sistema educativo oficial, ofreciendo un complemento alimentario durante la jornada escolar para mantener la asistencia y los niveles de atención de los escolares, y propender por la salud de los beneficiarios del programa cumpliendo con unas mínimas condiciones y estándares de calidad que garanticen alimentos inocuos para los niños.

En los estudios realizados en Cuba (20,4 %) (19), Chile (26,6 %) (20) y Argentina (21), la prevalencia de *B. cereus* fue mayor que la registrada en el presente estudio, la cual fue de 9 %. Sin embargo, es preocupante que casi en todas las muestras positivas para este microorganismo se encontró la toxina diarreica, lo que implica un gran riesgo para la salud de los niños en edad escolar, población beneficiaria de estos restaurantes escolares.

Algunos factores pueden contribuir a que *B. cereus* se convierta en fuente de intoxicación alimentaria. La adecuada relación entre tiempo y

temperatura, así como la manipulación posterior de los alimentos, son fundamentales para garantizar la eliminación de este microorganismo. El enfriamiento prolongado, el recalentamiento y la manipulación inadecuada de los alimentos, en su conjunto, así como la contaminación de las materias prima, podrían ser la fuente de la contaminación y de la dificultad de eliminar bacterias esporuladas mediante métodos convencionales, por lo cual los alimentos deben ser refrigerados o consumidos en caliente inmediatamente después de la cocción.

En el presente estudio, el análisis del perfil sanitario permitió detectar que el común denominador en los restaurantes fue la conservación de los alimentos a temperatura ambiente después de su cocción, pues solo en 1 % de los casos se refrigeraban los alimentos o se consumían inmediatamente después de la cocción. Se evidenció que existen grandes limitaciones de infraestructura en los restaurantes escolares, especialmente en lo que hace referencia a los mesones y el almacenamiento de los alimentos, lo cual aumenta los riesgos de contaminación cruzada y la probabilidad de la presencia de *B. cereus* y de la toxina, lo que agrava la enfermedad, sobre todo en niños en edad escolar.

En todos los departamentos estudiados, se encontró *B. cereus* con mayor frecuencia en los restaurantes escolares de áreas urbanas (11,3 %) que en los de las rurales (5,5 %) y, con menor frecuencia, en las muestras de alimentos a base de cereal (7,3 %) que en las de arroz (7,5%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los departamentos de mayor notificación con aquellos de poca notificación.

La inadecuada manipulación de alimentos durante su almacenamiento, preparación y conservación, así como el tiempo transcurrido entre su preparación

**Cuadro 1.** Cantidad de muestras tomadas por departamento, presencia de *Bacillus cereus* y presencia de toxina diarreica

| Departamento    | Número de muestras | Arroz | Alimentos a base de cereal | Presencia de <i>B. cereus</i> |                            |    | Presencia de toxina diarreica |                            |     |
|-----------------|--------------------|-------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|----|-------------------------------|----------------------------|-----|
|                 |                    |       |                            | Arroz                         | Alimentos a base de cereal | %  | Arroz                         | Alimentos a base de cereal | %   |
| Atlántico       | 31                 | 17    | 14                         | 4                             | 4                          | 26 | 4                             | 2                          | 75  |
| Bolívar         | 111                | 67    | 44                         | 7                             | 7                          | 13 | 6                             | 7                          | 93  |
| Boyacá          | 125                | 76    | 49                         | 3                             | 4                          | 6  | 3                             | 3                          | 86  |
| Caquetá         | 72                 | 52    | 20                         | 2                             | 3                          | 7  | 2                             | 3                          | 100 |
| Chocó           | 47                 | 31    | 16                         | 3                             | 0                          | 6  | 3                             | 0                          | 100 |
| Santander       | 37                 | 20    | 17                         | 0                             | 2                          | 5  | 0                             | 2                          | 100 |
| Valle del Cauca | 52                 | 38    | 14                         | 3                             | 1                          | 8  | 3                             | 1                          | 100 |
| Vichada         | 4                  | 0     | 4                          | 0                             | 1                          | 25 | 0                             | 1                          | 100 |
| Total           | 479                | 301   | 178                        | 22                            | 22                         | 9  | 21                            | 19                         | 91  |

y su consumo, son los factores de mayor asociación con la contaminación con *B. cereus* y la presencia de la toxina. Asimismo, una materia prima con una elevada carga inicial de bacterias también es un factor que se debe considerar. En este sentido, es importante que las autoridades sanitarias se comprometan a trabajar con los otros sectores comprometidos en el proceso de inspección, vigilancia y control, incluidos los laboratorios encargados de la detección rutinaria de *B. cereus* y de la toxina, para lograr una mejor caracterización de esta situación y los peligros que entraña.

Debe haber mayor supervisión, interventoría, vigilancia y control en estos establecimientos. Además, es necesario estimular la investigación y la notificación de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, con el objeto de mejorar la calidad de la información. También, debe ampliarse la vigilancia de la cadena de elaboración, distribución y expendio de los alimentos por parte de las autoridades sanitarias regionales, así como desarrollar acciones de prevención y coordinación intersectorial dirigidas a los consumidores y los elaboradores de alimentos mediante campañas de comunicación, con el fin de garantizar la inocuidad de los alimentos.

### Conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses.

### Financiación

Este proyecto fue financiado por el Ministerio de Salud y Protección Social y el Instituto Nacional de Salud.

### Referencias

1. **Organización Panamericana de la Salud.** Guía para el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos (Veta) y la investigación de brotes de toxi-infecciones alimentarias. Programa de Salud Pública Veterinaria. Fecha de consulta: 18 de enero de 2015. Disponible en: <https://www.assal.gov.ar/assa/userfiles/file/guia%20veta.pdf>
2. **Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Organización Mundial de la Salud (OMS).** Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe, 6-9 de diciembre de 2005, San José (Costa Rica): "Medidas prácticas para promover la inocuidad de los alimentos". Fecha de consulta: 8 de junio de 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/008/j7050s/j7050s00.pdf>
3. **Organización Mundial de la Salud.** Inocuidad de los alimentos. Fecha de consulta: 18 de enero de 2015. Disponible en: [http://www.who.int/topics/food\\_safety/es/](http://www.who.int/topics/food_safety/es/)
4. **Olea A, Díaz J, Fuentes R, Vaquero A, García M.** Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Rev Chilena Infectol.* 2012;29;504-10. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000600004>
5. **Majowicz SE, Horrocks J, Bocking K.** Demographic determinants of acute gastrointestinal illness in Canada: A population study. *BMC Public Health* 2007;7:162. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-162>
6. **Alerte V, Cortés S, Díaz J, Vollaire J, Espinoza E, Solari V, et al.** Foodborne disease outbreaks around the urban Chilean areas from 2005 to 2010. *Rev Chilena Infectol.* 2012;29:26-31. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000100004>
7. **Kopper G, Calderón G, Schneider S, Domínguez W, Gutiérrez G.** Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO); 2009. Fecha de consulta: 8 de junio de 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>
8. **Instituto Nacional de Salud.** Informe final enfermedades transmitidas por alimentos, Colombia, 2014. Fecha de consulta: 8 de junio de 2016. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ETA%202014.pdf#search=Informe%20final%20enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos%2C%20Colombia%2C%202014>
9. **Instituto Nacional de Salud.** Informe final, enfermedades transmitidas por alimentos, Colombia, 2015. Fecha de consulta: 8 de junio de 2016. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ETA%202015.pdf#search=Informe%20final%20enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos%2C%20Colombia%2C%202015>
10. **Instituto Nacional de Salud.** Protocolo de vigilancia y control de enfermedades transmitidas por alimentos. Bogotá, 2010. Fecha de consulta: 8 de junio de 2016. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/comunicadosPrensa/Documents/ETA.pdf>
11. **Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria.** Mapa de peligros alimentarios. *Bacillus cereus*. 2012. Fecha de consulta: 8 de junio de 2016. Disponible en: [http://mapaperills.grisc.cat/pdf/perills/112\\_biobac-Bacillus.pdf](http://mapaperills.grisc.cat/pdf/perills/112_biobac-Bacillus.pdf)
12. **Pérez I.** *Bacillus cereus* y su papel en las intoxicaciones alimentarias. *Rev Cubana de Salud Pública.* 2012;38;98-108.
13. **Fangio M, Roura S, Fritz R.** Isolation and identification of *Bacillus* spp. and related genera from different starchy foods. *J Food Sci.* 2010;75:M218-21. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01566.x>
14. **Ministerio de la Protección Social, Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos, Instituto Nacional de Salud.** Perfil de riesgo *Bacillus cereus* en alimentos listos para consumo no industrializados. Bogotá, D.C.: Imprenta Nacional de Colombia; 2011. p. 7.
15. **Presidencia de la República de Colombia.** Decreto 3075 de 1997. Por el cual se reglamenta la ley 09 de 1974 y se dictan otras disposiciones. Bogotá; 1997.
16. **Instituto Nacional de Salud Pública de Chile.** Procedimiento de recuento en placa de *Bacillus cereus* en

- alimentos: PRT- 712.04-035. Chile; 2008. p. 1-3. Fecha de consulta: 18 de enero de 2015. Disponible en: [http://www.ispch.cl/lab\\_amb/doc/microbiologia\\_alimentos/PRT-035.pdf](http://www.ispch.cl/lab_amb/doc/microbiologia_alimentos/PRT-035.pdf)
17. **Instituto Nacional de Salud Pública de Chile.** Procedimiento de detección de enterotoxina diarreica de *Bacillus cereus* en cepas aisladas de alimento. Técnica de aglutinación reversa pasiva en látex (RPLA): PRT-712.04-079. Chile; 2009. p. 1-7. Fecha de consulta: 18 de enero de 2015. Disponible en: <http://www.ispch.cl/documentorecnico/13768>
  18. **Ministerio de Salud.** Resolución 8430 de 1993. Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Bogotá, 1993.
  19. **Martino T, Leyva V, Puig Y, Machin M, Aportela N, Ferrer Y.** *Bacillus cereus* y su implicación en la inocuidad de los alimentos. Parte I. Rev Cubana Salud Pública. 2010; 36:128-38.
  20. **Oviedo H.** Intoxicación alimentaria y *Bacillus cereus*. Tecno Vet. 2010;2. Fecha de consulta: 8 de junio de 2016. Disponible en: <http://www.tecnovet.uchile.cl/index.php/RT/article/view/5158/5040>
  21. **Arango J, Agostini A, Silvestre A, Yaafar M, López C, Fishmann H.** Condiciones sanitarias de los comedores comunitarios del conurbano de Buenos Aires, Argentina. Pan Am J Public Health. 1997;2:225-31.

ORIGINAL ARTICLE

## Full-term low birth weight and its relationship with the socioeconomic conditions of municipalities in Antioquia: Spatio-temporal analysis

Luz Stella Álvarez-Castaño<sup>1</sup>, Beatriz Caicedo-Velásquez<sup>2</sup>, Catalina Castaño-Díez<sup>3</sup>,  
Marc Marí-Dell'Olmo<sup>4,5,6,7</sup>, Mercè Gotsens<sup>4,5,6,7</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Determinantes Sociales de la Salud y la Nutrición, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Epidemiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Nutrición y Dietética, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Agència de Salut Pública de Barcelona, Barcelona, España

<sup>5</sup> CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, España

<sup>6</sup> Institut d'Investigació Biomèdica, IIB Sant Pau, Barcelona, España

<sup>7</sup> Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España

**Introduction:** Low birth weight is one of the main health predictors for childhood and adulthood. It is highly prevalent in developing countries and in children from poorer social classes.

**Objective:** To analyze the geographical distribution and the trends of full-term low birth weight in the 125 municipalities of the department of Antioquia and their association with the socioeconomic conditions of the municipalities between 2000 and 2014.

**Materials and methods:** We conducted a longitudinal ecological study. The dependent variable was the prevalence of full-term low birth weight in 125 municipalities. The socioeconomic conditions of the municipalities were evaluated using the Human Development Index and the unsatisfied basic needs index.

**Results:** Between 2000 and 2014, the prevalence of full-term low birth weight in Antioquia was 2.7 per 100 live births; this prevalence decreased steadily over time. This trend was also observed between regions, with the exception of the Occidente and Urabá regions, which showed increases of approximately 20.0%. The results also showed a reduction in geographical differences between the 125 municipalities, with the coefficient of variation decreasing from 20.6% to 13.72% over the 14-year period. Finally, we found a positive social gradient between the full-term low birth weight prevalence and the level of development in the municipalities.

**Conclusion:** Full-term low birth weight prevalence decreased between 2000 and 2014, with some regions showing greater reductions than others. Paradoxically, less developed and poorer areas had a lower prevalence, which may be a result of underreporting of birth weight information in these municipalities.

**Key words:** Health inequalities; spatial analysis, geographical mapping, social determinants of health.  
doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3734>

### Bajo peso al nacer en niños nacidos a término en Antioquia y su relación con las condiciones socioeconómicas de los municipios, un análisis espacio-temporal

**Introducción.** El bajo peso al nacer es uno de los principales indicadores predictores de la salud en la infancia y la adultez, y su prevalencia es elevada en los países en desarrollo y en niños de clases sociales pobres.

**Objetivo.** Analizar la distribución geográfica y la tendencia del bajo peso al nacer de niños nacidos a término en los 125 municipios de Antioquia, y su asociación con las condiciones socioeconómicas de los municipios entre el 2000 y el 2014.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio ecológico longitudinal. La variable dependiente fue el bajo peso al nacer a término en los 125 municipios; las condiciones socioeconómicas de los municipios se evaluaron según sus índices de desarrollo humano y de necesidades básicas insatisfechas.

#### Authors' contributions:

Luz Stella Álvarez-Castaño: main idea of the study, development work, writing and interpretation of the findings

Beatriz Caicedo-Velásquez: statistical design, data analysis, interpretation of findings

Catalina Castaño-Díez: data analysis and interpretation of the findings

Marc Marí-Dell'Olmo and Mercè Gotsens: data processing and analysis

All the authors reviewed and approved the final version of this manuscript.

**Resultados.** La prevalencia de bajo peso al nacer a término en Antioquia fue de 2,7 por 100 nacidos vivos entre 2000 y 2014, con una reducción constante. Esta tendencia se observó en todas las subregiones, excepto en las de Occidente y Urabá, en las cuales el incremento fue de 20 %. Los resultados evidenciaron una reducción de las brechas geográficas entre los 125 municipios. Además, en todos los trienios se evidenció un gradiente social positivo en la asociación entre el bajo peso al nacer a término y las condiciones socioeconómicas de los municipios.

**Conclusión.** Se observó una mayor tendencia decreciente del bajo peso al nacer a término en unas subregiones. Paradójicamente, se registró una menor prevalencia de bajo peso al nacer a término en las regiones menos desarrolladas y más pobres, lo que posiblemente se explica por el subregistro del peso al nacer.

**Palabras clave:** desigualdades en la salud; análisis espacial, mapeo geográfico, determinantes sociales de la salud.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3734>

Currently, low birth weight (LBW) is listed as the most important predictive index of child mortality (especially neonatal mortality) and the calculation of its prevalence is considered a relevant health indicator (1). Low birth weight is defined by the World Health Organization (WHO) as a newborn with a birth weight of 2,500 grams or less (2). The United Nations, the United Nations International Children's Emergency Fund (UNICEF), and the Economic Commission for Latin American and the Caribbean (ECLAC) have reported that the risk of neonatal death in children born with a LBW is four times higher than that of children weighing 2,500 to 2,999 g at birth and 10 to 14 times higher compared to children born with weights between 3,000 and 3,499 g (3).

Low birth weight is an important prediction mechanism for newborn health and survival. It is a determinant of nutritional status and is associated with morbidity, decreased immune functions and difficulties in cognitive development. In adulthood, LBW is associated with increased risk of developing non-communicable diseases (4). It is estimated that a significant number of children who survive LBW suffer from neurological and intellectual disorders. Moreover, high LBW prevalence increases outpatient and hospital morbidities for different diseases, such as acute respiratory infection, acute diarrheal disease, urinary sepsis and anemia (5).

Two indicators are used by governmental health institutions in Colombia for birth weight surveillance: LBW in all gestational ages and full-term LBW, which excludes preterm babies (5).

According to the Pan American Health Organization (PAHO), in 2012, Colombia had a LBW prevalence of 9,2%, a rate that exceeds the average for Latin America and the Caribbean (7,8%) (5). A study carried out by the *Instituto Nacional de Salud* found that in Colombia, the prevalence of LBW rose continuously from 7.2% in 1998 to 8.6% in 2012. Although there are still no definitive data, the rate for 2015 was estimated to be 9.0%, assuming that conditions remained the same. The cited study also showed that Antioquia's full-term LBW prevalence was 3,0% in 2015, which was higher than the Colombian average of 2.6% (5). Antioquia is located in northwestern Colombia and is the most populous department in the country, and the sixth in extension (6).

Low birth weight has contextual and individual determinants, including the following: Being the firstborn, gender (more frequent in girls), having complications in the womb due to non-specific infections, and being a child of a young mother or a mother living in precarious socioeconomic conditions who has poor nutrition for long durations before and during pregnancy (1,4,7). Other factors that influence LBW are prior medical risks (i.e., arterial hypertension and kidney or thyroid disease) and complications during pregnancy, including gestational hypertension, inadequate weight gain during pregnancy, a short interval between pregnancies, gestational diabetes and performing an excessive or inappropriate amount of physical work (1,8).

Low birth weight is a phenomenon that mainly occurs in developing countries, where it is one of the main mechanisms for the intergenerational transmission of poverty and inequality (9). In industrialized countries, the percentage of LBW is approximately 7%, whereas, in developing countries, it is higher than 17% (7) and can exceed 40% in some cases (4).

Corresponding author:

Luz Stella Álvarez-Castaño, Carrera 75 N° 65-87, bloque 44, oficina 112, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Telephone number: (574) 219 9217

[luz.alvarez@udea.edu.co](mailto:luz.alvarez@udea.edu.co)

Received: 05/01/17; accepted: 15/12/17

The effects of the geographical location on birth weight have been observed for various features at the individual level (10). Contextual and multi-level analysis studies have attempted to explain the association between the individual and the territory or geographical area and LBW (11,12). Some studies have reported that neighborhood conditions influence the health outcomes of children, with impoverished environments, low education levels, and overcrowded housing all being associated with an increased risk of LBW (13-15). Furthermore, it has been suggested that other aspects of the physical and social environment are related to LBW. These factors include stress, environments with violence and crime, racial discrimination, air pollution, low levels of social cohesion, environments with few opportunities for outdoor recreation, and unemployment (11,15-17).

In this study, we aimed at determining the geographical distribution and the trends in low birth weight in the municipalities of the department of Antioquia and their association with the socioeconomic conditions of the municipalities between 2000 and 2014.

## Materials and methods

### *Design, unit of analysis and study population*

We conducted an ecological study that analyzed full-term LBW trends using data from the 125 municipalities of Antioquia between 2000 and 2014. Antioquia is divided geographically into 9 subregions: Bajo Cauca, Magdalena Medio, Nordeste, Norte, Occidente, Oriente, Suroeste, Urabá and Valle de Aburrá. The analysis units were the 125 municipalities, which contain 14,5% of the Colombian population (18). In 2012, the smallest municipality had a population of 2,290 inhabitants and the largest had a population of 2,393,011 inhabitants. The study population consists of live births to mothers who resided in any of the 125 municipalities of Antioquia between 2000 and 2014.

The subregions with a better quality of life include Valle de Aburrá, Oriente, and Suroeste. Medellín and other larger cities are all located in the first subregion. Manufacturing and services are the leading economic sectors in this subregion. The Oriente and Suroeste subregions have medium-sized cities, and their economies are based on agricultural production, including coffee, and services (6).

The poorest regions of Antioquia are Urabá and Bajo Cauca. Urabá's economy is based on the banana agroindustry, while Bajo Cauca is a mining

region. Both are characterized by the presence of illegally armed groups and have a strong presence of illicit crops and illegal mining (6).

The Norte, Nordeste, Occidente and Magdalena Medio subregions have small cities with high proportions of poor populations working on small farms who lack basic public utilities. All of the subregions have armed illegal groups (6).

### *Information sources*

Data on live births grouped by municipality and year (2000-2014) were obtained from the *Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas*, (DANE). The data on municipal socioeconomic characteristics for 2005 were obtained from the Statistical Yearbook of Antioquia and the National Human Development Report.

### *Variables*

*Dependent variable: Prevalence of LBW at the municipal level.* The dependent variable was the LBW, which was defined as the number of live births with a birth weight of 2,500 grams or less in every 100 live births from singleton pregnancies lasting 37 weeks of gestation, or more. Therefore, hereafter, we call our dependent variable Full-Term Low Birth Weight (FT-LBW). The mothers in this study were between 18 and 45 years of age.

*Independent variables: Socioeconomic conditions of the municipalities.* We analyzed two socioeconomic indicators as independent variables:

- The percentage of the population with unsatisfied basic needs (UBN) to measure the proportion of the population that had at least one of the following unmet basic needs in 2005: inadequate housing, housing with critical overcrowding, housing with inadequate services, housing with high economic dependence, and housing with school-age children who did not attend school. This variable was expressed in quintiles.
- The municipal human development index (HDI) to measure the level of development in each municipality in 2005 for three dimensions: health, education, and income. This variable was expressed in quintiles.

### *Statistical analysis*

To provide a sample size adequate to produce robust LBW estimates, birth data were aggregated into five time-periods: 2000-2002, 2003-2005, 2006-2008, 2009-2011, and 2012-2014.

First, we estimated the prevalence of FT-LBW for each subregion, municipality and period using as the numerator, the number of live births to mothers between ages 18 and 45 who delivered babies with a birth weight of 2.500 grams or less at 37 or more weeks of gestation. The denominator was the total number of live births resulting from singleton pregnancies lasting 37 weeks of gestation or more in mothers between 18 and 45 years of age. Then we multiplied this ratio by 100 to obtain the prevalence of FT-LBW.

To improve the accuracy of the estimates for municipalities with a low number of live births, the prevalence for each time period was smoothed using the Bayesian hierarchical model proposed by Besag, York, and Mollie (BYM) (19,20). This model combines information on LBW from each municipality with the average of the neighboring municipalities, thereby reducing the variability of the estimates. The BYM model was specified for each municipality and study period as:

$$Y_i \sim \text{Binomial}(n_i, p_i) \\ \text{logit}(p_i) = \beta_0 + v_i + u_i$$

where  $n_i$  is the denominator within each municipality  $i$ . Prevalence in each municipality  $i$  is represented by  $p_i$ . The model has two random effects reflecting the non-spatial and spatial variables ( $v_i$  and  $u_i$ , respectively). These random effects allow for the estimation of the smoothed prevalence for each municipality and time period as  $\exp(\beta_0 + v_i + u_i)$ . For spatial effects, *a priori* distributions were assigned through an intrinsic conditional auto-regression (ICAR) distribution with a variance of  $\sigma_v^2$  (20). For non-spatial effects, a normal distribution was used with a mean of zero and a variance of  $\sigma_u^2$ . A half-normal distribution with a mean of 0 and a precision of 0.0001 was assigned to the standard deviations  $\sigma_v$  and  $\sigma_u$  (21). A normal vague prior distribution was assigned to the parameters  $\alpha$ .

This model estimates the *a posteriori* mean of the smoothed prevalence and its respective 95% credible interval for each municipality. Maps and tables are used to represent the distribution of the smoothed prevalence values and the probability of each municipality showing an FT-LBW prevalence higher than that of Antioquia as a whole (i.e., for each municipality  $i$  was calculated as  $\Pr P_i = \text{Probability}(\text{smoothed } P_i > \text{prevalence of Antioquia})$ .

Descriptive statistics analyses were conducted using: 1) Tables and bar graphs displaying the prevalence of each period and subregion and its respective 95% confidence intervals; 2) choropleth

maps displaying the geographical variation of the FT-LBW prevalence in each period and its corresponding *a posteriori* mean; 3) contingency tables showing the distribution of FT-LBW prevalence according to period and quintiles of the socioeconomic variables, and 4) estimates of the coefficient of variation for each period, which help to describe the geographical inequalities of FT-LBW and their evolution over time. The coefficient of variation was calculated using the ratio between the standard deviation of the municipal prevalence values and their mean.

Finally, we analyzed the evaluation of the relationship between the FT-LBW prevalence and the socioeconomic conditions in the five periods, as well as their changes over time. For this analysis, the BYM model was used as an ecological regression model that included socioeconomic variables separately, the time period and its interaction with socioeconomic variables. These were categorized into quintiles and were included in separate models as four dummy variables (QSE), with the less poor or less developed areas serving as the reference group. Similarly, time period was included in the model using four dummy variables (P), in which the first period (2000-2002) was used as the reference category. The ecological regression model was specified as follows:

$$\text{logit}(p_{it}) = \beta_0 + \sum_{j=1}^4 \beta_j P_{(j+1),t} + \sum_{j=5}^8 \beta_j Q_{SE(j-3),i} + \sum_{j=9}^{12} \beta_j \cdot P_{2,t} \cdot QSE_{(j-7),i} \\ + \sum_{j=13}^{16} \beta_j \cdot P_{3,t} \cdot QSE_{(j-11),i} + \sum_{j=17}^{20} \beta_j \cdot P_{4,t} \cdot QSE_{(j-15),i} \\ + \sum_{j=21}^{24} \beta_j \cdot P_{5,t} \cdot QSE_{(j-19),i} + v_{it} + u_{it}$$

where each municipality is represented as  $i$  and each period as  $t$  ( $t=1$  for period 2000-2002,  $t=2$  for period 2003-2005,  $t=3$  for period 2006-2008,  $t=4$  for period 2009-2011, and  $t=5$  for period 2012-2014). Table 1 shows the main results of this model. Specifically, for each period, the relative risk (RR) of FT-LBW in each socioeconomic group, along with the corresponding 95% credible intervals (95% CI). That is, for the first period,  $\exp[\beta_j]$  ( $j = 5, \dots, 8$ ), for the second period,  $\exp[\beta_j + \beta_{j+4}]$  ( $j = 9, \dots, 12$ ), for the third period,  $\exp[\beta_j + \beta_{j+8}]$  ( $j = 13, \dots, 16$ ), for the fourth period,  $\exp[\beta_j + \beta_{j+12}]$  ( $j = 17, \dots, 20$ ), and for the fifth period,  $\exp[\beta_j + \beta_{j+16}]$  ( $j = 21, \dots, 24$ ).

These models were estimated using the integrated nested Laplace approximation (INLA) algorithms available in the INLA library of the R.3.3.0 statistical package (22).

## Results

Between 2000 and 2014, there were 886,570 live births in Antioquia. Of these, 24,312 were born with FT-LBW, for an estimated prevalence of 2.7 per 100 live births. Analysis of the differences in FT-LBW between subregions found that three subregions had a significantly higher FT-LBW prevalence than Antioquia as a whole (Norte, Oriente, and Valle de Aburrá). The prevalence in the Norte subregion was substantially greater than the prevalence in Antioquia, whereas the prevalence estimates for Bajo Cauca, Magdalena Medio, Nordeste, and Urabá were lower (figure 1).

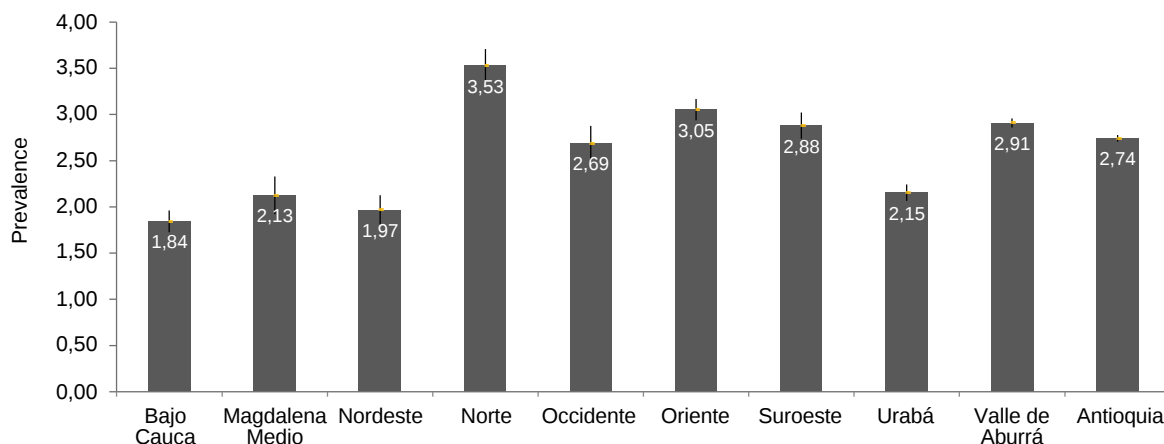
When we examined FT-LBW trends, it was clear that there was a significant 34% decrease in its prevalence from the first time period (2000-2002) to the fifth (2012-2014), as the rate changed from 3.21 births/100 to 2.12/100 (table 2).

This decreasing trend was similar between subregions. Figure 2 shows the proportion of the change in the prevalence for each subsequent time period compared to the first time period (2000-2002). Positive values indicate a reduction, whereas negative ones indicate increases. The figure shows how the largest reductions in all measured time periods were observed in Nordeste, Valle de Aburrá, and Bajo Cauca subregions, with 43,5%, 36,5%, and 34,0% decreases, respectively, compared with the first time period. In contrast, the Occidente and Urabá subregions had increased prevalence rates of approximately 20.0% for the 2006-2008 and 2009-2011 periods, compared with the first time period. The three subregions with the largest improvement in the last time period were Occidente, Urabá, and Norte. These subregions initially had increasing prevalence rates in 2006 and 2011 but reversed this trend with marked reductions in 2012-2014.

**Table 1.** Relative risk of full-term low birth weight in quintiles of poverty (UBN) and development (HDI) by time period in 125 municipalities in Antioquia, 2000-2014

|                | 2000-2002        | 2003-2005        | 2006-2008        | 2009-2011          | 2012-2014          |
|----------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|
|                | RR (95% CI)      | RR (95% CI)      | RR (95% CI)      | RR (95% CI)        | RR (95% CI)        |
| <b>UBN</b>     |                  |                  |                  |                    |                    |
| Less poor      | 1.00             | 1.00             | 1.00             | 1.00               | 1.00               |
| Q2             | 0.92 (0.76-1.09) | 0.92 (0.74-1.13) | 0.98 (0.77-1.23) | 1.23 (0.97 – 1.54) | 1.05 (0.84 – 1.29) |
| Q3             | 0.88 (0.73-1.05) | 0.94 (0.76-1.15) | 1.08 (0.86-1.35) | 1.04 (0.82 – 1.30) | 1.14 (0.92 – 1.40) |
| Q4             | 0.80 (0.65-0.98) | 0.8 (0.62-1.00)  | 0.89 (0.69-1.15) | 0.94 (0.72 – 1.21) | 0.83 (0.65 – 1.04) |
| Poorest        | 0.85 (0.67-1.06) | 0.81 (0.61-1.04) | 0.94 (0.71-1.24) | 0.99 (0.74 – 1.31) | 0.89 (0.70 – 1.13) |
| <b>HDI</b>     |                  |                  |                  |                    |                    |
| Less developed | 1.00             | 1.00             | 1.00             | 1.00               | 1.00               |
| Q2             | 1.12 (0.92-1.36) | 0.93 (0.75-1.14) | 0.98 (0.77-1.23) | 0.93 (0.74 – 1.16) | 1.02 (0.80 – 1.27) |
| Q3             | 1.08 (0.87-1.31) | 1.11 (0.89-1.37) | 1.18 (0.93-1.49) | 1.09 (0.86 – 1.36) | 1.17 (0.92 – 1.46) |
| Q4             | 1.17 (0.94-1.44) | 1.19 (0.94-1.49) | 1.15 (0.89-1.46) | 1.36 (1.06 – 1.72) | 1.38 (1.07 – 1.73) |
| More developed | 1.05 (0.83-1.31) | 0.98 (0.76-1.25) | 0.96 (0.73-1.24) | 1.13 (0.87 – 1.45) | 1.11 (0.86 – 1.41) |

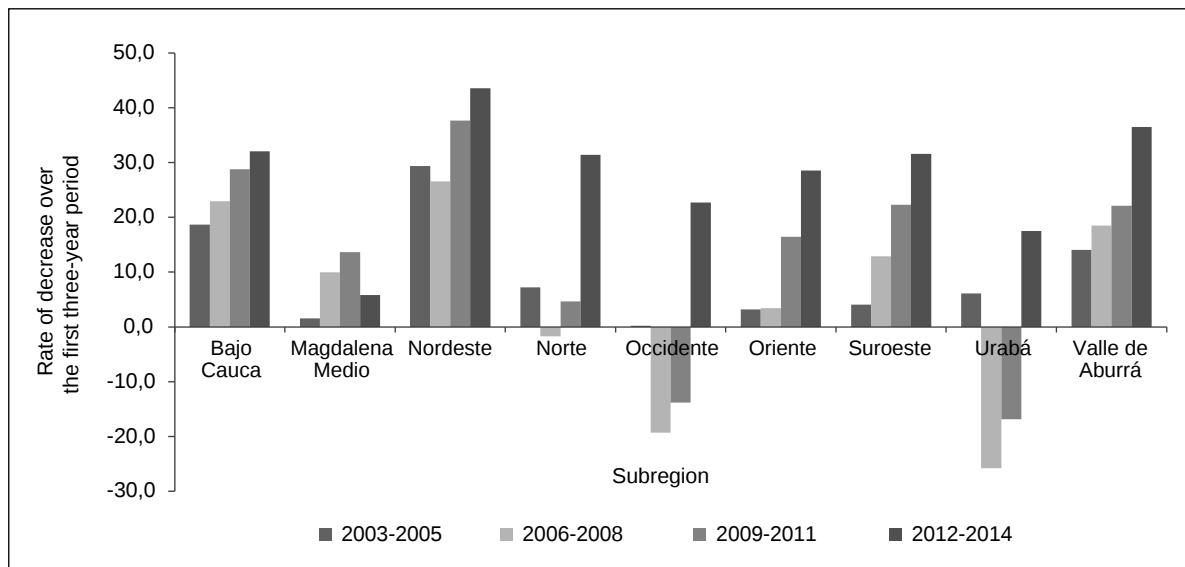
Q2: quintile 2; Q3, quintile 3; Q4: quintile 4; CI: confidence interval



**Figure 1.** Prevalence and respective 95% confidence intervals of full-term low birth weight by subregion in Antioquia, 2000-2014

**Table 2.** Distribution of live births and prevalence (percent) of full-term low birth weight, Antioquia, 2000-2014

| Period    | Full-term low birth weight (n) | Births (n) | Prevalence | IC (95%)  |
|-----------|--------------------------------|------------|------------|-----------|
| 2000-2002 | 6,472                          | 201,862    | 3.21       | 3.12-3.28 |
| 2003-2005 | 5,272                          | 187,330    | 2.81       | 2.73-2.89 |
| 2006-2008 | 5,152                          | 183,982    | 2.80       | 2.72-2.87 |
| 2009-2011 | 4,137                          | 158,477    | 2.61       | 2.53-2.69 |
| 2012-2014 | 3,279                          | 154,919    | 2.12       | 2.04-2.18 |
| 2000-2014 | 24312                          | 886,570    | 2.74       | 2.70-2.77 |


**Figure 2.** Change in the prevalence of full-term low birth weight comparing the first period (2000-2002) with the other study periods, Antioquia

The trends observed in Antioquia as a whole and in each subregion did not provide information on the larger geographical variations in FT-LBW. The spatial patterns of the smoothed prevalence values and the respective posterior probabilities (PPR) are shown in figure 3. The results for the first time period showed geographic clusters with high FT-LBW prevalence rates in Valle de Aburrá, Nordeste, Suroeste, and Occidente subregions, while low prevalence rates were observed in Urabá, Bajo Cauca, and Magdalena Medio. The greatest FT-LBW prevalence rates in Antioquia were observed in the municipalities of Rionegro, Medellín, Guarne, Angostura, Santa Rosa de Osos, Concordia, Yarumal, and Caldas, all of which had a higher FT-LBW prevalence than Antioquia (between 11.9% and 35.1%). Chigorodó, Carepa, and Arboletes had a lower prevalence of FT-LBW compared to Antioquia. This geographical pattern was constant over the time periods for the Nordeste, Valle de Aburrá, Oriente, Suroeste, and Magdalena Medio subregions, as well as in those with the highest

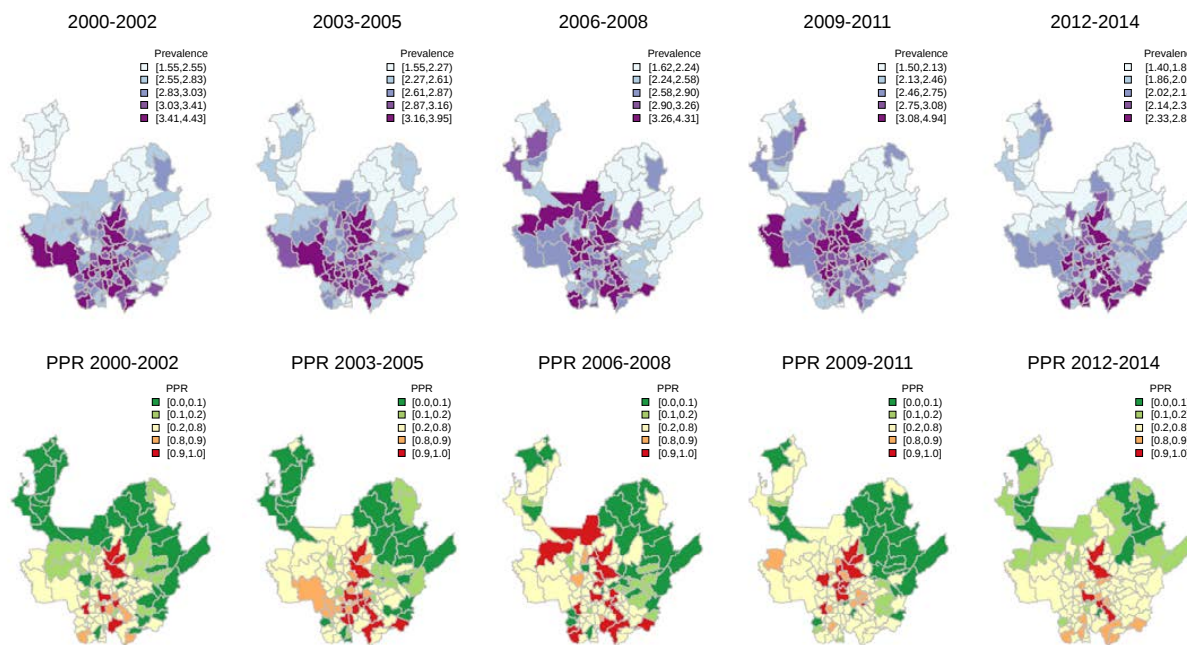
FT-LBW prevalence in the last time period. The municipalities that presented a greater prevalence than Antioquia were Medellín, Rionegro, Carmen de Viboral, Yarumal, and Santa Rosa de Osos, with prevalence rates that ranged from 9.1% to 32.0%. Cauca, Segovia, Chigorodó, Mutatá, Apartadó, Zaragoza, Carepa, Necoclí, and El Bagre had a lower FT-LBW prevalence than Antioquia (figure 3).

The smoothed maps also provided evidence of a reduction in the gap between the municipalities for FT-LBW. The results of the coefficients of variation showed a decrease of 13.7% between the periods 2009-2011 and 2012-2014, indicating that inter-municipal differences are decreasing over time.

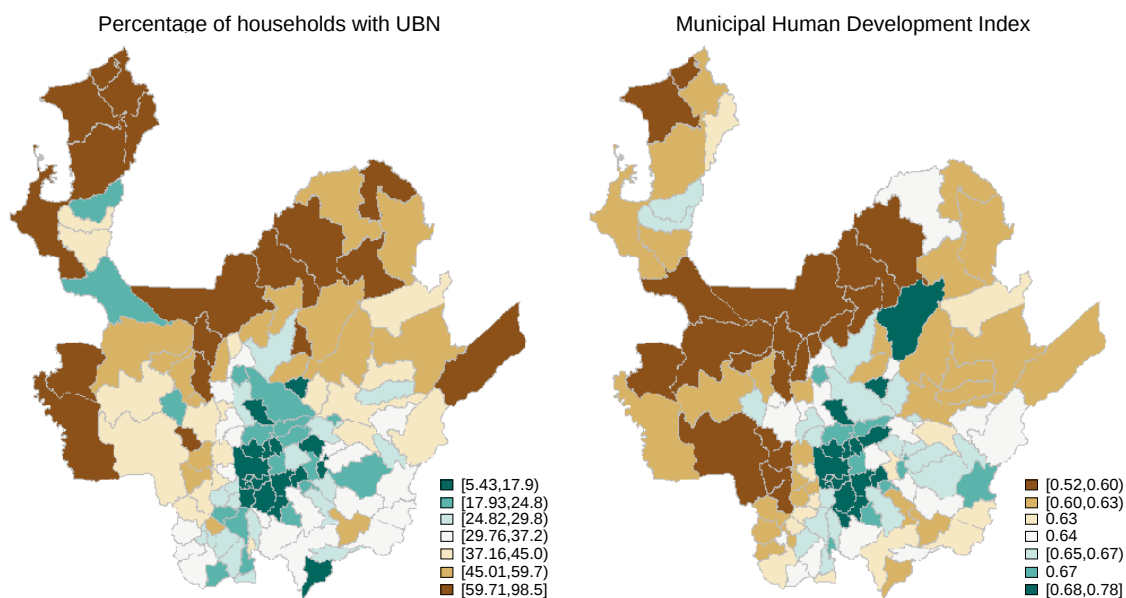
Figure 4 shows the comparisons of the prevalence maps, with the distributions of the analyzed socioeconomic indicators. We found that FT-LBW prevalence had an inverse geographical pattern to that of the socioeconomic variables, where more developed municipalities with lower poverty rates had a greater prevalence.

The distribution of FT-LBW prevalence rates by socioeconomic conditions in the municipalities were consistent with this finding (table 3). For all time periods, the FT-LBW prevalence was significantly higher in the more developed and less impoverished municipalities, which provides evidence of a positive social gradient for FT-LBW.

Additionally, FT-LBW prevalence declined steadily between 2000 and 2014 for municipalities at all levels of deprivation and development (table 3). However, the most deprived and underdeveloped quintile had a significantly greater decline in FT-LBW prevalence than the least deprived and under developed quintile.



**Figure 3.** Spatial patterns of full-term low birth weight prevalence and posterior probability maps, Antioquia, 2000-2014



**Figure 4.** Spatial distributions of the percentage of households according to the Unsatisfied Basic Needs and municipal Human Development indices, Antioquia, 2005

Table 1 shows the associations between the individual socioeconomic variables and FT-LBW. According to the results, FT-LBW was not significantly associated with the level of poverty measured by the UBN variable. For HDI, during the last two time periods, the more developed municipalities (fourth quartile) showed a significantly higher risk of FT-LBW than the less developed municipalities, with an increased risk of approximately 40%.

## Discussion

In Antioquia and all of its subregions, FT-LBW has decreased over the last fifteen years. Recently, there has also been a reduction in geographic gaps between municipalities, although inequalities between both municipalities and subregions persist.

In this department, FT-LBW prevalence is inversely associated with the socioeconomic conditions of the municipalities, confirming a “low birth weight paradox”. In other words, the greatest FT-LBW prevalence was observed in the municipalities with lower poverty rates and greater development,

reflecting a positive social gradient. This so-called paradox is an incidence of low birth smaller than the expected level, according to the socioeconomic conditions of countries, ethnicities, and municipalities. This phenomenon has mainly been studied in developed countries, Asia, and Brazilian municipalities (23-26). Systematic evidence shows that mothers living in or coming from lower socioeconomic environments, with lower socioeconomic status, who have to face social disadvantages have a lower probability of delivering low birth weight babies compared to native mothers of wealthy countries or those living in developed municipalities (23-26). According to Fleuri et al., the specific pathway by which this protective effect impacts birth weight has not been yet identified (26).

Here we suggest that the FT-LBW paradox may be explained more by underreporting of birth weight information in poorer municipalities than by an actual socially determined cause. Based on the findings of Silva, we also venture that factors such as improved medical interventions in preterm

**Table 3.** Prevalence of full-term low birth weight by quintiles of unsatisfied basic needs (UBN) and human development (HDI), Antioquia, 2000-2014

| Period    | UBN       | Prevalence (IC 95%) |             | HDI            | Prevalence (IC 95%) |             |
|-----------|-----------|---------------------|-------------|----------------|---------------------|-------------|
| 2000-2002 | Less poor | 3.46                | (3.35-3.56) | Less developed | 2.56                | (2.27-2.83) |
|           | Q2        | 3.24                | (2.96-3.51) | Q2             | 2.76                | (2.52-2.98) |
|           | Q3        | 3.12                | (2.85-3.38) | Q3             | 2.71                | (2.51-2.91) |
|           | Q4        | 2.51                | (2.29-2.73) | Q4             | 3.14                | (2.90-3.37) |
|           | Poorest   | 2.40                | (2.19-2.60) | More developed | 3.47                | (3.36-3.57) |
| 2003-2005 | Less poor | 3.01                | (2.91-3.11) | Less developed | 2.36                | (2.10-2.61) |
|           | Q2        | 2.97                | (2.68-3.25) | Q2             | 2.19                | (1.97-2.39) |
|           | Q3        | 2.92                | (2.64-3.19) | Q3             | 2.61                | (2.41-2.80) |
|           | Q4        | 2.29                | (2.07-2.50) | Q4             | 2.88                | (2.64-3.10) |
|           | Poorest   | 2.15                | (1.96-2.33) | More developed | 3.02                | (2.91-3.12) |
| 2006-2008 | Less poor | 2.91                | (2.80-3.00) | Less developed | 2.40                | (2.15-2.65) |
|           | Q2        | 2.99                | (2.69-3.28) | Q2             | 2.38                | (2.15-2.60) |
|           | Q3        | 3.13                | (2.82-3.42) | Q3             | 2.78                | (2.58-2.98) |
|           | Q4        | 2.38                | (2.16-2.59) | Q4             | 3.17                | (2.92-3.42) |
|           | Poorest   | 2.41                | (2.22-2.59) | More developed | 2.86                | (2.76-2.96) |
| 2009-2011 | Less poor | 2.73                | (2.62-2.83) | Less developed | 2.22                | (1.96-2.46) |
|           | Q2        | 3.22                | (2.88-3.56) | Q2             | 2.06                | (1.83-2.28) |
|           | Q3        | 2.54                | (2.23-2.83) | Q3             | 2.32                | (2.11-2.52) |
|           | Q4        | 2.11                | (1.89-2.33) | Q4             | 3.18                | (2.90-3.45) |
|           | Poorest   | 2.20                | (2.01-2.39) | More developed | 2.73                | (2.62-2.83) |
| 2012-2014 | Less poor | 2.21                | (2.11-2.30) | Less developed | 1.73                | (1.50-1.95) |
|           | Q2        | 2.31                | (2.01-2.60) | Q2             | 1.75                | (1.53-1.95) |
|           | Q3        | 2.48                | (2.16-2.78) | Q3             | 1.95                | (1.76-2.14) |
|           | Q4        | 1.67                | (1.46-1.86) | Q4             | 2.36                | (2.11-2.60) |
|           | Poorest   | 1.78                | (1.60-1.95) | More developed | 2.23                | (2.13-2.32) |
| 2000-2014 | Less poor | 2.90                | (2.85-2.95) | Less developed | 2.26                | (2.14-2.37) |
|           | Q2        | 2.98                | (2.84-3.11) | Q2             | 2.25                | (2.15-2.35) |
|           | Q3        | 2.88                | (2.75-3.01) | Q3             | 2.51                | (2.41-2.59) |
|           | Q4        | 2.22                | (2.12-2.31) | Q4             | 2.97                | (2.86-3.08) |
|           | Poorest   | 2.19                | (2.11-2.27) | More developed | 2.90                | (2.85-2.95) |

Q2: quintile 2; Q3, quintile 3; Q4: quintile 4

newborns towards the end of pregnancy or artifacts in the determination of gestational age, may explain LBW rates due to the availability of better technologies that guarantee higher live births rates in more developed municipalities, even in children at high risk for low intrauterine growth caused by pregnancy complications (23).

We believe that the possible limitations of the socioeconomic indicators (UBN and HDI) used in our study have no role explaining the LBW paradox. More so, they complement each other. UBN measures vulnerability in public utilities such as water and in house conditions, while HDI measures income, school achievement, and life expectancy, and encompasses several dimensions of the determinants of social development for the health and nutrition status at the municipal level. On the other hand, no insufficient records or underreporting have been reported for those indicators.

Our findings coincide with those reported by the Colombian *Instituto Nacional de Salud* (INS), which reported a prevalence of FT-LBW of 3.0 cases per 100 live births in Antioquia in 2015. Although a socioeconomic analysis was not conducted, this report showed that some developed departments such as Bogotá, Boyacá, Cundinamarca, Antioquia, and Quindío, have the greatest FT-LBW rates (5).

The decrease in FT-LBW in Antioquia is similar to the trends of other countries in Latin America and worldwide but it contradicts the trends in Colombia. Donoso, *et al.*, analyzed LBW trends in Chile and Cuba between 1991 and 2001 and they found that Chile showed increased LBW rates in 1994 but achieved stability for this indicator between 2000 and 2001 through the implementation of the complementary maternal food program and an 18% reduction in poverty between 1990 and 2000. In Cuba, a significant reduction in LBW was observed as a result of the implementation of a national program for its reduction (27-29).

There are some potential limitations of the present study. The information on municipalities' socioeconomic conditions corresponds only to data from half of the analyzed time period, which were derived from the ecological model used. Another caution to be considered is that when analyzing FT-LBW, it is very difficult to make comparisons both within and between countries because most of the information available on this phenomenon does not represent the general population. Therefore, most data do not reflect the full extent of the problem. In industrialized states, the main sources of information on LBW

come from data systems and national birth records. In developing countries, 65% of newborns are not weighed, and thus, these estimates are mainly derived from data reported in national household surveys (4,30). It is possible that also in Antioquia there was some level of underreporting, especially in the poorest municipalities; therefore, it is necessary to be cautious when analyzing birth weight data, as it must be complemented by continuous monitoring and control processes to reduce possible errors in calculations and comparisons.

In conclusion, FT-LBW has decreased in Antioquia and all of its subregions over the last fifteen years. There has also been a reduction in geographic gaps between municipalities, although inequalities between them and between subregions persist. FT-LBW prevalence was inversely associated with the socioeconomic conditions of the municipalities as the highest FT-LBW prevalence rates occurred in those with lower poverty rates and a greater level of development, thus reflecting a positive social gradient.

### Conflict of interest

There are no conflicts of interest.

### Funding sources

This research project was funded through the *Convocatoria de Sostenibilidad*, CODI2014-2015, of the *Universidad de Antioquia*.

### References

1. **Rojas EG, Mamani Y, Choque M del C, Abu-khdeir MA, Bustamante D.** Bajo peso al nacer y sus factores asociados en el Hospital Materno infantil Germán Urquidí. Cochabamba, Bolivia. *Gaceta Médica Boliviana*. 2015;38: 24-7.
2. **World Health Organization, Expert Group on Prematurity.** Expert Group on Prematurity: Final report. Technical Report Series No. 27. Geneva: World Health Organization; 1950.
3. **Martínez R, Fernández A.** Desnutrición infantil en América Latina y el Caribe. *Desafíos*. 2006;2:4-9.
4. **Wardlaw T, Blanc A, Zupan J, Åhman E.** Low birthweight: Country, regional and global estimates. The United Nations Children's Fund and World Health Organization; 2004. Accessed: October 15, 2017. Available from: [https://www.unicef.org/publications/index\\_24840.html](https://www.unicef.org/publications/index_24840.html).
5. **Ramírez P.** Informe final del evento bajo peso al nacer a término, Colombia, 2015. Final Report. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2014.
6. **Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD).** Antioquia - Retos y prioridades del departamento 2016 - 2019. Medellín; 2016. Accessed: October 5, 2017. Available from: [http://www.co.undp.org/content/colombia/es/home/library/democratic\\_governance/retos-y-prioridades-del-departamento-2016---20190.html](http://www.co.undp.org/content/colombia/es/home/library/democratic_governance/retos-y-prioridades-del-departamento-2016---20190.html)

7. **Baños L.** Factores de riesgo asociados al bajo peso al nacer. *Rev Cub Salud Pública.* 2012;38:238-45.
8. **Coronel C, Rivera I.** Peso bajo al nacer. Su influencia en la salud durante el primer año de vida. *Rev Mex Pediatr.* 2003;70:283-7.
9. **Equipo de Vigilancia Nutricional.** Protocolo de vigilancia en salud pública, bajo peso al nacer a término. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2016.
10. **Schempf A, Strobino D, O'Campo P.** Neighborhood effects on birthweight: An exploration of psychosocial and behavioral pathways in Baltimore, 1995-1996. *Soc Sci Med.* 2009;68:100-10. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2008.10.006>
11. **English PB, Kharrazi M, Davies S, Scalf R, Waller L, Neutra R.** Changes in the spatial pattern of low birth weight in a southern California county: The role of individual and neighborhood level factors. *Soc Sci Med.* 2003;56:2073-88. [https://doi.org/10.1016/S0277-9536\(02\)00202-2](https://doi.org/10.1016/S0277-9536(02)00202-2)
12. **Järvelin MR, Elliott P, Kleinschmidt I, Martuzzi M, Grundy C, Hartikainen AL, et al.** Ecological and individual predictors of birthweight in a northern Finland birth cohort 1986. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 1997;11:298-312. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3016.1997.tb00007.x>
13. **Brooks-Gunn J, McCormick MC, Klebanov PK, McCarton C.** Health care use of 3-year-old low birth weight premature children: Effects of family and neighborhood poverty. *J Pediatr.* 1998;132:971-5. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(98\)70393-2](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(98)70393-2)
14. **Coley SL, Nichols TR, Rulison KL, Aronson RE, Brown-Jeffy SL, Morrison SD.** Does neighborhood risk explain racial disparities in low birth weight among infants born to adolescent mothers? *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2016;29:122-9. <https://doi.org/10.1016/j.jpagg.2015.08.004>
15. **Nkansah-Amankra S, Luchok KJ, Hussey JR, Watkins K, Liu X.** Effects of maternal stress on low birth weight and preterm birth outcomes across neighborhoods of South Carolina, 2000-2003. *Matern Child Health J.* 2010;14:215-26. <https://doi.org/10.1007/s10995-009-0447-4>
16. **Farley TA, Mason K, Rice J, Habel JD, Scribner R, Cohen DA.** The relationship between the neighbourhood environment and adverse birth outcomes. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2006;20:188-200. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3016.2006.00719.x>
17. **Masi CM, Hawkey LC, Piotrowski ZH, Pickett KE.** Neighborhood economic disadvantage, violent crime, group density, and pregnancy outcomes in a diverse, urban population. *Soc Sci Med.* 2007;65:2440-57. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2007.07.014>
18. **Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE).** Proyecciones nacionales y departamentales de población 2005-2020. Bogotá: Departamento Administrativo Nacional de Estadística; 2009. Accessed: October 16, 2017. Available from: [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/proyepobla06\\_20/7Proyecciones\\_poblacion.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/proyepobla06_20/7Proyecciones_poblacion.pdf)
19. **Barceló MA, Saez M, Cano-Serral G, Martínez-Beneito MÁ, Martínez JM, Borrell C, et al.** Métodos para la suavización de indicadores de mortalidad: aplicación al análisis de desigualdades en mortalidad en ciudades del Estado español (Proyecto MEDEA). *Gac Sanit.* 2008;22:596-608.
20. **Besag J, York J, Mollié A.** Bayesian image restoration, with two applications in spatial statistics. *Ann Inst Stat Math.* 1991;43:1-20. <https://doi.org/10.1007/BF00116466>
21. **Gelman A.** Prior distributions for variance parameters in hierarchical models (comment on article by Browne and Draper). *Bayesian Anal.* 2006;1:515-34. <https://doi.org/10.1214/06-BA117A>
22. **Rue H, Martino S, Lindgren F, Simpson D, Riebler A, Krainski E.** INLA: Functions which allow to perform full Bayesian analysis of latent Gaussian models using Integrated Nested Laplace Approximation. 2014. [https://www.researchgate.net/publication/271196512\\_INLA\\_Functions\\_Which\\_Allow\\_to\\_Perform\\_Full\\_Bayesian\\_Analysis\\_of\\_Latent\\_Gaussian\\_Models\\_Using\\_Integrated\\_Nested\\_Laplace\\_Approximation](https://www.researchgate.net/publication/271196512_INLA_Functions_Which_Allow_to_Perform_Full_Bayesian_Analysis_of_Latent_Gaussian_Models_Using_Integrated_Nested_Laplace_Approximation)
23. **Silva AA, Bettiol H, Barbieri MA, Pereira MM, Brito LG, Ribeiro VS, et al.** Why are the low birthweight rates in Brazil higher in richer than in poorer municipalities? Exploring the epidemiological paradox of low birthweight. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2005;19:43-9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3016.2004.00624.x>
24. **Juárez S, Ploubidis GB, Clarke L.** Revisiting the "Low Birth Weight paradox" using a model-based definition. *Gac Sanit.* 2014;28:160-2. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2013.08.001>
25. **Flores M, Manuck T, Simonsen SE, Dyer J, Turok D.** 557: The "Latina epidemiologic paradox" in Utah: Examining risk factors for low birth weight (LBW), preterm birth (PTB), and small-for-gestational-age (SGA) in Latina and White populations. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201:S207. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2009.10.422>
26. **Fleuriet J, Sunil T.** The Latina birth weight paradox: The role of subjective social status. *J Racial Ethn Health Disparities.* 2017. <https://doi.org/10.1007/s40615-017-0419-0>
27. **Donoso E, Donoso A, Villarroel del PL.** Mortalidad perinatal e infantil y el bajo peso al nacer en Chile y Cuba en el periodo 1991-2001. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2004;69:203-8. <https://doi.org/10.4067/S0717-75262004000300004>
28. **Programa para la Reducción del Bajo Peso al Nacer.** La Habana; 1998. Accessed: October 15, 2017. Available from: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/centromed/bajo\\_peso.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/centromed/bajo_peso.pdf)
29. **Pinzón G, Vargas JE, Márquez MF, Quiroga EF.** Análisis del bajo peso al nacer en Colombia 2005-2009. *Rev Salud Pública.* 2013;15:577-88.
30. **Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia.** Progreso para la Infancia. Final Report. Report No. 6. New York: UNICEF; 2006.

ARTÍCULO ORIGINAL

## La alimentación para pacientes con diabetes mellitus de tipo 2 en tres hospitales públicos de Cundinamarca, Colombia

Ana Yibby Forero, Jenny Alexandra Hernández, Sandra Milena Rodríguez, Jhon Jairo Romero, Gina Emely Morales, Gabriel Ángel Ramírez

Grupo de Nutrición, Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica,  
Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** En el mundo y en Colombia, la diabetes mellitus de tipo 2 es una de las principales causas de morbilidad, y afecta principalmente a los hombres y mujeres mayores de 45 años. Un control inapropiado de la enfermedad puede desembocar en mayores complicaciones de salud y convertirla en una de las de más alto costo. El tratamiento incluye otros componentes, además del control de la glucemia, así como un seguimiento constante del personal médico, y actividades educativas dirigidas al paciente y a su familia.

**Objetivo.** Caracterizar la alimentación de pacientes con diabetes mellitus de tipo 2 en tres hospitales públicos de Cundinamarca.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio descriptivo y transversal con 212 pacientes, el cual incluyó el análisis sociodemográfico, el de la frecuencia del consumo de alimentos y las prácticas alimentarias.

**Resultados.** La mayoría de la población era mayor de 45 años y tenía un bajo nivel educativo; el 52 % contaba con un plan de alimentación, y solo el 8,9 % recibía orientación nutricional a cargo de un nutricionista. Predominó el consumo de carbohidratos y un bajo consumo de proteínas, vitaminas, minerales y fibra. El consumo de azúcares era menor en los pacientes que tenían un plan dietético ( $p < 0,05$ ).

**Conclusiones.** La mayoría de los pacientes no recibía una alimentación adecuada. Se evidenció un deficiente cumplimiento del tratamiento dietético, así como limitaciones en la asesoría nutricional y barreras de acceso a los alimentos. Estos resultados contribuirán a mejorar las políticas de prevención y control de la diabetes mellitus de tipo 2 y las estrategias que tengan en cuenta el contexto sociocultural de los pacientes.

**Palabras clave:** diabetes mellitus de tipo 2; alimentación; adulto; dieta.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3816>

### Feeding in adults with type II diabetes mellitus in three public hospitals in Cundinamarca, Colombia

**Introduction:** Type II diabetes mellitus (DMII) is one of the main causes of morbidity and mortality both worldwide and in Colombia. It mainly affects men and women over 45 years of age. Inadequate control of this disease can generate greater health complications making it one of the most costly diseases in the country. Treatment includes activities other than glycemic control and requires constant monitoring by medical personnel and educational processes directed at the patient and his or her family.

**Objective:** To characterize the feeding of patients with DMII in three public hospitals of Cundinamarca.

**Materials and methods:** We conducted a cross-sectional descriptive study of 212 patients that analyzed sociodemographic characteristics, frequency of consumption and feeding practices.

**Results:** Most of the population was over 45 years old and had a low educational level. In total, 52% had a dietary plan, but only 8.9% received nutritional guidance from a nutritionist. The consumption of carbohydrates predominated, with low consumption of proteins, vitamins, minerals, and fiber. The consumption of sugars was lower in patients with a dietary plan ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Most of the patients did not have an adequate nutrition; moreover, there was low adherence to dietary treatment, weakness in nutritional counseling and barriers to food access. These results can contribute to improving policies for the prevention and control of DMII and strategies based on the sociocultural context of the patients.

**Key words:** Diabetes mellitus, type 2; feeding; adult; diet.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3816>

#### Contribución de los autores:

Ana Yibby Forero: coordinación técnica y administrativa del proyecto, elaboración de la propuesta y divulgación de resultados  
Jenny Alexandra Hernández y Sandra Milena Rodríguez: elaboración de la propuesta de investigación, recolección y análisis de resultados

Jhon Jairo Romero y Gina Emely Morales: análisis estadístico

Gabriel Ramírez: captura y procesamiento de la información

Las enfermedades crónicas constituyen la principal causa de muerte y discapacidad en el mundo (1). En América, la diabetes mellitus es uno de los mayores problemas de salud pública y su prevalencia aumenta como consecuencia de los cambios culturales, la disminución de la actividad física y la transición a la ingestión de una dieta calórica (2). En Colombia, las enfermedades crónicas son una de las diez primeras causas de mortalidad en adultos mayores de 45 años, con una tasa de mortalidad promedio entre 2009 y 2011 de 10,4 por 100.000 habitantes, y son, además, las responsables de la mayor proporción de pérdida de años de vida saludable en esta población (3). Por su naturaleza crónica, la gravedad de las complicaciones y los medios que se requieren para su control, la diabetes mellitus de tipo 2 es una enfermedad muy costosa (4). El diagnóstico temprano y el buen control de la diabetes reducen la progresión de las complicaciones crónicas de la enfermedad (5).

El cambio en los estilos de vida es fundamental para el manejo de los pacientes con diabetes, en quienes se debe controlar el consumo de alcohol y tabaco, promover la actividad física y una alimentación saludable con restricción del consumo de algunos nutrientes, aspectos esenciales del tratamiento y la prevención de las complicaciones propias de la enfermedad. El cumplimiento del tratamiento de la diabetes es difícil debido a estos cambios en el estilo de vida (6). La intervención alimentaria no solo debe lograr un buen control glucémico, sino también prevenir los factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión arterial sistémica, la dislipidemia y el exceso de peso, con el fin de disminuir las complicaciones a corto y largo plazo (7).

La dieta baja en fibra y con un alto índice glucémico se ha asociado con un mayor riesgo de diabetes (8); asimismo, los ácidos grasos específicos de la dieta pueden afectar diferencialmente la resistencia a la insulina y el riesgo de diabetes (9,10). Por otra parte, una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados previene la modificación

oxidativa de las lipoproteínas más que aquella rica en ácidos grasos poliinsaturados; el consumo de aceite de oliva, por ejemplo, reduce la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (*low-density lipoproteins*, LDL) mediada por los ácidos grasos n-3 en pacientes con enfermedad vascular periférica (11).

La capacidad y el compromiso de los pacientes, y la consideración debida a sus condiciones, son fundamentales para garantizar el éxito de la intervención. El adecuado manejo nutricional de las personas beneficia la salud de los pacientes, pero, además, contribuye a disminuir los costos hospitalarios derivados de las complicaciones y del tratamiento de la enfermedad (12). En Colombia, no hay mucha información específica sobre las prácticas alimentarias en el manejo de la diabetes mellitus de tipo 2, y las recomendaciones asociadas con la dieta contempladas en la guía de atención de la enfermedad (13) son muy generales y no se tiene en cuenta el contexto del paciente, lo que limita el cumplimiento de las recomendaciones alimentarias.

En este contexto, el objetivo de este estudio fue caracterizar la alimentación y la coherencia con el plan dietético en los pacientes adultos con diabetes mellitus de tipo 2 que asisten al programa de control en tres hospitales públicos de Cundinamarca, Colombia, para recabar información que permita ajustar las estrategias de intervención alimentaria de manera que aumente su efecto positivo en el cumplimiento del tratamiento y contribuya a la disminución de las complicaciones y de la tasa de mortalidad.

### Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo y transversal desarrollado en los hospitales San José, del municipio de Guaduas, San Rafael, del municipio de Facativá y el Universitario La Samaritana, del municipio de Zipaquirá, en Cundinamarca.

En la muestra se incluyeron todos los pacientes atendidos por el programa de control de la diabetes para, así, garantizar la confiabilidad y la precisión de las estimaciones y la validez estadística de los resultados. Se seleccionaron aquellos pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus de tipo 2 sin complicaciones derivadas de la enfermedad en los últimos seis meses y se excluyeron las mujeres en periodo de gestación. La muestra final estuvo compuesta por 212 adultos entre los 25 y 70 años que participaron voluntariamente y firmaron el consentimiento informado.

#### Correspondencia:

Ana Yibby Forero, Grupo de Nutrición, Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica, Instituto Nacional de Salud, Avenida calle 26 N° 51-20, segundo bloque, segundo piso, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (571) 220 7700, extensión 1222  
aforero@ins.gov.co y yibbyforero@gmail.com

Recibido: 24/02/17; aceptado: 01/03/18

Se usó un cuestionario general sobre las variables sociodemográficas, las de alimentación, la prescripción del plan dietético y un formulario de frecuencia de consumo validado a partir del modelo utilizado en la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia (ENSIN, 2010) (14), y adaptado para los fines del presente estudio.

La lista de 28 alimentos se elaboró a partir de los grupos definidos en las guías alimentarias para la población colombiana (15) y se centró en las fuentes de energía, las proteínas, las vitaminas y los minerales, así como en los alimentos considerados poco saludables, como las comidas rápidas, los *snacks*, y los alimentos con altos contenidos de azúcar y grasas, entre otros, contemplando un período de recordación de 30 días y diez categorías de frecuencia: nunca, una vez al mes, dos a tres veces al mes, una vez por semana, dos veces por semana, tres a cuatro veces por semana, cinco a seis veces por semana, una vez al día, dos veces al día, y tres o más veces al día (14). Además, se indagó por los tiempos de las comidas, las preferencias alimentarias, el consumo de aceites de origen vegetal de diversas fuentes, el consumo de sal, el hábito de retirar la grasa visible de las carnes, el seguimiento del plan dietético y la capacidad de compra de alimentos.

Los principales estimadores estadísticos obtenidos fueron los indicadores de proporción (distribución binomial), para cada uno de los cuales se estimó el error de muestreo y su correspondiente intervalo de confianza de 95 %. Con estos, se determinó el nivel de precisión de las estimaciones a partir de la muestra obtenida. Para las comparaciones, se construyeron pruebas de diferencia con la prueba  $z$ , con un nivel de significación de  $\alpha=0.05$  si las dos proporciones eran o no estadísticamente iguales. En la estimación de los indicadores y en las pruebas de diferencia, se utilizó el programa Stata 13.1™.

### Consideraciones éticas

El presente estudio se ajustó a las normas científicas, técnicas y administrativas de la investigación en salud establecidas en la resolución N° 008430 de 1993 en Colombia, según las cuales se trató de una investigación sin riesgo basada en encuestas que no requerían ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los participantes, quienes, además, firmaron el consentimiento informado.

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética y el Comité Técnico del Instituto Nacional de Salud.

### Resultados

La mayoría de la población estaba entre los 45 y 65 años (58 %): el 37 % mayor de 65 años y el 6 %, menor de 45 años; el 24 % de los pacientes era de sexo masculino y el 76%, de sexo femenino. El periodo de evolución de la enfermedad era de 7,9 años en promedio. Más del 90 % de los pacientes pertenecía a los niveles 1 y 2 del Sisbén y casi todos (99 %) estaban en el régimen subsidiado de salud. El 77,7 % de ellos vivía en el área urbana y el resto en la zona rural. En cuanto a la escolaridad, el 64 % de los participantes había cursado la educación básica primaria sin diferencias por sexo ( $p<0,05$ ); el 11 % de los hombres y el 19 % de las mujeres no tenía ningún tipo de formación educativa, y de estos, el 77 % no sabía leer ni escribir. El promedio de ingresos era de menos de la mitad de un salario mínimo legal vigente, lo cual constituye una dificultad evidente para acceder a los alimentos: el 44 % ocasionalmente contaba con dinero para comprar verduras y frutas, mientras que el 12 % manifestó no tener recursos para adquirir estos alimentos.

En cuanto al tipo de actividad laboral, el 69 % de las mujeres era ama de casa, el 39 % de los hombres desempeñaba trabajos informales, el 17 % de la población estaba desempleada y consideraba que no podía trabajar debido a su condición física, solo el 3 % de los desempleados consideraba que podía trabajar, y ninguno de los participantes era jubilado.

Al analizar las prácticas alimentarias, se encontró que el 96,3 % observaba los tres tiempos de comida principales, solo el 59 % consumía alimentos en la media mañana y el 55 % en la media tarde, y el 18 % consumía algún alimento después de la cena.

La mitad de los pacientes (52 %) refirió preferir las frutas enteras, el 13 %, frutas en jugo, y el 26%, verduras; solo el 1 % expresó preferencia por el consumo de *snacks*, de comidas rápidas, de bebidas gaseosas, de jugos industrializados o de alimentos fritos. El 92 % no adicionaba sal a las preparaciones servidas y en el 94 % persistía la práctica de cocinar las comidas del hogar con sal. El 78 % utilizaba aceite de origen vegetal: el 49 %, una mezcla de aceites vegetales, el 17 %, aceite de girasol, el 3 %, aceite de oliva y el 2 %, aceite de canola. El 22 % utilizaba grasas de origen animal, como la manteca o la mantequilla, en sus preparaciones.

En cuanto a la frecuencia de consumo, se evidenció que el 22 % no consumía avena de manera habitual y, el 34 %, ningún tipo de cereal integral; la frecuencia más alta de consumo de cereales integrales fue de una vez al día en 37 % de los pacientes. El 57 % consumía arroz una vez al día y, el 23 %, dos veces al día. En cuanto a los productos de panadería, el 41 % los consumía de forma diaria, el 16 %, dos veces al día, y el 15 %, dos veces por semana. Las pastas alimenticias se consumían con menos frecuencia, pues casi el 60 % de los pacientes refirió consumirlas entre una y dos veces a la semana.

El consumo de tubérculos y plátanos era elevado: el 45 % de los pacientes los ingería por lo menos una vez al día y, el 15 %, entre una y cuatro veces por semana; en tanto que el de frutas y verduras era bajo: 30 % de los pacientes consumía verduras una vez al día y, el 21 %, frutas. Solo el 2 % de los pacientes consumía dos porciones de frutas o verduras al día.

Las carnes eran la principal fuente de proteína de alto valor biológico, aunque su consumo era bajo: solo el 50 % de los pacientes consumía carne de res o pollo una vez al día y de estos, el 25 % consumía carne de res con grasa visible o pollo con la piel. El 75 % de los pacientes consumía pescado entre una y dos veces al mes, el 65 %, vísceras una vez al mes, y el 35 %, dos veces al mes. El consumo de huevo era habitual: el 71 % lo consumía entre una y cinco veces a la semana y, el 20 %, diariamente.

El 38 % de los pacientes consumía leguminosas (fríjol, lentejas, arvejas, garbanzos secos) entre dos y seis veces por semana, el 38 %, una vez por semana y, el 2 %, diariamente. En cuanto al consumo de lácteos, el 82 % manifestó no consumir leche descremada; de los restantes, el 68 % la consumía entre una y dos veces al día. El 66 % tomaba leche entera; de ellos, el 57 % la consumía una vez al día y, el 15 %, dos veces. El consumo de queso, yogur o kumis, ya fuera bajo en grasa o entero, era escaso: solo el 20 % consumía estos alimentos una vez a la semana y un promedio de 75 % no los consumían.

El 40 % de los pacientes consumía azúcar, chocolate o panela diariamente, el 10 %, dos veces al día y, el 7 %, tres o más veces al día, en tanto que el 20 % consumía postres y dulces entre una y dos veces por semana. El 91 % de los participantes no consumía comidas rápidas o *snacks*, y solo el 20 %

de quienes sí lo hacían los consumían entre una y tres veces por semana. El 76 % de los pacientes refirió no consumir margarina ni mantequilla, y el restante 24 % las consumía entre una y cuatro veces por semana. En el cuadro 1 se presenta un resumen de la frecuencia y las prevalencias más altas de consumo.

En cuanto al manejo nutricional de estos pacientes, se encontró que el 52 % de ellos refirió tener un plan dietético que incluía el aumento en el consumo de frutas (55 %) y verduras (56 %), así como la reducción del consumo de grasas (58 %), azúcar (80 %) y sal (69 %), pero solo el 8,9 % había tenido en algún momento consulta con un profesional en nutrición.

En el cuadro 2 se observa un mayor porcentaje de personas que consumía las cinco comidas recomendadas entre quienes tenían un plan dietético (48 %) y, asimismo, la frecuencia del uso de sal fue menor (6 %) entre quienes seguían dicho plan. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el consumo de azúcares entre los pacientes que tenían un plan dietético y los que no lo tenían ( $p=0,026$ ).

**Cuadro 1.** Frecuencia de consumo de alimentos en los pacientes con diabetes mellitus de tipo 2

| Alimento                  | Mayor frecuencia de consumo | Porcentaje de consumo |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| Arroz                     | 45 %, una vez al día        | 93                    |
| Papa, yuca o plátano      | 45 %, una vez al día        | 92                    |
| Huevo                     | 71 %, 3-4 veces por semana  | 92                    |
| Carne y pollo magros      | 37 %, una vez al día        | 90                    |
| Verduras y hortalizas     | 30 %, una vez al día        | 89                    |
| Frutas                    | 21 %, una vez al día        | 84                    |
| Avena                     | 20 %, dos veces por semana  | 78                    |
| Leguminosas               | 35 %, una vez por semana    | 75                    |
| Pasta                     | 38 %, una vez por semana    | 74                    |
| Pan                       | 40 %, una vez al día        | 73                    |
| Cereales integrales       | 37 %, una vez al día        | 66                    |
| Leche descremada          | 50 %, una vez al día        | 66                    |
| Aguacate                  | 35 %, dos veces al mes      | 66                    |
| Pescado                   | 32 %, dos veces al mes      | 60                    |
| Azúcar, chocolate, panela | 40 %, una vez al día        | 59                    |
| Vísceras                  | 34 %, dos veces por semana  | 35                    |
| Margarina, mantequilla    | 30 %, una vez por semana    | 24                    |
| Carne y pollo grasos      | 25 %, una vez al día        | 23                    |
| Leche entera              | 43 %, una vez al día        | 18                    |
| Dulces y postres          | 29 %, una vez al día        | 18                    |
| <i>Snacks</i>             | 45 %, una vez al mes        | 18                    |
| Comidas rápidas           | 5 %, dos veces por semana   | 9                     |

**Cuadro 2.** Diferencias entre conductas alimentarias

| Conducta alimentaria                       | Con plan dietético |    | Sin plan dietético |    | p     |
|--------------------------------------------|--------------------|----|--------------------|----|-------|
|                                            | n                  | %  | n                  | %  |       |
| Cinco tiempos de comidas                   | 53                 | 48 | 41                 | 41 | 0,269 |
| Consumo de aceite de girasol               | 20                 | 18 | 16                 | 16 | 0,652 |
| Consumo de aceite de oliva                 | 5                  | 5  | 1                  | 1  | 0,111 |
| Consumo de manteca                         | 6                  | 5  | 8                  | 8  | 0,477 |
| Consumo de mantequilla                     | 20                 | 18 | 11                 | 11 | 0,132 |
| Consumo de margarina                       | 7                  | 6  | 5                  | 5  | 0,657 |
| Cocinar con sal                            | 98                 | 89 | 97                 | 96 | 0,295 |
| Adicionar sal a las preparaciones servidas | 7                  | 6  | 10                 | 10 | 0,351 |
| Retirar la piel del pollo                  | 86                 | 78 | 68                 | 67 | 0,078 |
| Retirar la grasa visible de la carne       | 88                 | 80 | 79                 | 78 | 0,751 |
| Consumo de frutas diario                   | 41                 | 37 | 36                 | 36 | 0,807 |
| Consumo de verduras diario                 | 58                 | 53 | 45                 | 45 | 0,236 |
| Consumo de azúcar, chocolate y panela      | 51                 | 46 | 62                 | 61 | 0,026 |

## Discusión

La mayoría de los pacientes estaba en un rango de edad coincidente con el periodo de vida productivo y el de mayor riesgo de padecer diabetes mellitus de tipo 2 (16,17). En este sentido, se evidenció que la actividad laboral se vio disminuida como consecuencia de la enfermedad, lo que afectó negativamente la calidad de vida de estas personas y su capacidad adquisitiva. En la población adulta mayor, la principal dificultad fue la dependencia con respecto a su entorno familiar o a otras personas, ya que ninguno era jubilado, lo cual dificultaba el cumplimiento de las recomendaciones nutricionales; además, la alimentación del paciente era diferente a la del resto de la familia y no se consideraba que pudiera ser adoptada por el núcleo familiar completo.

La prevalencia de la diabetes mellitus de tipo 2 en este estudio fue mayor en las mujeres que en los hombres, lo cual concuerda con estudios de otras regiones del país y de América (18-20); la información sobre por qué la diabetes afecta en mayor medida al sexo femenino es insuficiente y esta condición no se ha considerado como un factor de riesgo para la enfermedad, por lo cual es importante estudiarla con mayor profundidad. Por otra parte, según la Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento del sobrepeso y la obesidad en adultos (21), el 90 % de la prevalencia de esta enfermedad es atribuible al exceso de peso y, según los datos reportados por la ENSIN 2010 (14), en Colombia la prevalencia de exceso de peso fue de 51,1 % y mayor en las mujeres (55,1 %), lo cual puede estar relacionado con una mayor prevalencia de diabetes mellitus de tipo 2 entre ellas. Puede concluirse, entonces,

que si el sobrepeso y la obesidad se previenen y se tratan adecuadamente, podría reducirse de forma significativa la carga de esta enfermedad, que hoy constituye la quinta causa de mortalidad en el país (21).

Otro hallazgo relevante de esta investigación fue el bajo nivel educativo de los pacientes y el analfabetismo, lo cual afectó directa y negativamente el cumplimiento del tratamiento debido a la dificultad para leer las indicaciones y recomendaciones.

Por otro lado, se constató que la aplicación del formulario de frecuencia de consumo es una buena herramienta para estimar la frecuencia habitual de la ingestión de alimentos durante el mes anterior, lo que permite establecer el patrón aproximado de consumo de alimentos y las prácticas alimentarias en estos pacientes, así como comparar y detectar conductas de riesgo en ellos (14).

En este sentido, aun cuando la distribución del valor calórico total recomendado para estos pacientes es de 10 a 20 % de proteína, 50 a 60 % de carbohidratos, 30 a 35 % de grasas, y 20 a 35 g de fibra al día (22), y se recomienda una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados (11), en este estudio se evidenció que en la dieta de los pacientes atendidos en estos hospitales predominaba el consumo de carbohidratos, como los almidones de los cereales y subproductos elaborados con estos, y de tubérculos y plátanos, además del consumo de azúcar y el uso de grasas perjudiciales para la salud, lo cual se asocia con el bajo costo de estos alimentos y responde al patrón cultural de los hábitos alimentarios de la población colombiana (14).

El consumo de frutas y verduras se recomienda ampliamente para el manejo de la diabetes mellitus

de tipo 2. Hoy se recomienda el consumo de cinco porciones, o más de 400 g diarios, de estos alimentos a toda la población en Colombia como parte de una dieta saludable baja en grasas, azúcares y sal (o sodio) para prevenir el aumento de peso como factor de riesgo de esta enfermedad (23). Sin embargo, en los pacientes del estudio se evidenció un bajo consumo de frutas y verduras, lo que limita considerablemente el aporte de fibra, vitaminas y minerales.

En cuanto al consumo de alimentos que son fuente de proteínas de alto valor biológico, en pacientes mal controlados se ha registrado una aceleración de la gluconeogénesis al aumentarse la producción de glucosa en el estado postabsortivo o posprandial, pero la influencia en los niveles de glucemia y la sensibilidad a la insulina es mínima en pacientes con diabetes mellitus de tipos 1 y 2, independientemente del consumo de proteínas; además, no hay información suficiente para confirmar que la cantidad necesaria de proteína en pacientes con diabetes mellitus de tipo 2 sin complicaciones varíe con respecto a la recomendada en individuos sanos (22). En este sentido, en el presente estudio se registró un bajo consumo de alimentos fuente de proteínas de alto valor biológico, lo que podría influir en el deterioro progresivo del estado nutricional de los pacientes.

Por otra parte, en el presente estudio uno de los factores asociados a las inadecuadas prácticas alimentarias fue la difícil situación económica de los pacientes, ya que los bajos ingresos y el no contar con planes alimentarios adecuados a su contexto sociocultural, no les permitían acceder a una alimentación apropiada, dificultando así el control de la enfermedad. Este resultado concuerda con los de un estudio en Cuba, en el cual se encontró una asociación entre el bajo consumo de proteínas y las difíciles condiciones económicas de los pacientes, lo que se traducía en un aumento del consumo de carbohidratos por encima de las recomendaciones establecidas para esta población (24). Es claro que las dificultades económicas disminuyen el cumplimiento de las recomendaciones nutricionales como parte del tratamiento, por lo cual es prioritario que, para modificar el estilo de vida, se tengan en cuenta las características sociales, culturales y económicas de los pacientes, ya que estas influyen de forma directa en la historia natural de la diabetes mellitus de tipo 2 (25-27).

Asimismo, el estudio reveló que no todos los pacientes contaban con un plan de alimentación,

ni accedían a consultas especializadas con profesionales en nutrición o a las recomendaciones básicas por parte del médico tratante en algún momento de su tratamiento. Este resultado concuerda con un estudio en Bogotá (28), en el que el 36,7 % de los pacientes no había recibido información general sobre la alimentación por parte del médico tratante y el 39,4 % no había tenido acceso a la asesoría de nutricionistas dietistas, con el obvio efecto negativo en los pacientes.

En este sentido, es importante que todos los pacientes con diabetes mellitus de tipo 2 tengan acceso a la orientación y el manejo nutricional de los profesionales en nutrición para reducir el riesgo cardiovascular, alcanzando y conservando niveles de glucemia y lipemia normales, así como para mejorar el comportamiento frente a algunas de las prácticas alimentarias prescritas para esta población, especialmente la disminución del consumo de azúcares y el fraccionamiento de la alimentación. Es esencial que los pacientes reciban el apoyo y el seguimiento adecuados de un equipo multidisciplinario que incluya la orientación psicológica en apoyo de un mejor cumplimiento del tratamiento y manejo de la enfermedad (22).

En cuanto a los programas dirigidos a estos pacientes, en estudios recientes se ha demostrado que las intervenciones de prevención de la diabetes que incluyen la dieta y el entrenamiento aeróbico y de resistencia son moderadamente eficaces para favorecer la pérdida de peso (-3,79 kg; -6,13, -1,46; IC<sub>95%</sub>; z=3,19; p=0,001), mejorar la glucosa plasmática en ayunas (-0,13 mmol.L-1[-0,24, -0,02; IC<sub>95%</sub>; z=2,42; p=0,02) y la tolerancia a esta (29). Sin embargo, deben hacerse estudios con seguimiento a largo plazo para determinar la eficacia de las intervenciones con múltiples componentes en la prevención de la diabetes mellitus de tipo 2 mediante el análisis de los cambios en los biomarcadores de riesgo y la contribución específica de cada componente en la reducción de los riesgos asociados con esta enfermedad (29).

Debe resaltarse que, en este estudio, se evidenciaron barreras para el adecuado manejo nutricional y general de los pacientes, y que el bajo nivel educativo, el analfabetismo, la gran dependencia de los pacientes con respecto a sus familias, las escasas oportunidades laborales, la incapacidad percibida por los pacientes para trabajar debido a su condición y los bajos recursos económicos, dificultan un buen proceso de tratamiento y de

prevención de las complicaciones derivadas de la diabetes. Por ello, es importante sensibilizar y motivar a los profesionales de la salud para que hagan una consulta especializada y ofrezcan un acompañamiento permanente ajustado al contexto sociocultural de los pacientes (30). Además, se ha reportado que la comunicación entre el paciente diabético y el médico o profesional tratante es un factor importante en el cumplimiento del tratamiento, y ofrece la oportunidad de construir conjuntamente con los pacientes planes de tratamiento mutuamente aceptables y de alcanzar metas acordadas, lo cual estimula al paciente a tomar decisiones beneficiosas para su salud y mejora los resultados de la intervención (31). También, se obtienen resultados positivos cuando los programas educativos incluyen refuerzos, seguimiento telefónico en casa y renegociación de objetivos con metas intermedias de control metabólico (32).

En Colombia, no hay suficiente información sobre la alimentación de los pacientes con diabetes mellitus de tipo 2 en hospitales públicos. En este sentido, el presente estudio permitió una aproximación a sus patrones de alimentación, así como determinar las prácticas alimentarias y las conductas de riesgo, por lo que sus resultados son fundamentales para las entidades e instituciones prestadoras de servicios de salud a la hora de mejorar las estrategias de prevención y control de la enfermedad y contribuir, así, a mejorar la calidad de vida y el cumplimiento del tratamiento en estos pacientes, teniendo en cuenta su contexto, la realidad en la cual están inmersos y sus propias necesidades (33,34).

### Agradecimientos

A la Secretaría de Salud de Cundinamarca, los Hospitales San José del municipio de Guaduas, San Rafael del municipio de Facatativá y Universitario La Samaritana de Zipaquirá.

### Conflicto de intereses

Los autores del presente artículo declaramos no tener conflicto de intereses.

### Financiación

Este estudio fue financiado por el Instituto Nacional de Salud.

### Referencias

1. **World Health Organization.** Preventing chronic diseases a vital investment. Fecha de consulta: 26 de octubre de 2016. Disponible en: [http://www.who.int/chp/chronic\\_disease\\_report/contents/en/](http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/contents/en/)
2. **American Diabetes Association.** Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care. 2005;28(Suppl.1):S4-S36. [https://doi.org/10.2337/diacare.28.suppl\\_1.S4](https://doi.org/10.2337/diacare.28.suppl_1.S4)
3. **Instituto Nacional de Salud, Observatorio Nacional de Salud.** Tercer Informe ONS: mortalidad evitable en Colombia para 1998-2011. Bogotá, D.C.: Imprenta Nacional de Colombia; 2014. Fecha de consulta: 11 de octubre de 2016. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Informe3-ME-ONS-Definitivo.pdf>
4. **American Diabetes Association.** Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012. Diabetes Care. 2013;36:1033-46. <https://doi.org/10.2337/dc12-2625>
5. **Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, Asociación Colombiana de Diabetes.** Norma guía para el programa de prevención y control de la diabetes mellitus para Bogotá, D.C. Primera edición. Bogotá: Litográficas Velasco; 2004. p. 7.
6. **Lockwood D, Frey ML, Glandish NA, Hiss RG.** The biggest problem in diabetes. Diabetes Educ.1986;12:30-3. <https://doi.org/10.1177/014572178601200107>
7. **Román DA, Bellido D, García P, Gamboa R, Alcázar V, De la Fuente R, et al.** Dietoterapia, nutrición clínica y metabolismo. Segunda edición. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 2012. p. 696-9.
8. **Liu S, Manson JE, Stampfer MJ, Hu FB, Giovannucci E, Colditz GA, et al.** A prospective study of whole-grain intake and risk of type 2 diabetes mellitus in US women. Am J Public Health. 2000;90:1409-15.
9. **Vessby B.** Dietary fat and insulin action in humans. Br J Nutr. 2000;83(Suppl.1):S91-6. <https://doi.org/10.1017/S000711450000101X>
10. **Hu FB, van Dam RM, Liu S.** Diet and risk of type II diabetes: The role of types of fat and carbohydrate. Diabetologia. 2001;44:80517. <https://doi.org/10.1007/s001250100547>
11. **Aguilera CM, Ramírez-Tortosa CM, Mesa MD, Gil A.** Efectos protectores de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. Nutr Hosp. 2001;16:78-91.
12. **Santiago J.** Lessons from the diabetes control and complications trial. Diabetes. 1993;42:1549-50. <https://doi.org/10.2337/diab.42.11.1549>
13. **Ministerio de la Protección Social.** Guía de atención de la diabetes mellitus tipo 2. 2005. Fecha de consulta: 26 de octubre de 2016. Disponible en: [http://www.med-informatica.net/TERAPEUTICA-STAR/DiabetesTipo2\\_GuiaAntencionMPS\\_guias17.pdf](http://www.med-informatica.net/TERAPEUTICA-STAR/DiabetesTipo2_GuiaAntencionMPS_guias17.pdf)
14. **Profamilia, Instituto Nacional de Salud, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Ministerio de Salud y Protección Social.** Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, ENSIN. Bogotá: Da Vinci editores & Cia.SNC; 2010.
15. **Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.** Guías alimentarias basadas en alimentos para la población mayor de 2 años. Primera edición. Bogotá: ICBF; 2014.
16. **International Diabetes Federation.** Atlas de la diabetes de la FDI. Fecha de consulta: 10 de octubre de 2016. Disponible en: [http://www.fundaciondiabetes.org/upload/publicaciones\\_ficheros/95/IDF\\_Atlas\\_2015\\_SP\\_WEB\\_oct2016.pdf](http://www.fundaciondiabetes.org/upload/publicaciones_ficheros/95/IDF_Atlas_2015_SP_WEB_oct2016.pdf)

17. **Barceló A, Rajpathak S.** Incidence and prevalence of diabetes mellitus in the Americas. *Pan Am J Public Health.* 2001;10:300-8. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892001001100002>
18. **Aschner P, King H, Triana M, Rodríguez BM.** Glucose intolerance in Colombia. A population-based survey in an urban community. *Diabetes Care.* 1993;16:90-3.
19. **Escobedo J, Buitrón L, Velasco M, Ramírez J, Hernández R, Macchia A, et al.** High prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in urban Latin America: The CARMELA Study. *Diabet Med.* 2009;26:864-71. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2009.02795.x>
20. **Cabrera-Pivaral CE, Martínez-Ramírez A, Vega-López MG, González-Pérez G, Muñoz-de la Torre A.** Prácticas nutricias en pacientes diabéticos tipo II en el primer nivel de atención. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Jalisco, México. *Cad Saúde Públ.* 1996;12:525-30. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1996000400011>
21. **Ministerio de Salud y Protección Social, Colciencias.** Guía de práctica clínica (GPC) para la prevención, diagnóstico y tratamiento del sobrepeso y la obesidad en adultos. 2016. Fecha de consulta: 16 de octubre de 2016. Disponible en: [http://gpc.minsalud.gov.co/gpc\\_sites/Repositorio/Conv\\_637/GPC\\_obesidad/GUIA\\_SOBREPESO\\_OBESIDAD\\_ADULTOS\\_COMPLETA.pdf](http://gpc.minsalud.gov.co/gpc_sites/Repositorio/Conv_637/GPC_obesidad/GUIA_SOBREPESO_OBESIDAD_ADULTOS_COMPLETA.pdf)
22. **Cánovas B, Koning AM, Muñoz C, Vázquez C.** Nutrición equilibrada en el paciente diabético. *Nutr Hosp.* 2001;16:31-40.
23. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Documento Guía Alimentación Saludable. Fecha de consulta: 26 de octubre de 2016. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SNA/Guia-Alimentacion-saludable.pdf>
24. **Blanco J, Socarrás MM, González D, Licea M.** Algunos indicadores de la dieta en un grupo de pacientes diabéticos tipo 2 de Centro Habana. *Revista Cubana Aliment Nutr.* 2002;16:23-30.
25. **López-Carmona JM, Araiza-Andraca CR, Rodríguez-Moctezuma JR, Munguía-Miranda C.** Construcción y validación inicial de un instrumento para medir el estilo de vida en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Salud Pública Mex.* 2003;45:259-68. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342003000400004>
26. **Maya LH.** Los estilos de vida saludables: componente de la calidad de vida. Fecha de consulta: 15 de diciembre de 2016. Disponible en: <https://www.funlibre.org/documentos/lemaya1.htm>
27. **Wubben DP, Porterfield D.** Health-related quality of life among North Carolina adults with diabetes mellitus. *N C Med J.* 2005;66:179-85.
28. **Barrera MP, Pinilla AE, Caicedo LM, Castillo YM, Lozano YM, Rodríguez KM.** Factores de riesgo alimentarios y nutricionales en adultos con diabetes mellitus. *Rev Fac Med.* 2012;60:S28-40.
29. **Aguilar EJ, Morgan PJ, Collins CE, Plotnikoff RC, Callister R.** Efficacy of interventions that include diet, aerobic and resistance training components for type 2 diabetes prevention: A systematic review with meta-analysis. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2014;11:2. <https://doi.org/10.1186/1479-5868-11-2>
30. **Ockleford E, Shaw RL, Willars J, Dixon-Woods M.** Education and self-management for people newly diagnosed with type 2 diabetes, a qualitative study of patients' views. *Chronic Illn.* 2008;4:28-37. <https://doi.org/10.1177/1742395307086673>
31. **Matthews SM, Peden AR, Rowles GD.** Patient-provider communication: Understanding diabetes management among adult females. *Patient Educ Couns.* 2009;76:31-7. <https://doi.org/10.1016/j.pec.2008.11.022>
32. **Maldonado A, Bloise D, Ceci M, Fraticelli E, Fallucca F.** Diabetes mellitus: Lessons from patient education. *Patient Educ Couns.* 1995;26:57-66. [https://doi.org/10.1016/0738-3991\(95\)00736-J](https://doi.org/10.1016/0738-3991(95)00736-J)
33. **Trinidad I, Fernández J, Cucó G, Biarnés E, Arijá V.** Validación de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario corto: reproducibilidad y validez. *Nutr Hosp.* 2008;23:224-52.
34. **López-Amador K, Ocampo-Barrio P.** Creencias sobre su enfermedad, hábitos de alimentación, actividad física y tratamiento en un grupo de diabéticos mexicanos. *Arch Med Fam.* 2007;9:80-6.

ARTÍCULO ORIGINAL

## Análisis de costo-utilidad en Colombia del tratamiento integral del carcinoma de seno con reconstrucción inmediata frente a la reconstrucción diferida

Ana Helena Perea<sup>1</sup>, Diego Rosselli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Anestesiología, Hospital Universitario San Ignacio, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Epidemiología Clínica, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La reconstrucción mamaria inmediata o diferida hace parte del tratamiento del cáncer de mama. Cada país y sistema de salud costea y evalúa estos procedimientos de forma diferente. Es importante determinar cuál estrategia resulta de mayor costo-utilidad en Colombia.

**Objetivo.** Evaluar la costo-utilidad del tratamiento del cáncer de mama con reconstrucción inmediata, comparada con la reconstrucción diferida.

**Materiales y métodos.** Se utilizó un modelo de árbol de decisiones con un plazo previsto de un año desde la perspectiva del tercer pagador. Los datos de costos se tomaron del manual tarifario del Instituto de Seguros Sociales de 2001 más un ajuste del 30 % según la metodología del Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud y el modelo de facturación del Centro Javeriano de Oncología del Hospital Universitario San Ignacio. Las probabilidades de transición y las utilidades se obtuvieron de médicos especialistas, de las pacientes y de la literatura médica. Se hicieron los análisis univariado y probabilístico de sensibilidad.

**Resultados.** Los costos esperados per cápita fueron de COP\$ 26'710.605 (USD\$ 11.165) para la reconstrucción inmediata y de COP\$ 6'459.557 (USD\$ 11.060) para la diferida. La reconstrucción inmediata generó un costo incremental de COP\$ 251.049 (USD\$ 105), así como 0,75 años de vida ajustados por calidad (AVAC), en tanto que la diferida generó 0,63 AVAC, con una relación de costo-utilidad incremental de COP \$2'154.675 por AVAC (USD\$ 901).

**Conclusiones.** El costo por AVAC no superó el umbral de aceptabilidad del producto interno bruto (PIB) per cápita. Los costos durante el primer año resultaron similares y ambas técnicas son favorables para el sistema de salud colombiano, pero la utilidad de la reconstrucción inmediata reportada por los pacientes y en la literatura médica, es mayor.

**Palabras clave:** neoplasias de la mama; mastectomía radical modificada; mamoplastia, análisis costo-beneficio, calidad de vida, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3705>

### Immediate versus delayed breast reconstruction in breast cancer patients in Colombia: A cost-utility analysis

**Introduction.** Breast reconstruction, either immediate or delayed, is part of the treatment of breast cancer. Each country and health system pays for and evaluates these procedures in different ways. Thus, it is important to determine which strategy is most cost-effective in Colombia.

**Objective:** To evaluate the cost-utility of breast cancer treatment with immediate reconstruction compared with delayed reconstruction.

**Materials and methods:** We used a decision tree model and a one-year time horizon from the perspective of the third-party payer; the cost data were taken from the Colombian *Instituto de Seguros Sociales* 2001 rate manual plus a 30% adjustment according to the methodology of the *Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud*, IETS, and the billing model of the *Centro Javeriano de Oncología* at the *Hospital Universitario San Ignacio*. The transition probabilities and profits were obtained from medical specialists, patients, and the medical literature. We also conducted univariate and probabilistic sensitivity analyses.

**Results:** The expected costs per capita were COP\$ 26,710,605 (USD\$ 11,165) for the immediate reconstruction and COP\$ 26,459,557 (USD\$ 11,060) for the deferred reconstruction. Immediate

#### Contribución de los autores:

Ana Helena Perea: búsqueda de literatura y lectura crítica, contacto y entrevista con las pacientes y los expertos médicos  
Ambos autores participaron en la creación de la propuesta de investigación, la conformación de los modelos analíticos y matemáticos y la escritura del manuscrito.

reconstruction generated an incremental cost of COP\$ 251,049 (USD\$ 105) and 0.75 quality-adjusted life years (QALY), while deferred reconstruction generated 0.63 QALYs, with an incremental cost-utility ratio of COP\$ 2,154,675 per QALY (USD\$ 901).

**Conclusions:** The cost per QALY did not exceed the acceptability threshold of the Gross Domestic Product (GDP) per capita. The costs for the first year were similar. Both techniques are favorable for the Colombian health system, but the utility reported by patients and the literature is greater with the immediate reconstruction.

**Key words:** Breast neoplasms; mastectomy, modified radical; mammoplasty; cost-benefit analysis; quality of life, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3705>

El cáncer de mama es el segundo más frecuente en la población general y el más frecuente en mujeres; es la quinta causa general de muerte por cáncer en el mundo (522.000 muertes en 2012), la más frecuente en mujeres de regiones menos desarrolladas (324.000 muertes, 14,3 % del total) y la segunda en mujeres de países más desarrollados (1).

En el período de 2002 a 2006, el Instituto Nacional de Cancerología de Colombia reportó una incidencia cuatrienal nacional de cánceres de mama en mujeres (CIE-10: C50.9) de 6.999 casos (tasa ajustada por edad de 36,4 por 100.000 habitantes) y, en el 2011, la tasa de mortalidad fue de 10,01 por 100.000 habitantes y de 9,78 por 100.000 habitantes en el 2012 (2).

Entre los tratamientos quirúrgicos con intención curativa, se describen dos tipos principales: aquellos en los que únicamente se reseca el tumor (usualmente limitada en tamaño y acompañada de vaciamiento axilar) y aquellos en los que se hace la resección oncológica y, posteriormente, se reconstruye la mama.

La reconstrucción, para la cual se puede usar tejido autólogo, expansores tisulares o prótesis (3-5), puede hacerse de manera inmediata o diferida (4). En este sentido, hay estudios sobre los costos de las dos alternativas de reconstrucción (6-16), sobre la relación costo-efectividad de los dos procedimientos (17-19), sobre el cambio en la calidad de vida y los efectos psicológicos de los procedimientos en las pacientes (20-28), y sobre el efecto general de una u otra conducta terapéutica (29-31). Los estudios de costos varían

según el grupo investigador y las circunstancias de los costos, en tanto que los que exploran los efectos psicológicos o la calidad de vida no tienen uniformidad en los enfoques ni en las escalas.

En la actualidad, las valoraciones centradas en los resultados percibidos por el paciente han adquirido una mayor relevancia (32), pues aportan datos útiles para los responsables de las decisiones en salud (27,33-37). Los análisis de costo-utilidad son una forma de evaluación económica centrada en la calidad de los resultados de un programa o tratamiento (17,18,38). La medición del cambio en la calidad de vida se hace en años de vida ajustados por calidad (AVAC), lo que permite comparaciones con otros estudios que reportan sus resultados en unidades similares (39).

En este contexto, el objetivo del estudio fue determinar, desde la perspectiva del sistema de salud colombiano, el costo-utilidad de la reconstrucción mamaria inmediata y de la diferida, como parte del tratamiento integral de las pacientes con cáncer de mama sometidas a cirugía reconstructiva.

## Materiales y métodos

Los pasos y la metodología empleados fueron los sugeridos en el "Manual para elaboración de evaluaciones económicas en salud", del Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud (IETS) (40). El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigaciones de la Pontificia Universidad Javeriana-Hospital Universitario San Ignacio.

## Revisión de la literatura científica

Inicialmente, se hizo una revisión de estudios sobre pacientes con cáncer de mama en estadio temprano y en tratamiento integral con intención curativa, sometidas a reconstrucción mamaria inmediata o diferida como parte de las intervenciones realizadas. Los estudios debían estar disponibles en texto completo impreso o en formato electrónico en inglés, portugués, francés o español, y haber sido publicados entre el 2000 y el 2014.

## Correspondencia:

Ana Helena Perea, Servicio de Anestesiología, Hospital Universitario San Ignacio, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N° 40-62, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (310) 322 4956  
[perea.a@javeriana.edu.co](mailto:perea.a@javeriana.edu.co)

Recibido: 29/11/16; aceptado: 12/03/18

Se incluyeron ensayos clínicos controlados (con evaluación económica o sin ella), estudios de cohortes (con evaluación económica o sin ella), estudios de costos, estudios de costo-efectividad, estudios de costo-utilidad y estudios descriptivos de la calidad de vida. Se excluyeron los reportes de caso y las cartas al editor.

La búsqueda de la literatura se ajustó a los estándares de calidad establecidos por la Colaboración Cochrane (41) en las bases de datos de Medline (plataforma Pubmed), Cochrane Database of Systematic Reviews - CDSR (plataforma Wiley), Database of Abstracts of Reviews of Effects - DARE (plataforma Wiley), LILACS (Biblioteca Virtual en Salud – BVS (plataforma Ovid) y Cost-Effectiveness Analysis Registry (CEA Registry), Tufts Medical Center.

En las bases de datos de Medline, CDSR y DARE se usaron los términos MeSH *breast*, *breast cancer*, *immediate breast reconstruction*, *delayed breast reconstruction*, *TRAM flap*, *latissimus dorsi flap*, *costs*, *cost-effectiveness*, *cost-utility*, *utility*, *complication* y *quality of life*. En la base de datos de BIREME-LILACS, Biblioteca Virtual en Salud, se usaron los términos MeSH anotados y los siguientes Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS): cáncer, cáncer de seno, reconstrucción mamaria, costos, costo-utilidad, costo-efectividad, TRAM, dorsal ancho, calidad de vida; asimismo, se hicieron búsquedas por autores. En todos los casos se hicieron las búsquedas combinando los términos con los operadores booleanos *and/or* e *y/o*. La búsqueda se restringió a estudios en humanos publicados en español, portugués, inglés y francés. Para la búsqueda en la base de datos del CEA Registry, se usaron los términos *breast reconstruction*, *breast cancer* y *cost-utility* (42).

Se empleó la metodología de bola de nieve con los términos MeSH y DeCS generales, según las instrucciones de cada plataforma. A continuación, se hizo una búsqueda más específica con una mezcla de términos MeSH y DeCS más delimitados. A partir de los artículos hallados, se ajustó la búsqueda en las plataformas por terminología, autores o centros de estudio, y se hizo una búsqueda manual en las referencias. Por último, se hizo una búsqueda específica de temas y términos faltantes, orientada principalmente a la construcción del modelo matemático (cuadro 1).

Las referencias encontradas se almacenaron y se manejaron con el programa para referenciación bibliográfica Mendeley™. El nivel de la evidencia

encontrada se evaluó mediante la herramienta del *Centre for Evidence-Based Medicine* de Oxford (43). Para cada artículo incluido se anotó, además, el grado de recomendación asociado según las indicaciones del grupo GRADE (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*) (44). Para calificar los artículos de costo-efectividad y costo-utilidad, se usó la lista de chequeo del *Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards (CHEERS) statement* (45) y, para los artículos incluidos en la base de datos del CEA Registry, se tuvo en cuenta la calificación de calidad usada por ellos.

### **Estudio de costo-efectividad**

Se hizo un estudio de costo-efectividad o utilidad desde la perspectiva del sistema de salud colombiano, comparando la reconstrucción mamaria diferida con la inmediata, como opción quirúrgica posterior al tratamiento del cáncer de mama en estadio temprano.

Para evaluar el nivel de costo-efectividad o utilidad, se construyó un modelo de árbol de decisiones del tratamiento integral de cáncer temprano de mama con intención curativa (quimioterapia, radioterapia, cirugía oncológica, cirugía reconstructiva inmediata o diferida, terapia hormonal).

Teniendo en cuenta que el objetivo de hacer la reconstrucción mamaria inmediata es mejorar la calidad de vida de las pacientes desde el primer año de tratamiento, se utilizó un plazo previsto de un año en el que se registraron los costos y los eventos de interés relacionados con la calidad de vida, en este caso, la aparición de complicaciones (46,47) (cuadro 2). Este modelo contempla las probabilidades relacionadas con cada evento registrado y los costos asociados.

Como medida de costo-efectividad, se usaron los AVAC asociados con cada tipo de reconstrucción (temprana o tardía) y la razón de costo-efectividad o utilidad incremental. Dichas medidas se asociaron con la aparición de las complicaciones posoperatorias consideradas como indicadores de la calidad de vida (cuadro 2).

Las probabilidades de la reconstrucción con una u otra técnica quirúrgica, se tomaron de datos locales (Clínica de Seno, Hospital Universitario San Ignacio-Centro Javeriano de Oncología, HUSI-CJO). Las probabilidades de presentar complicaciones relacionadas con cualquiera de los procedimientos, de presentar complicaciones mayores o menores,

**Cuadro 1.** Estrategia de búsqueda en las bases de datos

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Medline (plataforma Pubmed)</b><br>-cancer AND breast<br>("neoplasms"[MeSH Terms] OR "neoplasms"[All Fields] OR "cancer"[All Fields]) AND ("breast"[MeSH Terms] OR "breast"[All Fields]): 357776<br>-cancer[ti] AND breast[ti]: 151611<br>-breast cancer[ti] AND (immediate [All Fields] AND ("mammoplasty"[MeSH Terms] OR "mammoplasty"[All Fields] OR ("breast"[All Fields] AND "reconstruction"[All Fields]) OR "breast reconstruction"[All Fields])): 425<br>-breast cancer[ti] AND immediate breast reconstruction[ti]: 80<br>-breast cancer[ti] AND delayed breast reconstruction[ti]: 8<br>-breast cancer[ti] AND costs[ti]: 178<br>-breast cancer[ti] AND cost-effectiveness[ti]: 341<br>-breast cancer[ti] AND cost-utility[ti]: 45<br>-breast cancer[ti] AND immediate breast reconstruction[ti] AND complication[ti]: 0<br>-breast cancer [ti] AND immediate reconstruction [ti] AND complication [ti]: 0<br>-breast cancer[ti] AND delayed breast reconstruction[ti] AND complication[ti]: 0<br>-breast cancer[ti] AND delayed reconstruction[ti] AND complication[ti]: 0<br>-delayed breast reconstruction [ti] AND quality of life [ti]: 3<br>-immediate breast reconstruction [ti] AND quality of life [ti]: 14<br>-immediate breast reconstruction [ti] AND latissimus dorsi flap [ti]: 15<br>-delayed breast reconstruction [ti] AND latissimus dorsi flap [ti]: 6 |
| <b>Cochrane Database of Systematic Reviews - CDSR (plataforma Wiley)</b><br><a href="http://www.cochranelibrary.com/cochrane-database-of-systematic-reviews/index.html">http://www.cochranelibrary.com/cochrane-database-of-systematic-reviews/index.html</a><br><i>Breast cancer:</i> 76<br>Protocolos: 27<br>Revisiones sistemáticas: 49<br>Resultado: Se revisan <i>Abstracts</i> y se incluye una revisión sistemática.<br>N: 1<br><i>Breast reconstruction:</i> 5<br>Protocolos: 5<br>Revisiones sistemáticas: 0<br>Resultado: No se incluye ninguno.<br>N: 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Cochrane Database of Systematic Reviews - CDSR (plataforma OVID)</b><br><a href="http://www.cochranelibrary.com/cochrane-database-of-systematic-reviews/index.html">http://www.cochranelibrary.com/cochrane-database-of-systematic-reviews/index.html</a><br>Breast reconstruction: 1<br>Protocolos: 0.<br>Revisiones sistemáticas: 1.<br>Resultado: No se incluye ninguno<br>N: 0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Database of Abstracts of Reviews of Effects - DARE (plataforma Wiley)</b><br>Breast: 22<br>Títulos revisados: 22<br>Texto completo revisados: 2.<br>Resultado: Se revisan los textos completos y se incluyen los pertinentes.<br>N: 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>LILACS (Biblioteca Virtual en Salud – BVS (plataforma Ovid)</b><br>- DeCS<br>*(ti:(reconstrucción mamaria))<br>*(ti:(reconstrucción mamaria)) AND (ti:(costos))<br>*(ti:(reconstrucción mamaria )) AND (tw:(costo-utilidad))<br>*(ti:(reconstrucción mamaria)) AND (ti:(costo-efectividad))<br>*tw:((tw:(reconstrucción mamaria)) AND (tw:(costos))) AND (instance:"regional")<br>*(ti:(cáncer de seno)) AND (ti:(reconstrucción mamaria))<br>*(ti:(reconstrucción mamaria)) AND (tw:(calidad de vida)) AND (instance:"regional")<br>*(ti:(reconstrucción mamaria)) AND (ti:(colgajo)) AND (tw:(cáncer de seno)) AND (instance:"regional"). Desde 2000-2014 Jun<br>*(ti:(reconstrucción mamaria)) AND (ti:(colgajo TRAM))<br>*(ti:(reconstrucción mamaria)) AND (ti:(dorsal ancho))<br>- MeSH terms<br>*(ti:(breast cancer)) AND (ti:(cost-effectiveness)) AND (ti:(tram flap))) AND (instance:"regional")<br>*(ti:(breast cancer)) AND (ti:(cost-effectiveness)) AND (tw:(reconstruction)) AND (instance:"regional")<br>*(ti:(breast reconstruction)) AND (tw:(cost-effectiveness)) AND (instance:"regional")                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Cost-Effectiveness Analysis Registry (CEA Registry) - Tufts Medical Center</b><br>Breast reconstruction: 4<br>Duplicados: 1<br>Retirados tras revisar resumen: 1<br>Retirados tras revisar texto completo: 0<br>Resultado: Se revisan texto completo y se incluyen.<br>N: 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

Se anotan los términos usados en la primera búsqueda en cada base de datos; a partir de allí, se derivan otras búsquedas detalladas, pero no anotadas. Los detalles sobre la tamización de los artículos aparecen en el diagrama general PRISMA (para los diagramas PRISMA de cada búsqueda, contactar a los autores).

**Cuadro 2.** Complicaciones definitivas consideradas para construir el modelo (estados de salud)

| <b>Menores o leves</b> (de menor a mayor gravedad)  |
|-----------------------------------------------------|
| Hematoma                                            |
| Seroma                                              |
| Linfedema                                           |
| Necrosis parcial de la herida de seno o abdomen     |
| <b>Mayores o graves</b> (de menor a mayor gravedad) |
| Hernia ventral                                      |
| Dehiscencia de la herida de seno o abdomen          |
| Contracción del seno o de la cápsula de la prótesis |
| Infección de la herida de seno o abdomen            |
| Extrusión de prótesis                               |
| Neutropenia febril                                  |
| Necrosis total del colgajo mamario                  |

La ausencia de complicaciones también fue incluida como un estado de salud (ver el árbol de decisiones en la figura 2).

y cada una de las complicaciones finales establecidas como relevantes, se tomaron de la literatura médica (cuadro 3).

Se hizo un análisis desde la perspectiva del tercero pagador, en este caso el Sistema General de Seguridad Social en Salud (SGSSS) de Colombia, y se utilizaron los costos del sistema de salud ajustados al modelo de facturación del HUSI-CJO de los casos de las 48 mujeres intervenidas entre 2013 y 2014 quienes, además, fueron contactadas con el fin de recabar información para la elaboración del modelo (figura 1).

En cuanto a los costos, para la estimación del caso base, es decir, el procedimiento oncológico integral exceptuando la reconstrucción mamaria, se incluyeron los costos de las citas y las juntas médicas, de la quimioterapia neoadyuvante y adyuvante, la radioterapia, la terapia hormonal, y las intervenciones quirúrgicas oncológicas y reconstructivas, según el código de la Clasificación Única de Procedimientos en Salud (CUPS) del manual tarifario del ISS 2001 (54) (cuadro 4).

En la estimación de los costos de los estados de salud o complicaciones con un código de CUPS específico, se tuvo en cuenta el costo del tratamiento de cada uno (cuadro 5).

Tanto los costos del caso base como los de los estados de salud, se ajustaron con un 30 % adicional al elaborar el modelo, según la recomendación del IETS (40). Para los análisis de sensibilidad, se usaron las tarifas del manual tarifario del ISS 2001 más un 25 % y un 48 % adicionales en pesos colombianos (COP) de 2014 (1 USD= COP\$ 2.000,3) (cuadros 4 y 5). Los costos de los

medicamentos incluidos fueron los manejados por el HUSI-CJO, los cuales son el resultado del ajuste de la tarifa del Sistema de Información de Precios de Medicamentos (Sismed) (55) a los de la institución y a los datos de los proveedores específicos de algunos insumos. El origen de los datos de los costos fue el mismo para los procedimientos oncológicos mayores y para las complicaciones.

Para la estimación de costos del caso base y las complicaciones, se partió de los siguientes supuestos: las mujeres incluidas tenían un cáncer de mama en estadio temprano (máximo IIIA), y todas recibieron tratamiento integral, incluidas quimioterapia, radioterapia, cirugía oncológica y reconstructiva, y terapia hormonal. Se asumió que el costo de la complicación era igual en ambos tipos de intervención quirúrgica. Cuando se requirió tratamiento ambulatorio, el costo se calculó máximo para tres semanas; en casos de tratamiento quirúrgico, se calculó un tiempo de hospitalización promedio de tres días; en casos de tratamiento quirúrgico por una complicación, el procedimiento quirúrgico resultante se facturó al 100 %; en casos de infección, se facturaron los medicamentos contemplados en el protocolo de manejo del HUSI-CJO.

En el supuesto de contracción de la prótesis mamaria, se consideró que en todas las pacientes se cambiaba la prótesis por la de costo medio ofrecida por el prestador de servicios, al igual que en los casos de hernia ventral, en los que se consideró que en todos se colocaba una malla de Prolene™ (no se presentan los datos).

Cuando se presentaba pérdida total del colgajo, se consideró que la segunda reconstrucción se hacía con un colgajo pediculado del músculo recto abdominal transversal (*Transverse Rectus Abominis Myocutaneous*) (TRAM-2), o con uno pediculado del dorsal ancho (*Latissimus Dorsi Musculocutaneous*) más una prótesis (DA-2); según ponderación de la casuística del HUSI-CJO entre el 2013 y el 2014, cerca de 60 % del primero y de 40 % del segundo.

Los costos de las complicaciones, cuya presentación se consideró un estado de salud, se estimaron de igual forma, tanto si se presentaban tras la reconstrucción inmediata o tras la tardía, pues su aparición se registra con respecto al procedimiento más cercano, es decir, la reconstrucción mamaria, y no tras la mastectomía (cuadro 5). El costo de cada estado de salud se ponderó por su duración en fracciones de un año (un mes=1/12 de año).

**Cuadro 3.** Probabilidades estimadas en el modelo para las complicaciones\* de la reconstrucción inmediata y diferida

| Evento clínico                                      | Situación basal<br>(media)** | Rango del análisis<br>de sensibilidad** |       | Referencia             |
|-----------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|-------|------------------------|
| Reconstrucción inmediata                            |                              |                                         |       |                        |
| Reconstrucción inmediata con TRAM                   | 0,600                        | 0,550                                   | 0,650 | HUSI-CJO               |
| Reconstrucción inmediata con DA más prótesis        | 0,400                        | 0,350                                   | 0,450 | HUSI-CJO               |
| Ausencia de complicaciones                          | 0,546                        | 0,500                                   | 0,592 | (48)                   |
| Complicaciones                                      | 0,454                        | 0,408                                   | 0,500 | (48,49)                |
| Complicaciones mayores                              | 0,276                        | 0,236                                   | 0,315 | (49)                   |
| Complicaciones menores                              | 0,724                        | 0,684                                   | 0,764 | Calculado por el autor |
| Dehiscencia de la herida de seno o abdomen          | 0,069                        | 0,048                                   | 0,089 |                        |
| Infección de la herida de seno o abdomen            | 0,126                        | 0,109                                   | 0,142 | (4,48)                 |
| Contracción del seno o de la cápsula de prótesis    | 0,494                        | 0,368                                   | 0,620 | (48)                   |
| Extrusión de la prótesis                            | 0,031                        | 0,026                                   | 0,035 | (48)                   |
| Necrosis total del colgajo                          | 0,052                        | 0,032                                   | 0,070 | (4,48)                 |
| Hernia ventral                                      | 0,123                        | 0,114                                   | 0,132 | (50)                   |
| Neutropenia febril                                  | 0,105                        | 0,055                                   | 0,153 | (51)                   |
| Seroma                                              | 0,079                        | 0,076                                   | 0,082 | (48)                   |
| Hematoma                                            | 0,125                        | 0,111                                   | 0,137 | (48)                   |
| Necrosis parcial del colgajo                        | 0,428                        | 0,384                                   | 0,470 | (48,50)                |
| Linfedema                                           | 0,368                        | 0,336                                   | 0,400 | (52)                   |
| Reconstrucción diferida                             |                              |                                         |       |                        |
| Reconstrucción diferida con TRAM                    | 0,600                        | 0,550                                   | 0,650 | HUSI-CJO               |
| Reconstrucción diferida con DA más prótesis         | 0,400                        | 0,350                                   | 0,450 | HUSI-CJO               |
| Ausencia de complicaciones                          | 0,623                        | 0,583                                   | 0,663 | (48)                   |
| Complicaciones                                      | 0,376                        | 0,366                                   | 0,416 | (48)                   |
| Complicaciones mayores                              | 0,320                        | 0,280                                   | 0,359 | (48)                   |
| Complicaciones menores                              | 0,680                        | 0,640                                   | 0,720 | (48)                   |
| Dehiscencia de la herida de seno o abdomen          | 0,085                        | 0,064                                   | 0,106 | (48)                   |
| Infección de la herida de seno o abdomen            | 0,057                        | 0,040                                   | 0,073 | (48)                   |
| Contracción del seno o de la cápsula de la prótesis | 0,403                        | 0,277                                   | 0,529 | (48)                   |
| Extrusión de la prótesis                            | 0,041                        | 0,037                                   | 0,046 | (48)                   |
| Necrosis total del colgajo                          | 0,107                        | 0,087                                   | 0,125 | (48)                   |
| Hernia ventral                                      | 0,165                        | 0,156                                   | 0,173 | (48)                   |
| Neutropenia febril                                  | 0,140                        | 0,091                                   | 0,189 | (51)                   |
| Seroma                                              | 0,029                        | 0,026                                   | 0,031 | (48)                   |
| Hematoma                                            | 0,143                        | 0,130                                   | 0,156 | (48)                   |
| Necrosis parcial del colgajo                        | 0,474                        | 0,431                                   | 0,517 | (48)                   |
| Linfedema                                           | 0,353                        | 0,321                                   | 0,385 | (53)                   |

HUSI-CJO: Hospital Universitario San Ignacio – Centro Javeriano de Oncología; TRAM: *Transverse Rectus Abdominis Myocutaneous*; DA: dorsal ancho  
 \*La probabilidad media de someter a una paciente a reconstrucción inmediata o diferida fue la calculada para las pacientes registradas en la base de datos del HUSI-CJO: 0,798 (0,758-0,838) y 0,202 (0,162-0,242), respectivamente.

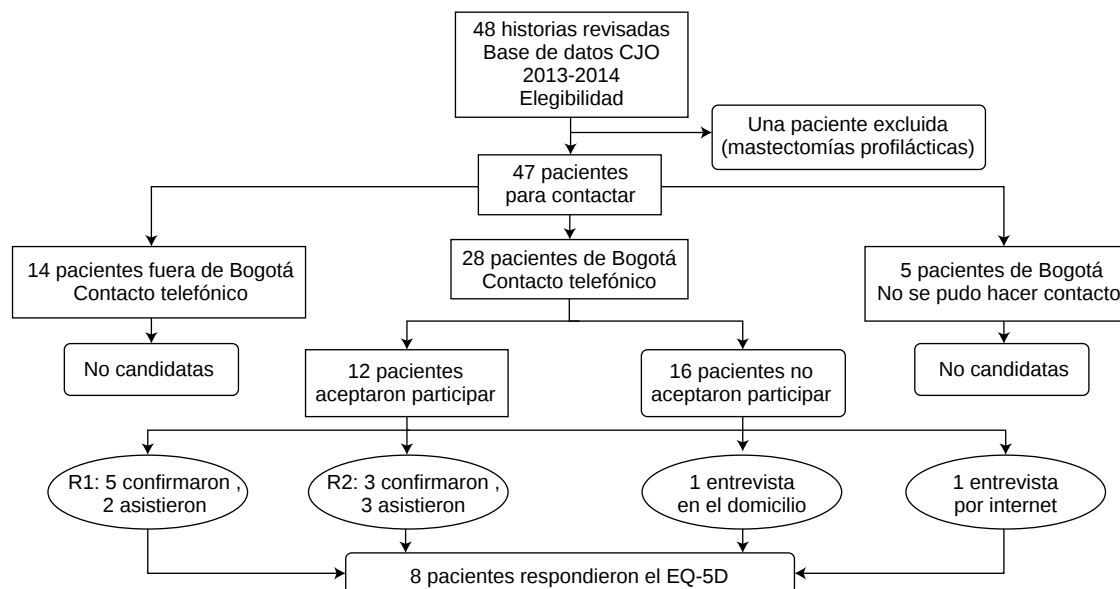
\*\*Los datos de probabilidad media y los límites inferior y superior, se obtuvieron de la literatura y se ajustaron según la frecuencia de presentación de las complicaciones o estados de salud. Se usaron la máxima variación y la variación promedio para hacer el cálculo de esos límites cuando no se hallaron datos en la literatura consultada.

Por último, el costo de cada estado de salud anotado e introducido en el modelo, correspondió a la suma de los costos del tratamiento integral oncológico registrado, del procedimiento reconstructivo (teniendo en cuenta su temporalidad), y de la complicación correspondiente.

El producto interno bruto (PIB) per cápita de Colombia en el 2014, se estableció como el umbral de aceptabilidad de los costos, y se tomó del reporte del Banco de la República para ese año: COP\$ 15'558.115 (USD\$ 8.031). La comparación se hizo con uno y tres PIB (COP\$ 46'674.345, USD\$ 24.093).

Para el análisis de los costos se usaron distribuciones gamma, excepto para el de la hernia ventral, en el que se usó una distribución normal logarítmica (56), ya que la distribución gamma estaba sesgada por valores extremos, como los de las mallas especiales para eventrorrafia, por lo que se decidió hacer la transformación con el fin de tener una distribución similar a la de los otros parámetros.

Las utilidades se obtuvieron de forma híbrida: pacientes, literatura médica e imputación de datos. Las utilidades obtenidas de las pacientes se levantaron con la muestra de quienes se sometieron



**Figura 1.** Flujograma del proceso de contacto y entrevista de las pacientes

**Cuadro 4.** Costos del caso base

| Procedimiento                                       | Costo*<br>ISS 2001 (COP\$) | Costo*<br>ISS+30 % (COP\$) | Costo*<br>ISS+25 % (COP\$) | Costo*<br>ISS+48 % (COP\$) |
|-----------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Consulta especial por primera vez                   | 12.510                     | 16.263                     | 15.637                     | 18.514                     |
| Consulta especial de control                        | 25.020                     | 32.526                     | 31.275                     | 37.029                     |
| Consulta especial de junta médica                   | 5.935                      | 7.715                      | 7.418                      | 8.783                      |
| PQAR (procedimiento)                                | 247.455                    | 321.691                    | 309.318                    | 366.233                    |
| PQARDC                                              | 126.036                    | 163.846                    | 157.545                    | 186.533                    |
| MQ (procedimiento)                                  | 95.730                     | 124.449                    | 119.662                    | 141.680                    |
| MQP                                                 | 4.072.632                  | 5.294.421                  | 5.090.790                  | 6.027.495                  |
| Teleterapia conformacional en 3D                    | 3.077.333                  | 4.000.532                  | 3.846.666                  | 4.554.452                  |
| Radioterapia de intensidad modulada                 | 6.417.207                  | 8.342.369                  | 8.021.508                  | 9.497.466                  |
| Acelerador lineal de tipo 1, grupo 4                | 2.614.415                  | 3.398.739                  | 3.268.018                  | 3.869.334                  |
| Día de habitación compartida con tres camas         | 79.290                     | 103.077                    | 99.112                     | 117.349                    |
| MRM unilateral                                      | 549.010                    | 713.713                    | 686.262                    | 812.534                    |
| Colgajo de piel compuesto de 5 a 10 cm <sup>2</sup> | 579.910                    | 747.383                    | 718.637                    | 850.866                    |
| Total                                               | 17.897.483                 | 23.266.727                 | 22.371.853                 | 26.488.274                 |

\*Costos en COP de 2014 (1 USD=2.000: 3 COP); PQAR: poli quimioterapia de alto riesgo; PARDC: poli quimioterapia de alto riesgo con doxorubicina/ ciclofosfamida; MQ: mono quimioterapia; MQP: mono quimioterapia con paclitaxel; MRM: mastectomía radical modificada; ISS: Instituto de Seguros Sociales (Para mayores detalles, consultar a los autores)

a reconstrucción mamaria. Las obtenidas de la literatura, se detectaron durante la búsqueda de la bibliografía anotada y con la búsqueda secundaria en las referencias de los artículos revisados. Para los estados de salud “extrusión de prótesis” y “dehiscencia de la herida de seno o abdomen”, no se encontraron valores de utilidades con ninguna de las estrategias mencionadas, pero dado que la jerarquización hecha por los médicos expertos y las pacientes fue concordante entre sí y con la literatura, excepto en los casos mencionados, se decidió hacer la imputación de esos datos (cuadro 6).

Se trabajó sobre el supuesto de que las utilidades relacionadas con cada complicación eran similares en ambos tipos de reconstrucción, según lo reportado por Ko, *et al.* (59), quienes encontraron una evolución similar de la percepción de satisfacción para ambos tipos de reconstrucción en el corto plazo, es decir, entre el primer y el tercer año después de la cirugía y el tratamiento integral.

#### **Características específicas del modelo**

Se planteó un modelo de árbol de decisiones (figura 2), que incluyó en cada rama el costo del caso base (cuadro 4), el costo de la complicación o

el estado de salud (cuadro 5), la probabilidad de su aparición (cuadro 3) y su utilidad asociada (cuadro 6), lo cual dio como resultado los AVAC asociados con cada tipo de reconstrucción.

Los supuestos del modelo de decisión fueron los siguientes: 1) solo se consideraron dos técnicas quirúrgicas de reconstrucción mamaria: colgajo pediculado TRAM y colgajo pediculado de dorsal

ancho con prótesis mamaria (DA-PM); la probabilidad calculada fue de 60 % de TRAM y de 40 % de DA-PM, según la casuística del HUSI-CJO; 2) las probabilidades de presentación de complicaciones o estados de salud variaban según se tratara de la reconstrucción inmediata o de la diferida (cuadro 3); 3) los costos del procedimiento oncológico y la reconstrucción diferían según se tratara de

**Cuadro 5.** Costos estimados de los estados de salud

| Estado de salud                                   | Costo* ISS+30%<br>(COP\$) | Costo* ISS+25%<br>(COP\$) | Costo* ISS+48%<br>(COP\$) |
|---------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Necrosis total de colgajo_TRAM_2†                 | 3'314.060                 | 3'186.596                 | 3'772.930.70              |
| Necrosis total del colgajo_DA más prótesis_2†     | 3'844.953                 | 3'697.070                 | 4'377.331.25              |
| Neutropenia febril                                | 21'569.219                | 20'739.633                | 24'555.726                |
| Extrusión de la prótesis‡                         | 2'971.449                 | 2'857.162                 | 3'338.880                 |
| Necrosis parcial del colgajo                      | 344.474                   | 331.225                   | 392.170                   |
| Infección de la herida seno o abdomen             | 1'417.156                 | 1'362.650                 | 1'613.377                 |
| Contracción del seno o la cápsula de la prótesis‡ | 2'971.449                 | 2'857.162                 | 3'338.880                 |
| Dehiscencia de la herida de seno o abdomen        | 382.941                   | 368.212                   | 435.963                   |
| Hernia ventral                                    | 699.946                   | 865.550                   | 1'024.811                 |
| Linfedema                                         | 152.568                   | 146.700                   | 173.692                   |
| Seroma                                            | 295.685                   | 284.312                   | 336.626                   |
| Hematoma                                          | 208.656                   | 200.631                   | 237.547                   |

\*Costos en COP\$, 2014 (1 USD=2.000,3 COP\$)

HUSI-CJO: Hospital Universitario San Ignacio – Centro Javeriano de Oncología

ISS: Instituto de Seguros Sociales

† Datos ponderados según la casuística del HUSI-CJO. Se anotaron TRAM\_2 y DA más prótesis\_2 porque la presentación de esa complicación requiere un segundo procedimiento del mismo tipo.

‡ Se anotó como un solo procedimiento, al encontrarlo reportado de esa forma en la literatura; sin embargo, el costo del manejo de cada uno (contracción de neoseno o de cápsula de prótesis mamaria), es diferente. Se decidió con los expertos introducir el dato del costo del manejo de la contracción de la cápsula de la prótesis mamaria que resultara ser igual al del manejo de su extrusión.

**Cuadro 6.** Utilidades asociadas a los estados de salud o complicaciones

| Estado de salud                                     | Utilidad media | Límite inferior de utilidad | Límite superior de utilidad | Referencia                      |
|-----------------------------------------------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Reconstrucción diferida*                            | 0,63           | 0,53                        | 0,72                        | (4)                             |
| Sin complicación con TRAM                           | 0,83           | 0,70                        | 0,95                        | (4)                             |
| Sin complicación con DA más prótesis                | 0,74           | 0,62                        | 0,85                        | (4)*                            |
| Necrosis total del colgajo                          | 0,44           | 0,39                        | 0,49                        | (18)                            |
| Neutropenia febril                                  | 0,47           | 0,42                        | 0,52                        | (57)                            |
| Extrusión de prótesis†                              | 0,51†          | 0,46‡                       | 0,56‡                       | Cálculo según †‡                |
| Necrosis parcial del colgajo§                       | 0,58§          | 0,53                        | 0,63                        | (4)*; calculado por los autores |
| Infección de la herida de seno o abdomen            | 0,57           | 0,52                        | 0,62                        | Calculado por los autores       |
| Contracción del seno o de la cápsula de la prótesis | 0,57           | 0,52                        | 0,62                        | Calculado por los autores       |
| Dehiscencia de la herida de seno o abdomen†         | 0,61†          | 0,56‡                       | 0,66‡                       | Cálculo según †‡                |
| Hernia ventral                                      | 0,66           | 0,61                        | 0,71                        | (18)                            |
| Linfedema                                           | 0,75           | 0,70                        | 0,80                        | (58)                            |
| Seroma                                              | 0,77           | 0,72                        | 0,82                        | (17)                            |
| Hematoma                                            | 0,79           | 0,74                        | 0,84                        | (18)                            |

Las utilidades a partir de la "necrosis total del colgajo" están registradas de más grave a menos grave, según la jerarquización dada por las pacientes y los médicos expertos, y la encontrada en la literatura.

\*Se obtuvieron también datos del estudio de Chie, *et al.* (52), y del estudio de Ko, *et al.* (59), pero se tomó el de Grover, *et al.* (4), por tener datos más completos.

† Para el cálculo de las utilidades de "extrusión de la prótesis" y "dehiscencia de la herida del seno o abdomen", ver el texto.

‡ Para el cálculo de los límites inferior y superior, se tomó la utilidad media calculada en  $\pm 0,05$ .

§ Para este estado de salud se obtuvieron dos datos puntuales de utilidades, uno de una paciente del HUSI-CJO, de 0,46, y otro de la serie de Thoma, *et al.* (18), de 0,71. Se decidió obtener el valor medio al sumar la diferencia entre los valores de utilidad hallados al valor dado por la paciente y calcular los intervalos con la fórmula de la utilidad media calculada en  $\pm 0,05$ .

una reconstrucción inmediata o una diferida, pero los costos de las complicaciones eran similares (46,47) (cuadro 5), y 4) las utilidades levantadas, detectadas e imputadas, se aplicaron por igual en el brazo de reconstrucción inmediata y en el de la tardía (cuadro 5).

### Valoración de la incertidumbre

Se valoró la incertidumbre para cada uno de los parámetros numéricos incluidos en el modelo (costos, probabilidades y utilidades), teniendo en cuenta los valores medios y los valores superiores e inferiores de esta media encontrados en la bibliografía, lo que permitió proponer rangos de datos para analizar la sensibilidad. Cuando no se encontraron datos, estos se calcularon teniendo en cuenta la propuesta de Skedgel, *et al.*, de aplicar una desviación estándar de 0,05 a los datos hallados (57).

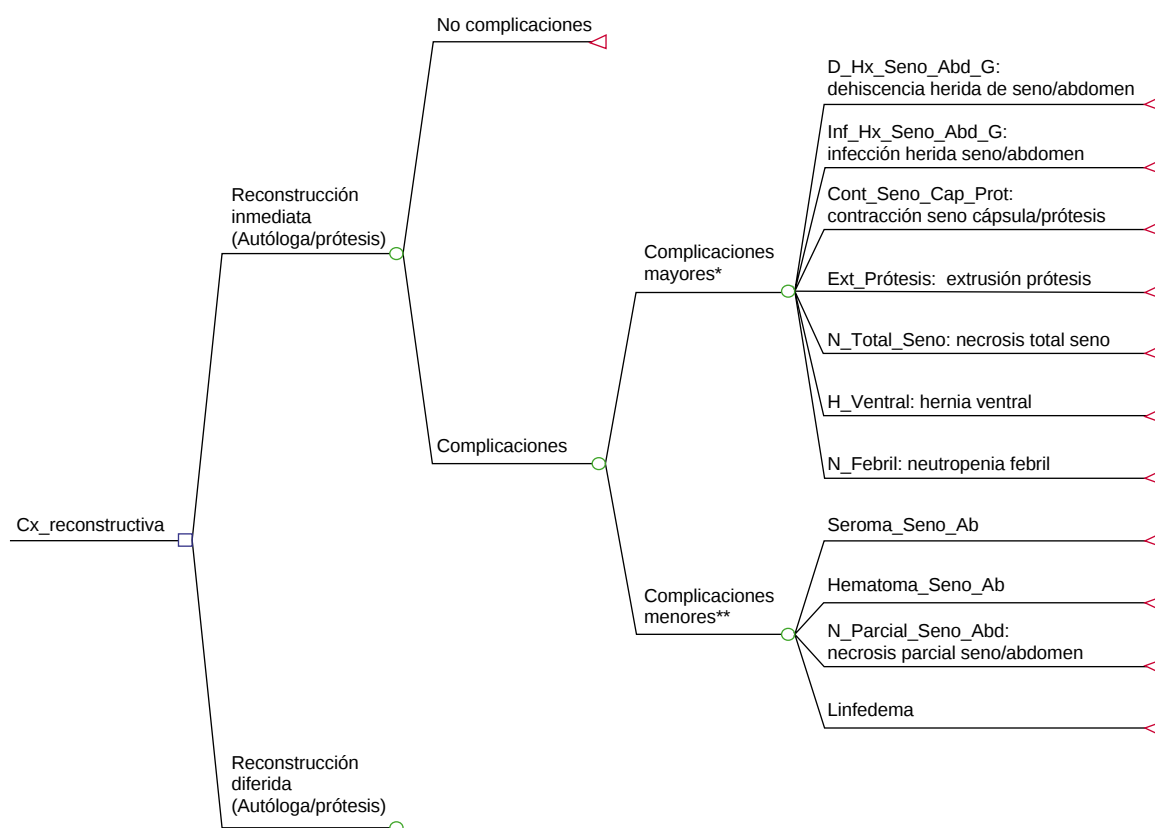
Se hizo un análisis determinístico univariado para evaluar la incertidumbre, es decir, para determinar el cambio de los valores esperados de la razón de costo-efectividad incremental o la de utilidad incremental.

Se hizo un análisis multivariado para determinar si la efectividad y los AVAC eran diferentes en cada una de las opciones quirúrgicas (reconstrucción inmediata o diferida), y para evaluar las diferencias entre los costos.

Para la organización de los datos del modelo y el análisis estadístico, además de la elaboración del modelo de decisión y de las gráficas y figuras de los resultados, se usó el programa TreeAge, versión 2014 (60).

### Resultados

La revisión de la literatura científica permitió detectar inicialmente 292 artículos que, por su título, podían aportar datos para la elaboración del modelo de análisis. De estos, se descartaron 250 por estar repetidos o porque se consideraron irrelevantes al revisar el título o los resúmenes. De los 42 artículos cuyo texto completo se revisó, se excluyeron 14 y quedaron 28, de los cuales se extrajeron los datos. Se revisaron las referencias de los artículos seleccionados en busca de otros de los mismos autores o de temas similares, con



**Figura 2.** Árbol de decisiones

Nota: en este modelo simplificado, la rama de reconstrucción diferida (autóloga/prótesis) tiene un árbol idéntico al que se presenta para la reconstrucción inmediata (autóloga/prótesis).

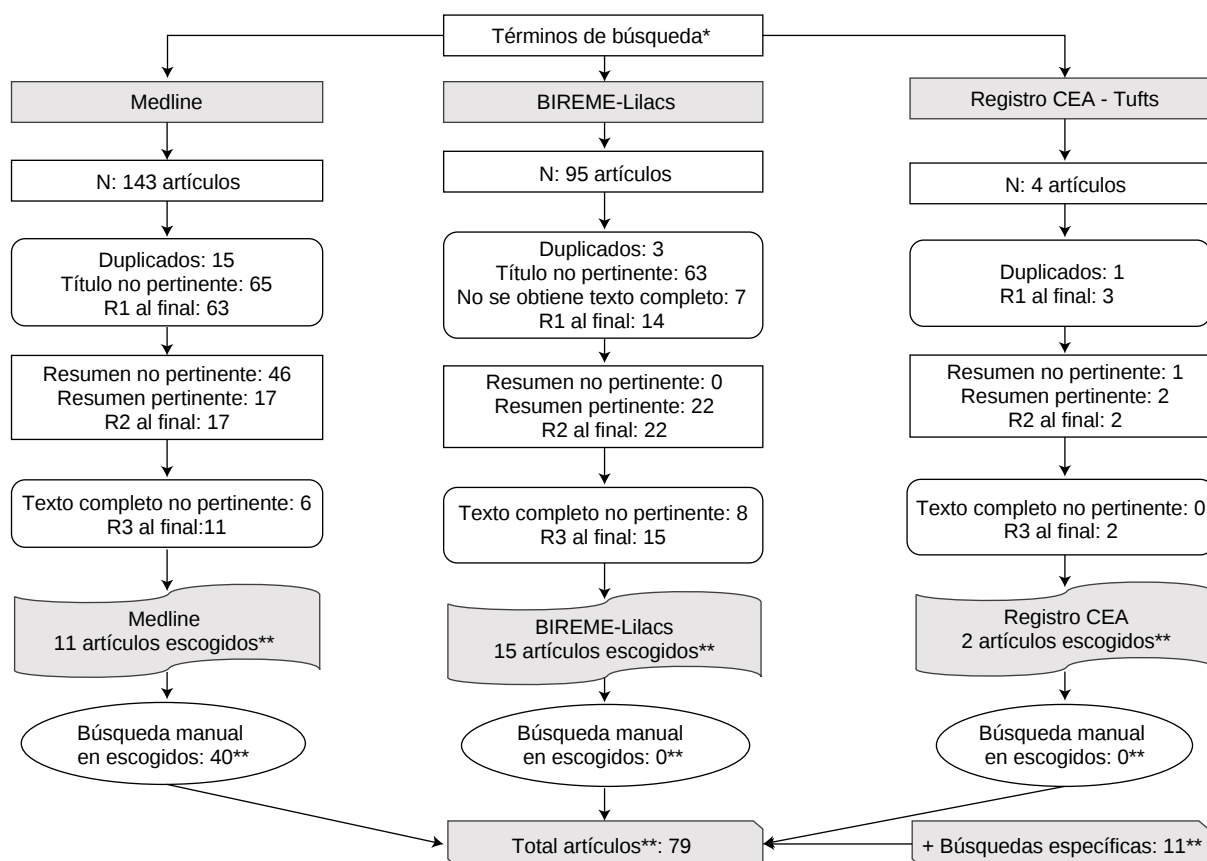
lo cual se localizaron y obtuvieron 40 artículos adicionales. Por último, para detectar datos puntuales sobre las probabilidades o utilidades que no lograron extraerse de la mencionada búsqueda o del trabajo con la cohorte de pacientes, se hicieron búsquedas dirigidas y se adicionaron otros 11 artículos (figura 3).

Los costos obtenidos de las facturas permitieron construir un caso base, tanto para los procedimientos principales como para el manejo de las complicaciones. El costo directo esperado de la reconstrucción mamaria diferida fue de COP\$ 26'459.557 y, el de la reconstrucción inmediata, de COP\$ 26'710.605. En el plazo propuesto de un año, el costo incremental de la reconstrucción diferida fue de COP\$ 251.049, lo que supuso que la reconstrucción diferida resultó menos costosa en el primer año, incluso teniendo en cuenta las potenciales complicaciones.

Comparada con la reconstrucción mamaria diferida, la reconstrucción inmediata generó 0,12 AVAC

adicionales (0,75 Vs. 0,63) (cuadro 7). Aunque la estrategia de la reconstrucción inmediata fue más costosa, el costo por AVAC fue menor con esta (0,12 de utilidad incremental) (cuadro 7). Al comparar el costo-efectividad de las dos estrategias, se encontró que, incluso con las diferencias en costos y en AVAC, ambas se ubicaron en el cuadrante superior derecho del plano de costo-efectividad (figura 4).

En cuanto a la solidez del modelo, en el análisis de sensibilidad univariado (diagrama de tornado), en el que se incluyeron todos los parámetros del modelo para detectar los que variaban más alrededor del valor esperado de la razón de costo-efectividad incremental o de utilidad incremental, se evidenció que aquellos de mayor variabilidad correspondieron a las probabilidades de las pacientes de ser sometidas a uno u otro tipo de reconstrucción mamaria (inmediata o diferida) y a la utilidad de ser sometidas a una reconstrucción diferida (no se muestran los datos).



**Figura 3.** Diagrama de ítems PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis*) usados en la búsqueda de literatura (61). De las bases de datos de Cochrane, DARE y HTA, se obtuvo únicamente una revisión de la literatura; el resto fueron resúmenes que no estaban asociados con artículos disponibles en texto completo (no se presentan los datos).

**Cuadro 7.** Análisis de costo-utilidad

| Estrategia               | Costo (COP)  | Costo incremental (COP) | Efectividad (AVAC) | Efectividad incremental (diferencia en AVAC) | Costo-efectividad (C/AVAC) | Costo-efectividad incremental y costo-utilidad incremental |
|--------------------------|--------------|-------------------------|--------------------|----------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------------------------|
| Reconstrucción diferida  | \$26'459.557 | -                       | 0,63               | -                                            | \$41'393.477               | -                                                          |
| Reconstrucción inmediata | \$26'710.605 | \$251.049               | 0,75               | 0,12                                         | \$35'343.927               | \$2'154.675                                                |

AVAC: años de vida ajustados por calidad

En el análisis de sensibilidad multivariado, se evidenció que la variabilidad de los costos tenía una tendencia similar en ambos tipos de reconstrucción, en tanto que la variabilidad en términos de AVAC fue mínima en las simulaciones con los datos de las alternativas (figura 5).

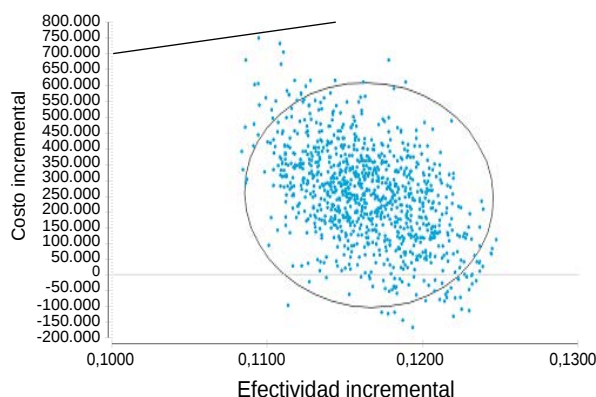
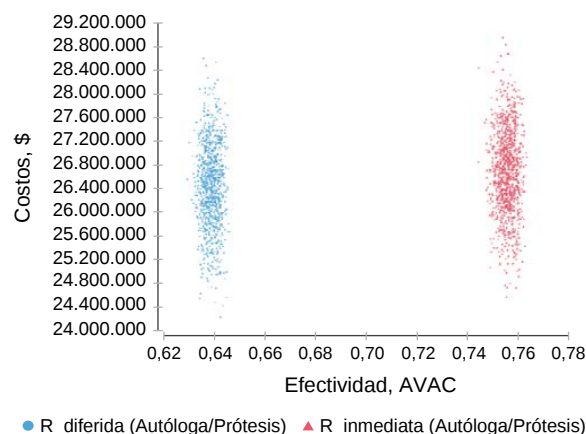
Las curvas de aceptabilidad se cruzaron en el valor de COP\$ 2'154.675, que es el punto en el que la costo-efectividad se estimó como similar para ambos procedimientos, y que estaba por debajo del umbral de tres PIB sugerido por el IETS (figura 6).

Con este modelo analítico de árbol de decisiones, se demostró que tanto la reconstrucción mamaria inmediata como la diferida son costo-efectivas para el sistema de salud colombiano. La estrategia dominante en cuanto a costos fue la reconstrucción diferida, con un costo de COP\$ 26'459.557 y una razón de utilidad incremental final de COP\$ 2'154.675. Teniendo en cuenta los costos de los procedimientos de reconstrucción mamaria en otros sistemas de salud, este resultado es favorable, incluso si se presentan complicaciones.

Por otro lado, la estrategia dominante en términos de AVAC fue la reconstrucción inmediata (0,75 Vs. 0,63). Esto significa que, aunque cueste más que la reconstrucción diferida, las utilidades relacionadas la favorecen y, dado que tanto en costos como en la relación costo-AVAC las dos estrategias se encuentran dentro del umbral de aceptabilidad, la recomendación sería practicar la reconstrucción inmediata.

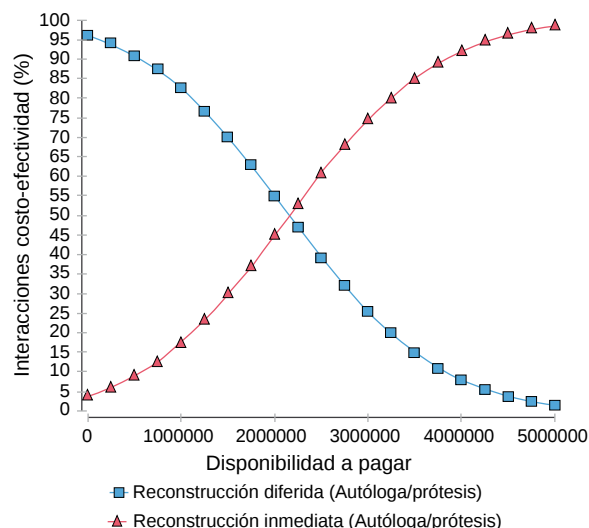
## Discusión

En mujeres con cáncer de mama en estadios tempranos sometidas a mastectomía radical modificada y al posterior tratamiento integral, la reconstrucción mamaria es cada vez más frecuente (62,63). La información disponible apunta a que, con los tratamientos integrales actuales, no hay necesidad de esperar meses, o incluso años, para la reconstrucción mamaria (64,65), y que las razones para posponerla o no practicarla responderían a los deseos de la paciente o a las limitaciones

**Figura 4.** Costo-efectividad incremental de la reconstrucción inmediata Vs. la diferida**Figura 5.** Análisis multivariado de sensibilidad: costos Vs. efectividad en años de vida ajustados por calidad (AVAC)

económicas impuestas por los sistemas de salud. Si bien en el presente modelo la reconstrucción mamaria diferida resultó más económica que la inmediata por una diferencia pequeña, la efectividad incremental fue mayor en el caso de la reconstrucción inmediata en el contexto del sistema de salud colombiano.

Dicho esto, hay varios puntos que deben tenerse en cuenta a la luz del modelo de análisis escogido. En mujeres con cáncer de mama en estadio temprano la reconstrucción mamaria mejora la calidad



**Figura 6.** Curva de aceptabilidad: reconstrucción mamaria inmediata Vs. diferida

de vida y no afecta la supervivencia libre de enfermedad (62-65), aunque no se encontraron estudios de costo-utilidad entre los artículos consultados en los que se compararan las preferencias asociadas con la reconstrucción inmediata o diferida.

La diferencia de costos de la reconstrucción mamaria inmediata y la diferida favorece a esta última, aunque no por mucho, y en ambos casos los costos esperados por procedimiento estuvieron por debajo del umbral de aceptabilidad establecido para los análisis económicos hechos en Colombia, correspondientes a tres PIB, en este caso del 2014, es decir, COP\$ 46'674.345. Es este sentido, y únicamente en relación con los costos, ambos procedimientos pueden ser pagados por el sistema de salud (COP\$ 35'343.927 Vs. COP\$ 41'393.477). Ahora, en cuanto a la relación entre el costo y los AVAC, este modelo favorece la reconstrucción inmediata.

En cuanto a la razón de costo-efectividad incremental o la de utilidad incremental, que en este estudio fue de COP\$ 2'154.675 por los AVAC adicionales ganados, comparada con los umbrales de aceptación en el resto del mundo, que pueden llegar a USD\$ 100.000 o £ 30.000 (cerca de COP\$ 200'033.000 al cambio promedio de 2014), este valor está por debajo y casi al nivel del umbral de aceptabilidad más bajo propuesto por el grupo de Laupacis en 1992, el cual es de USD\$ 20.000 (COP\$ 40'006.600 al cambio promedio de 2014). Con relación a los umbrales propuestos para Colombia por el IETS (de uno y tres PIB per cápita a sugerencia de la OMS) para comparar estas dos

razones, el obtenido con este modelo estuvo por debajo de un PIB, por lo que se puede decir que la intervención de la reconstrucción inmediata es costo-efectiva (40).

Se empleó el plazo previsto de un año usando como referencia el estudio de Ko, *et al.*, en el que se menciona que, incluso hasta el tercer año tras la reconstrucción mamaria posterior a una mastectomía, los resultados clínicos generales son similares en las pacientes sometidas a reconstrucción temprana o tardía con colgajos autólogos o con prótesis (59). Sin embargo, cabe mencionar que las reconstrucciones que incluyen prótesis tienden a tener una mayor tasa de complicaciones después de dos años, las cuales se relacionan, precisamente, con los implantes, por lo cual resultarían más costosas a largo plazo (4,19,66). Teniendo en cuenta este dato, si se modifica el plazo de tiempo, se podría tener un resultado diferente de costo-efectividad, pero en ese caso tal vez se tendrían que considerar complicaciones diferentes a las contempladas en este estudio (17,67,68).

Un punto importante que se debe tener en cuenta en este análisis, es la inclusión de pacientes en el proceso de obtención de utilidades. En general, los expertos en economía de la salud y en la evaluación de nuevas tecnologías recomiendan que las utilidades se obtengan directamente de los pacientes, pues son estos quienes reciben el servicio, la tecnología o el medicamento que se ofrece en el mercado como producto de dichos análisis. Sin embargo, también mencionan que lograrlo es muy complicado (18).

En una situación ideal, estas utilidades se deberían obtener de los pacientes mediante cuestionarios validados y diligenciados por ellos mismos, como el HUI (*Health Utility Index*) (69), el SF-36 (*Short Form-36*) (27,70) o el EQ-5D (*European Quality of Life-5 Dimensions*) (32,71-73), entre otros, y se requeriría hacerlo con pacientes reales y diligenciarlos, ojalá, durante el desarrollo de un estudio prospectivo. Sin embargo, lograr esa situación ideal sería muy laborioso, pues no solo se requeriría tener el estudio prospectivo sino, además, contar con pacientes en cada uno de los estados de salud escogidos, de manera que el cuestionario del caso se puntuara y posteriormente se transformara en una utilidad (72), por no mencionar que esas preferencias podrían cambiar en el tiempo de evolución de la condición en estudio, incluso en un mismo paciente (23,33,74-76).

En este estudio se empleó el EQ-5D-3L y se obtuvieron tres utilidades, correspondientes a los estados de salud “necrosis parcial del colgajo”, “infección de la herida de seno o abdomen” y “contracción del seno o cápsula de la prótesis mamaria”, las cuales se incluyeron en el modelo y resultaron ser diferentes a las reportadas por los médicos expertos en otras series. Esto pone en evidencia que la valoración de los estados de salud no solo se diferencia según el instrumento empleado para su medición (70,71,77,78), sino, según la población que responda los cuestionarios, y más aún, según el estado de la enfermedad, salvedades aplicables en este caso al cáncer pero, seguramente, también a otras condiciones.

En otros países, la intervención quirúrgica cada vez más común es la reconstrucción mamaria mediante la técnica del colgajo microvascular libre (SIEA o DIEP) (17,67,79), lo que supone costos de derechos de sala quirúrgica, de insumos y de honorarios médicos que superan por mucho a los contemplados en esta revisión. Téngase en cuenta que los procedimientos con colgajo libre se facturan de forma diferente por sus necesidades de tiempo, insumos y subespecialidad médica. Esta revisión no incluyó esos procedimientos en el modelo, dada su poca frecuencia en nuestro país; aunque, existiendo su posibilidad, la elaboración de un modelo que los incluya podría convertirse en una necesidad.

Por otro lado, fue evidente que los AVAC fueron sensibles a las complicaciones incluidas en el modelo, pero en ninguno de los casos las opciones dejaron de tener una relación costo-utilidad adecuada, incluso con complicaciones de alto costo como la neutropenia febril, lo que se compensa con su baja probabilidad (51,80-83) y una utilidad variable en los datos recolectados. La percepción de esta situación pone en evidencia la importancia de alimentar los modelos con la mayor cantidad posible de datos de buena calidad provenientes de la literatura, o de los medidos de forma más precisa cuando provienen de cohortes de pacientes.

En Colombia, no se han hecho análisis similares de estas intervenciones, por lo que, hasta donde se sabe, este es el único estudio disponible sobre la costo-utilidad de estos procedimientos con las anotaciones hechas.

Se sugiere a los grupos multidisciplinarios que estudian el tratamiento de pacientes con cáncer de seno, que se esfuercen por obtener datos más sólidos provenientes de cohortes prospectivas, o

de experimentos clínicos en los que, además de los datos sobre el diagnóstico y el tratamiento de las pacientes, se recolecten los correspondientes a los costos y la probabilidad de los eventos de interés y las utilidades relacionadas, de manera que puedan servir a todos los grupos de estudio dedicados a este tema o a temas similares.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Financiación

La propuesta, el desarrollo del estudio y la preparación del manuscrito final, no tuvieron ninguna fuente de financiación externa.

### Referencias

1. **International Agency for Research on Cancer.** Cancer fact sheets. Fecha de consulta: 1 de junio de 2014. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers?cancer=15&type=0&sex=2>
2. **Instituto Nacional de Cancerología.** Incidencia estimada y mortalidad por cáncer en Colombia 2002-2006. p. 39. Fecha de consulta: 1 de junio de 2014. Disponible en: [http://www.cancer.gov.co/files/libros/archivos/a9412b1cdfddfb228e09f7d31e9e124\\_Incidencia%20Estimada%20Y%20Mortalidad%202002-2006.pdf](http://www.cancer.gov.co/files/libros/archivos/a9412b1cdfddfb228e09f7d31e9e124_Incidencia%20Estimada%20Y%20Mortalidad%202002-2006.pdf)
3. **Colwell AS, Tessler O, Lin AM, Liao E, Winograd J, Cetrulo CL, et al.** Breast reconstruction following nipple-sparing mastectomy. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133:496-506. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000438056.67375.75>
4. **Grover R, Padula WV, van Vliet M, Ridgway EB.** Comparing five alternative methods of breast reconstruction surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132:709e-23. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3182a48b10>
5. **Giachero-Castaño V, Jacobo-Bastreri O, Grattarola-Rizzo G, Carriquiry-Kayel C.** Reconstrucción mamaria con colgajo músculo-cutáneo transversal de recto abdominal [TRAM] y simetrización simultánea. *Cir Plast Ibero-latinoam.* 2010;36:135-44.
6. **Neyt MJ, Blondeel PN, Morrison CM, Albrecht JA.** Comparing the cost of delayed and immediate autologous breast reconstruction in Belgium. *Br J Plast Surg.* 2005; 58:493-7. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2004.12.002>
7. **Thomas RJ, Williams M, Marshall C, Glen J, Callam M.** The total hospital and community UK costs of managing patients with relapsed breast cancer. *Br J Cancer.* 2009; 100:598-600. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604911>
8. **Knaul FM, Arreola-Ornelas H, Velázquez E, Dorantes J, Méndez Ó, Ávila-Burgos L.** El costo de la atención médica del cáncer mamario: el caso del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Salud Pública Mex.* 2009;51(Supl.2):s286-95.
9. **Palit TK, Miltenburg DM, Brunicki FC.** Cost analysis of breast conservation surgery compared with modified radical mastectomy with and without reconstruction. *Am J Surg.* 2000;179:441-5. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(00\)00383-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(00)00383-4)

10. **Alderman AK, Storey AF, Nair NS, Chung KC.** Financial impact of breast reconstruction in academic practice. *Plast Reconstr Surg.* 2010;123:1408-13. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181a0722d>
11. **Campbell JD, Ramsey SD.** The costs of treating breast cancer in the US. *Pharmacoeconomics.* 2009;27:199-209. <https://doi.org/10.2165/00019053-200927030-00003>
12. **Kaliks RA, Pontes LD, Bogнар CL, Santos KC, Bromberg SE, do Amaral PG, et al.** Treatment of breast cancer patients from a public healthcare system in a private center: Costs of care for a pilot public-private partnership in oncology. *Einstein (Sao Paulo).* 2013;11:216-23. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082013000200014>
13. **Atherton DD, Hills AJ, Moradi P, Muirhead N, Wood SH.** The economic viability of breast reconstruction in the UK: Comparison of a single surgeon's experience of implant; LD; TRAM and DIEP based reconstructions in 274 patients. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64:710-5. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2010.11.001>
14. **Albornoz CR, Cordeiro PG, Mehrara BJ, Pusic AL, McCarthy CM, Disa JJ, et al.** Economic implications of recent trends in U.S. immediate autologous breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133:463-70. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000039>
15. **Israeli R, Funk S, Reaven NL.** Comparative analysis of 18-month outcomes and costs of breast reconstruction flap procedures. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133:471-9. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000064>
16. **Paget JT, Young KC, Wilson SM.** Accurately costing unilateral delayed DIEP flap breast reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2013;66:926-30. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2013.03.032>
17. **Thoma A, Veltri K, Khuthaila D, Rockwell G, Duku E.** Comparison of the deep inferior epigastric perforator flap and free transverse rectus abdominis myocutaneous flap in postmastectomy reconstruction: A cost-effectiveness analysis. *Plast Reconstr Surg.* 2004;113:1650-61. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000117196.61020.FD>
18. **Thoma A, Khuthaila D, Rockwell G, Veltri K.** Cost-utility analysis comparing free and pedicled TRAM flap for breast reconstruction. *Microsurgery.* 2003;23:287-95. <https://doi.org/10.1002/micr.10138>
19. **Spear SL, Mardini S, Ganz JC.** Resource cost comparison of implant-based breast reconstruction versus TRAM flap breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2003;112:101-5. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000066007.06371.47>
20. **Rosenqvist S, Sandelin K, Wickman M.** Patients' psychological and cosmetic experience after immediate breast reconstruction. *Eur J Surg Oncol.* 1996;22:262-6.
21. **Rowland JH, Katherine A, Meyerowitz BE, Belin TR, Wyatt GE, Ganz PA.** Role of breast reconstructive surgery in physical and emotional outcomes among breast cancer survivors. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:1422-9. Erratum in: *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:68.
22. **Mullan MH, Wilkins EG, Goldfarb S, Lowery JC, Smith DM, Wickman M, et al.** Prospective analysis of psychosocial outcomes after breast reconstruction: Cross-cultural comparisons of 1-year postoperative results. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2007;60:503-8. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2005.10.033>
23. **Atisha D, Alderman AK, Lowery JC, Kuhn LE, Davis J, Wilkins EG.** Prospective analysis of long-term psychosocial outcomes in breast reconstruction: Two-year postoperative results from the Michigan Breast Reconstruction Outcomes Study. *Ann Surg.* 2008;247:1019-28. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181728a5c>
24. **Schain WS, Wellisch DK, Pasnau RO, Landsverk J.** The sooner the better: A study of psychosocial factors in women undergoing immediate versus delayed breast reconstruction. *Am J Psychiatry.* 1985;142:40-6. <https://doi.org/10.1176/ajp.142.9.A40>
25. **Guyomard V, Leinster S, Wilkinson M.** Systematic review of studies of patients' satisfaction with breast reconstruction after mastectomy. *Breast.* 2007;16:547-67. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2007.04.004>
26. **Soares PB, Carneiro JA, Rocha LA, Gonçalves RC, Martelli DR, Silveira MF, et al.** The quality of life of disease-free Brazilian breast cancer survivors. *Rev Esc Enferm USP.* 2013;47:69-75. <https://doi.org/10.1590/S0080-62342013000100009>
27. **Elder EE, Brandberg Y, Björklund T, Rylander R, Lagergren J, Jurell G, et al.** Quality of life and patient satisfaction in breast cancer patients after immediate breast reconstruction: A prospective study. *Breast.* 2005;14:201-8. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2004.10.008>
28. **Rute de Oliveira R, Morais SS, Sarian LO.** Efeitos da reconstrução mamária imediata sobre a qualidade de vida de mulheres mastectomizadas. *Rev Bras Ginecol Obs.* 2010;32:602-8. <https://doi.org/10.1590/S0100-72032010001200007>
29. **Al-Ghazal SK, Sully L, Fallowfield L, Blamey RW.** The psychological impact of immediate rather than delayed breast reconstruction. *Eur J Surg Oncol.* 2000;26:17-9. <https://doi.org/10.1053/ejso.1999.0733>
30. **Al-Ghazal SK, Fallowfield L, Blamey RW.** Comparison of psychological aspects and patient satisfaction following breast conserving surgery, simple mastectomy and breast reconstruction. *Eur J Cancer.* 2000;36:1938-43. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(00\)00197-0](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(00)00197-0)
31. **Cocquyt VF, Blondeel PN, Depypere HT, van De Sijpe KA, Daems KK, Monstrey SJ, et al.** Better cosmetic results and comparable quality of life after skin-sparing mastectomy and immediate autologous breast reconstruction compared to breast conservative treatment. *Br J Plast Surg.* 2003;56:462-70. [https://doi.org/10.1016/S0007-1226\(03\)00198-X](https://doi.org/10.1016/S0007-1226(03)00198-X)
32. **Sullivan PW, Green V.** Preference-based EQ-5D index scores for chronic conditions in the United States. *Med Decis Mak.* 2006;26:410-20. <https://doi.org/10.1177/0272989X06290495>
33. **Alderman AK, Kuhn LE, Lowery JC, Wilkins EG.** Does patient satisfaction with breast reconstruction change over time? Two-year results of the Michigan Breast Reconstruction Outcomes Study. *J Am Coll Surg.* 2007;204:7-12. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2006.09.022>
34. **Contant CM, van Wersch AM, Wiggers T, Wai RT, van Geel AN.** Motivations, satisfaction, and information of immediate breast reconstruction following mastectomy. *Patient Educ Couns.* 2000;40:201-8. [https://doi.org/10.1016/S0738-3991\(99\)00078-6](https://doi.org/10.1016/S0738-3991(99)00078-6)

35. **Veiga DF, Sabino Neto M, Ferreira LM, García EB, Veiga Filho J, Novo NF, et al.** Quality of life outcomes after pedicled TRAM flap delayed breast reconstruction. *Br J Plast Surg.* 2004;57:252-7. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2003.12.029>
36. **Lee C, Sunu C, Pignone M.** Patient-reported outcomes of breast reconstruction after mastectomy: A systematic review. *J Am Coll Surg.* 2009;209:123-33. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2009.02.061>
37. **Pusic AL, Klassen AF, Scott AM, Klok JA, Cordeiro PG, Cano SJ.** Development of a new patient-reported outcome measure for breast surgery: The BREAST-Q. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:345-53. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181aee807>
38. **Drummond MF, Sculpher MJ, Torrance GW, O'Brien BJ.** Methods for the economic evaluation of health care programmes. Third edition. Oxford: Oxford University Press; 2005.
39. **Preminger BA, Pusic AL, McCarthy CM, Verma N, Worku A, Cordeiro PG.** How should quality-of-life data be incorporated into a cost analysis of breast reconstruction? A consideration of implant versus free TRAM flap procedures. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121:1075-82. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000304246.66477.cd>
40. **Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud.** Manual para la elaboración de evaluaciones económicas en salud. Bogotá D.C.: IETS; 2014.
41. **Cochrane Training.** Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones. Version 5. Londres: The Cochrane Collaboration; 2011.
42. **Tufts Medical Center, Institute for Clinical Research and Health Policy.** Cost-effectiveness analysis registry/Searching de CEA registry/Search the CEA Registry / Basic search / Utility Weights / Full Search Contents: Breast reconstruction. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2013. Disponible en: <http://healtheconomics.tuftsmedicalcenter.org/cear4/SearchingtheCEARegistry/SearchtheCEARegistry.aspx>
43. **Centre for Evidence-Based Medicine.** Resources: Levels of evidence. Fecha de consulta: 2 de abril de 2014. Disponible en: <https://www.cebm.net/2009/06/oxford-centre-evidence-based-medicine-levels-evidence-march-2009/>
44. **GRADE Working Group.** What is "quality of evidence" and why is it important to clinicians? *BMJ.* 2008;336:995. <https://doi.org/10.1136/bmj.39490.551019.BE>
45. **Husereau D, Drummond M, Petrou S, Carswell C, Moher D, Greenberg D, et al.** Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards (CHEERS) statement. *Eur J Heal Econ.* 2013;14:367-72.
46. **Lu SM, Nelson JA, Fischer JP, Fosnot J, Goldstein J, Selber JC, et al.** The impact of complications on function, health, and satisfaction following abdominally based autologous breast reconstruction: A prospective evaluation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014;67:682-92. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2014.01.017>
47. **Carnevale A, Scaringi C, Scalabrino G, Campanella B, Osti MF, De Sanctis V, et al.** Radiation therapy after breast reconstruction: Outcomes, complications, and patient satisfaction. *Radiol Med.* 2013;118:1240-50. <https://doi.org/10.1007/s11547-013-0947-6>
48. **Sullivan SR, Fletcher DRD, Isom CD, Isik FF.** True incidence of all complications following immediate and delayed breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2008;122:19-28. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181774267>
49. **Jiménez-Puente A, Prieto-Lara E, Rueda-Domínguez A, Maañón-Di Leo C, Benítez-Parejo N, Rivas-Ruiz F, et al.** Complications in immediate breast reconstruction after mastectomy. *Int J Technol Assess Health Care.* 2011;27:298-304. <https://doi.org/10.1017/S026646231100047X>
50. **Tribondeau P, Soffray F.** Reconstruction mammaire par lambeau musculocutané unipédiculé de muscle grand droit de l'abdomen (115 cas consécutifs). *Ann Chir Plast Esthet.* 2008;53:309-17. <https://doi.org/10.1016/j.anplas.2007.05.009>
51. **Weycker D, Edelsberg J, Kartashov A, Barron R, Lyman G.** Risk and healthcare costs of chemotherapy-induced neutropenic complications in women with metastatic breast cancer. *Chemotherapy.* 2012;58:8-18. <https://doi.org/10.1159/000335604>
52. **Chie WC, Huang CS, Chen JH, Chang K.** Utility assessment for different clinical phases of breast cancer in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2000;99:677-83.
53. **Chang DW, Kim S.** Breast reconstruction and lymphedema. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125:19-23. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181c49477>
54. **Instituto de Seguros Sociales.** Acuerdo No. 256 de 2001. Fecha de consulta: 2 de junio de 2014. Disponible en: <http://www.hrd.gov.co/documentos/facturacion/MANUAL%20DE%20FACTURACION%202013/TARIFAS%20ISS%20-01%20AC256.pdf>.
55. **Sistema Integral de Información de la Protección Social.** Regulación de precios. Termómetro de precios de medicamentos. Publicación precios reportados 201401a201403 (fecha de creación 2014-06-27). Fecha de consulta: 3 de septiembre de 2014. Disponible en: [http://web.sispro.gov.co/WebPublico/Consultas/ConsultarCNPMcadenaComercializacionCircu2yPA\\_028\\_2\\_2.aspx](http://web.sispro.gov.co/WebPublico/Consultas/ConsultarCNPMcadenaComercializacionCircu2yPA_028_2_2.aspx).
56. **Thompson SG, Nixon RM.** How sensitive are cost-effectiveness analyses to choice of parametric distributions? *Med Decis Making.* 2015;25:416-23. <https://doi.org/10.1177/0272989X05276862>
57. **Skedgel C, Rayson D, Younis T.** Is adjuvant trastuzumab a cost-effective therapy for HER-2/neu-positive T1bN0 breast cancer? *Ann Oncol.* 2013;24:1834-40. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt069>
58. **Cheville AL, Almoza M, Courmier JN, Basford JR.** A prospective cohort study defining utilities using time trade-offs and the Euroqol-5D to assess the impact of cancer-related lymphedema. *Cancer.* 2010;116:3722-31. <https://doi.org/10.1002/cncr.25068>
59. **Ko CY, Maggard M, Livingston EH.** Evaluating health utility in patients with melanoma, breast cancer, colon cancer, and lung cancer: A nationwide, population-based assessment. *J Surg Res.* 2003;114:1-5. [https://doi.org/10.1016/S0022-4804\(03\)00167-7](https://doi.org/10.1016/S0022-4804(03)00167-7)
60. **TreeAge Software, Inc.** Software I. Williamstown: TreeAge Software, Inc.; 2014.
61. **Urrutia G, Bonfill X.** Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Med Clin (Barc).* 2010;135:507-11. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2010.01.015>

62. **Albornoz CR, Cordeiro PG, Pusic AL, McCarthy CM, Mehrara BJ, Disa JJ, et al.** Diminishing relative contraindications for immediate breast reconstruction: A multicenter study. *J Am Coll Surg.* 2014;219:788-95. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2014.05.012>
63. **Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al.** Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347:1227-32. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020989>
64. **Monrigal E, Dauplat J, Gimbergues P, Le Bouedec G, Peyronie M, Achard JL, et al.** Mastectomy with immediate breast reconstruction after neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy. A new option for patients with operable invasive breast cancer. Results of a 20 years single institution study. *Eur J Surg Oncol.* 2011;37:864-70. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2011.07.009>
65. **Nedumpara T, Jonker L, Williams MR.** Impact of immediate breast reconstruction on breast cancer recurrence and survival. *Breast.* 2011;20:437-43. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2011.04.006>
66. **Tsoi B, Ziolkowski NI, Thoma A, Campbell K, O'Reilly D, Goeree R.** Systematic review on the patient-reported outcomes of tissue-expander/ implant vs autologous abdominal tissue breast reconstruction in postmastectomy breast cancer patients. *J Am Coll Surg.* 2014;218:1038-48. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2014.02.011>
67. **Thoma A, Jansen L, Sprague S, Stat ED.** A comparison of the superficial inferior epigastric artery flap and deep inferior epigastric perforator flap in postmastectomy reconstruction: A cost-effectiveness analysis incremental effectiveness. *Can J Plast Surg.* 2008;16:77-84.
68. **Munhoz AM, Aldrighi CM, Montag E, Arruda EG, Aldrighi JM, Gemperli R, et al.** Clinical outcomes following nipple-areola-sparing mastectomy with immediate implant-based breast reconstruction: A 12-year experience with an analysis of patient and breast-related factors for complications. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;140: 545-55. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2634-7>
69. **Ruiz M, Rejas J, Soto J, Pardo A, Rebollo I.** Adaptación y validación del Health Utilities Index Mark 3 al castellano y baremos de corrección en la población española. *Med Clin (Barc).* 2003;120:89-96.
70. **Horsman J, Furlong W, Feeny D, Torrance G.** The Health Utilities Index (HUI): concepts, measurement properties and applications. *Health Qual Life Outcomes.* 2003;1:54. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-1-54>
71. **Zarate V, Kind P, Valenzuela P, Vignau A, Olivares-Tirado P, Muñoz A.** Social valuation of EQ-5D health states: The Chilean case. *Value Health.* 2011;14:1135-41. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2011.09.002>
72. **Herdman M, Badia X, Berra S.** El EuroQol-5D: una alternativa sencilla para la medición de la calidad de vida relacionada con la salud en atención primaria. *Atención Primaria.* 2001;28:425-9.
73. **Pickard AS, De Leon MC, Kohlmann T, Cella D, Rosenbloom S.** Psychometric comparison of the standard EQ-5D to a 5 level version in cancer patients. *Med Care.* 2007;45: 259-63. <https://doi.org/10.1097/01.mlr.0000254515.63841.81>
74. **Parker P, Youssef A, Walker S, Basen-Engquist K, Cohen L, Gritz ER, et al.** Short-term and long-term psychosocial adjustment and quality of life in women undergoing different surgical procedures for breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2007;14:3078-89.
75. **Herdman M, Gudex C, Lloyd A, Janssen M, Kind P, Parkin D, et al.** Development and preliminary testing of the new five-level version of EQ-5D (EQ-5D-5L). *Qual Life Res.* 2011;20:1727-36. <https://doi.org/10.1007/s11136-011-9903-x>
76. **Dolan P, Gudex C, Kind P, Williams A.** Valuing health states: A comparison of methods. *J Health Econ.* 1996;15: 209-31. [https://doi.org/10.1016/0167-6296\(95\)00038-0](https://doi.org/10.1016/0167-6296(95)00038-0)
77. **Brady MJ, Cella DF, Mo F, Bonomi AE, Tulskey DS, Lloyd SR, et al.** Reliability and validity of the functional assessment of cancer therapy-breast quality-of-life instrument. *J Clin Oncol.* 1997;15:974-86.
78. **Pradas-Velasco R, Villar FA, Puy-Martínez-Zárate M.** Utilización del cuestionario European Quality of Life-5 Dimensions (EQ-5D) para valorar la variación de la calidad de vida relacionada con la salud debida a la gripe. *Gac Sanit.* 2009;23:104-8.
79. **Cheng MH, Lin JY, Ulusal BG, Wei FC.** Comparisons of resource costs and success rates between immediate and delayed breast reconstruction using DIEP or SIEA flaps under a well-controlled clinical trial. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117:2139-42. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000218286.64522.15>
80. **von Minckwitz G, Schwenkglenks M, Skacel T, Lyman GH, Pousa AL, Bacon P, et al.** Febrile neutropenia and related complications in breast cancer patients receiving pegfilgrastim primary prophylaxis versus current practice neutropaenia management: Results from an integrated analysis. *Eur J Cancer.* 2009;45:608-17. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.11.021>
81. **Bennett CL, Calhoun EA.** Evaluating the total costs of chemotherapy-induced febrile neutropenia: Results from a pilot study with community oncology cancer patients. *Oncologist.* 2007;12:478-83. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.12-4-478>
82. **Chan A, Chen C, Chiang J, Tan SH, Ng R.** Incidence of febrile neutropenia among early-stage breast cancer patients receiving anthracycline-based chemotherapy. *Support Care Cancer.* 2012;20:1525-32. <https://doi.org/10.1007/s00520-011-1241-6>
83. **Gandhi SK, Arguelles L, Boyer JG.** Economic impact of neutropenia and febrile neutropenia in breast cancer: Estimates from two national databases. *Pharmacotherapy.* 2001;21:684-90. <https://doi.org/10.1592/phco.21.7.684.34568>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Citometría de flujo en reticulocitos de sangre periférica como indicador de inestabilidad cromosómica en pacientes con gliomas de alto grado

Lina Marcela Barrera<sup>1</sup>, León Darío Ortiz<sup>1,2</sup>, Hugo Grisales<sup>3</sup>, Mauricio Rojas<sup>4</sup>, Mauricio Camargo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Genética, Regeneración y Cáncer (GRC), Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Instituto de Cancerología-Clínica Las Américas, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación Demografía y Salud, Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Unidad de Citometría de Flujo y Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** La cuantificación de la inestabilidad cromosómica es un parámetro importante para evaluar la genotoxicidad y la radiosensibilidad. Las técnicas convencionales requieren cultivos celulares o laboriosos análisis microscópicos de cromosomas o núcleos. La citometría de flujo en reticulocitos ha surgido como una alternativa para los estudios *in vivo*, ya que reduce los tiempos de análisis e incrementa hasta en 20 veces el número de células analizables.

**Objetivos.** Estandarizar los parámetros de citometría de flujo requeridos para seleccionar y cuantificar reticulocitos micronucleados (RET-MN) a partir de muestras de sangre periférica, y cuantificar la frecuencia de esta subpoblación anormal como medida de inestabilidad citogenética en sendas poblaciones de voluntarios sanos (n=25) y pacientes (n=25) recién diagnosticados con gliomas de alto grado antes de iniciar el tratamiento.

**Materiales y métodos.** Las células sanguíneas se marcaron con anti-CD71-PE para reticulocitos, anti-CD61-FITC para la exclusión de plaquetas y yoduro de propidio para detectar el ADN en reticulocitos. La fracción celular MN-RET<sup>CD71+</sup> se seleccionó y se cuantificó con un citómetro de flujo automático.

**Resultados.** Se describió detalladamente la estandarización de los parámetros citométricos, con énfasis en la selección y la cuantificación de la subpoblación celular MN-RET<sup>CD71+</sup>. Se establecieron los niveles basales de MN-RET<sup>CD71+</sup> en la población de control y en los pacientes se encontró un incremento de 5,2 veces antes de iniciar el tratamiento (p<0,05).

**Conclusión.** Los resultados evidenciaron la utilidad de la citometría de flujo acoplada a la marcación de las células RET<sup>CD71+</sup> como método eficiente para cuantificar la inestabilidad cromosómica *in vivo*. Se sugieren posibles razones del incremento de micronúcleos en células RET<sup>CD71+</sup> de pacientes con gliomas.

**Palabras clave:** citometría de flujo; reticulocitos; inestabilidad cromosómica; glioma; pruebas de micronúcleos.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3882>

### Flow cytometry in peripheral blood reticulocytes as a marker of chromosome instability in high-grade glioma patients

**Introduction:** The quantification of chromosomal instability is an important parameter to assess genotoxicity and radiosensitivity. Most conventional techniques require cell cultures or laborious microscopic analyses of chromosomes or nuclei. However, a flow cytometry that selects the reticulocytes has been developed as an alternative for *in vivo* studies, which expedites the analytical procedures and increases up to 20 times the number of target cells to be analyzed.

**Objectives:** To standardize the flow cytometry parameters for selecting and quantifying the micronucleated reticulocytes<sup>CD71+</sup> (MN-RET) from freshly drawn peripheral blood and to quantify the

#### Contribución de los autores:

Lina Marcela Barrera: toma de muestras, estandarización de la técnica, ensayos experimentales, análisis estadísticos y análisis de resultados

León Darío Ortiz: diseño de la logística para el estudio clínico de los pacientes

Hugo Grisales: análisis estadísticos

Mauricio Rojas: análisis de los datos y resultados de la citometría de flujo

Mauricio Camargo: concepción y diseño del estudio, supervisión del desarrollo del trabajo y análisis de los datos

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

frequency of this abnormal cell subpopulation as a measure of cytogenetic instability in populations of healthy volunteers ( $n=25$ ), and patients ( $n=25$ ), recently diagnosed with high-grade gliomas before the onset of treatment.

**Materials and methods:** Blood cells were methanol-fixed and labeled with anti-CD-71-PE for reticulocytes, antiCD-61-FITC for platelet exclusion, and propidium iodide for DNA detection in reticulocytes. The MN-RET<sup>CD71+</sup> cell fraction was selected and quantified with an automatic flow cytometer.

**Results:** The standardization of cytometry parameters was described in detail, emphasizing the selection and quantification of the MN-RET<sup>CD71+</sup> cellular fraction. The micronuclei basal level was established in healthy controls. In patients, a 5.2-fold increase before the onset of treatment was observed ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** The data showed the usefulness of flow cytometry coupled with anti-CD-71-PE and anti-CD-61-FITC labeling in circulating reticulocytes as an efficient and high resolution method to quantify chromosome instability *in vivo*. Finally, possible reasons for the higher average of micronuclei in RET<sup>CD71+</sup> cells from untreated high-grade glioma patients were discussed.

**Key words:** Flow cytometry; reticulocytes; chromosome instability; glioma; micronucleus tests.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3882>

La cuantificación de la inestabilidad cromosómica es un parámetro importante para estimar la radiosensibilidad y evaluar la genotoxicidad relacionada con la exposición terapéutica, ocupacional, ambiental o accidental. Los métodos convencionales emplean la visualización microscópica de daños cromosómicos o nucleares, sin precultivo celular o con él, como es el caso del ensayo clásico de alteraciones cromosómicas en linfocitos en división, o el de micronúcleos en linfocitos binucleados (1-5). Su amplio uso y su validez son incuestionables, pero demandan laboriosos análisis visuales de, por lo menos, un centenar de mitosis o dos mil células interfásicas por muestra, lo cual dificulta la rápida obtención de resultados. De ahí que la automatización o el empleo de la citometría de flujo constituyan alternativas para acortar los tiempos de análisis (3,6,7), y aumentar el poder estadístico, incrementando hasta en 20 veces el número de células analizables por muestra, como se evidencia en el presente reporte.

Los eritroblastos son una población celular mitóticamente activa, precursora de eritropoyesis, con nicho en la médula ósea, cuyos núcleos se expulsan pocas horas después de la última mitosis. De allí se generan células enucleadas denominadas eritrocitos inmaduros o reticulocitos. Estas células recién producidas en la médula ósea fueron el blanco de observación para la prueba original *in vivo* de micronúcleos en extendidos de médula

ósea de ratones estandarizado por Schmid (8,9). En humanos, los reticulocitos constituyen una fracción minoritaria de los eritrocitos circulantes, lo cual dificulta su empleo en esta prueba mediante microscopía. La citometría de flujo, en cambio, facilita su detección mediante la marcación diferencial de los reticulocitos con el anticuerpo anti-CD-71, el cual detecta la transferrina, que es la proteína encargada de transportar el hierro y es específica para esta población. El tamaño de los reticulocitos es similar al de las plaquetas, las cuales se pueden diferenciar, filtrar y descartar, empleando anti-CD-61 y citometría de flujo (10).

Por el otro lado, la evaluación de la genotoxicidad a nivel cromosómico en linfocitos de sangre periférica, se ha hecho tradicionalmente en cultivos celulares con presencia de un mitógeno, en tanto que el ensayo de micronúcleos basado en los reticulocitos, no tiene este requisito; además, una vez estandarizada la metodología, las células obtenidas no necesitan el precultivo y pueden procesarse de inmediato siguiendo procedimientos mínimos (3). Este es un método práctico y expedito para evaluar *in vivo* la inestabilidad cromosómica constitutiva o del daño genómico inducido, en personas expuestas a genotóxicos potenciales por razones terapéuticas, ocupacionales, ambientales o accidentales. Eventualmente, también se podría utilizar para evaluar la radiosensibilidad en pacientes que deban someterse a radioterapia.

El presente estudio se diseñó con el fin de estandarizar y adaptar la metodología propuesta por Dertinger, *et al.* (11), para cuantificar micronúcleos en células RET<sup>CD71+</sup> mediante citometría de flujo de tres canales, establecer el número basal de reticulocitos micronucleados en una población de voluntarios sanos, y cuantificar la frecuencia *in*

Correspondencia:

Mauricio Camargo, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Carrera 53 N° 61-30, torre 2, laboratorio 432, Medellín, Colombia

Teléfono: (574) 219 6528

[mauricio.camargo@udea.edu.co](mailto:mauricio.camargo@udea.edu.co)

Recibido: 25/04/17; aceptado: 15/03/18

vivo de micronúcleos en sangre periférica, en una población de pacientes con gliomas de alto grado, como forma de medir la inestabilidad citogenética antes del tratamiento.

## **Materiales y métodos**

### **Reactivos**

Se emplearon metanol absoluto (Merck, USA, I5680090), heparina sódica (Grand Pharma), solución de sales de Hank (HBSS-H1387), RNAsa (R5000) y el yoduro de propidio (P4170) de Sigma (St Louis, MO, USA), así como los anticuerpos humanos anti-CD71 (clon T56/14) y anti-CD61 (clon F11) de Invitrogen™ (Camarillo, CA, USA).

### **Población de estudio**

Se incluyeron 50 voluntarios en el estudio: 25 personas sanas que fueron reclutadas en la Universidad de Antioquia y 25 pacientes recién diagnosticados con glioma de alto grado en el Instituto de Cancerología de la Clínica Las Américas en un lapso de 12 meses. A cada individuo se le tomó una muestra de 4 ml de sangre venosa en un tubo Vacutainer™ con heparina.

Los consentimientos informados fueron firmados por los voluntarios sanos antes de la toma de la muestra y por los pacientes después del diagnóstico y previa explicación por parte del médico. Los pacientes fueron pareados por edad ( $\pm 5$  años) y sexo.

### **Fijación de la muestra**

Se agregó 1 ml de sangre tratada con heparina a un tubo cónico con 5 ml de diluyente (500 unidades de heparina/ml: *Hanks's Balanced Salt Solution*, HBSS); luego se fijó la muestra adicionando 450  $\mu$ l de la dilución anterior en 5 ml de metanol frío ( $-80^{\circ}\text{C}$ ), y se agitó en un agitador de vórtice durante 20 segundos, para luego almacenarla a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas.

### **Marcación con yoduro de propidio y anticuerpos conjugados**

Después de la fijación, 1 ml de la muestra se agregó a un tubo cónico con 13 ml de diluyente HBSS, se centrifugó durante cinco minutos a 600g y se descartó el sobrenadante por decantación; luego se agitó brevemente para resuspender el botón celular y se adicionaron 20  $\mu$ l de esta suspensión de células a un tubo de citometría (polipropileno, 12 x 75 mm) que contenía 75  $\mu$ l de solución ARNsa (980  $\mu$ l de HBSS y 20  $\mu$ l de ARNsa 1mg/ml).

Las muestras se analizaron usando tres marcadores: antiCD-71-PE, para identificar reticulocitos, anti-CD-61-FITC, para la exclusión citométrica de las plaquetas, y yoduro de propidio, para cuantificar la cantidad relativa de ADN. Se agregaron 5  $\mu$ l de cada anticuerpo siguiendo las recomendaciones del proveedor.

Las muestras se incubaron consecutivamente durante 30 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  y, luego durante 60 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se lavaron con 3 ml de HBSS y se centrifugaron durante cinco minutos a 600g; luego, se adicionó 1 ml de solución de yoduro de propidio (PI) (1,25  $\mu$ g/ ml de PI en HBSS). Por último, se almacenaron durante 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  y se leyeron en un citómetro de flujo FACS Canto II™ (BD-Immunocytometry System, San José, CA).

Las células fueron excitadas con un láser de 488 nm y se analizó la emisión de los fluorocromos a 530/30 nm (FITC), 585/42 (PE) nm y 670/LP nm (yoduro de propidio). La adquisición de eventos para cada muestra procedió hasta que el número de células RET<sup>CD71+</sup> fue mayor o igual a 80.000 o hasta que se agotó el volumen de la muestra. El porcentaje de células RET<sup>CD71+PI+</sup> se determinó en cada muestra de sangre.

### **Cálculo de la compensación**

Para calcular la matriz de compensación, se ajustaron los voltajes de tamaño, granularidad y fluorescencia de las muestras con una muestra de células sin tinción. Sobre dichos voltajes, se calculó la matriz de compensación utilizando las micropartículas *Compbeads* revestidas con anticuerpos de captura anti-Mouse Ig<sub>k</sub> mezcladas con cantidades equivalentes de perlas de control negativo.

El control de compensación para el yoduro de propidio se construyó utilizando el control negativo de las micropartículas *CompBeats* mezcladas con núcleos de eritrocitos de pollo (BD™ CEN).

La matriz se calculó de forma automática en el programa BD FACSDiva™, versión 6.1.3. La estabilidad en los índices de tinción se verificó en, por lo menos, tres momentos independientes. La estabilidad en los voltajes y la eficiencia de los detectores se verificaron mediante esferas BD Cytometer Setup and Tracking™ (CST). Los parámetros de lectura estuvieron dentro de las variantes aceptadas para el instrumento, estimados mediante las gráficas de Levey-Jennings construidas a partir de la señal de los detectores implicados en el análisis de los micronúcleos.

### **Estándares biológicos para la verificación de la compensación**

En los análisis de citometría, se verificó la corrección del derramamiento espectral entre los fluorocromos mediante tinciones individuales para cada marcador de superficie según lo descrito por Dertinger, *et al.*, y Torous, *et al.* (12-14). Esta misma estrategia permitió establecer la positividad de las células en cada región.

Se prepararon cuatro muestras de cada individuo. La primera contenía 20  $\mu$ l de la muestra con yoduro de propidio, la segunda, anti-CD-71-PE, y la tercera, anti-CD-61-FITC. Con estas se hizo la corrección de la compensación y con el cuarto tubo, que contenía ambos anticuerpos, se analizó el porcentaje de células CD61-CD71+ PI+ después de haber excluido células 2n y los agregados mediante una región definida sobre FSC-A Vs. FSC-H; luego, se determinó la frecuencia de reticulocitos micronucleados en la fracción de células RET<sup>CD71+</sup>.

### **Adquisición de datos y análisis estadísticos**

Para la estimación de las frecuencias de reticulocitos micronucleados, se utilizó el programa de citometría de flujo FlowJo™ 7.6.2.

En cuanto al análisis estadístico univariado, se acudió a los indicadores clásicos de resumen, a saber, media, mediana, desviación estándar y coeficiente de variación para las variables cuantitativas, y porcentajes para las variables cualitativas.

En el análisis bivariado, dada la no normalidad del resultado en su escala original (establecida con la prueba de Shapiro-Wilk), se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para determinar la diferencia en los rangos promedios del porcentaje de reticulocitos micronucleados con cada uno de los factores que ameritaron valoración.

En el análisis multivariado, se construyó un modelo de regresión logística explicativo, tomando como variable dependiente el porcentaje de dichos reticulocitos (normal-alto).

Debe advertirse que la categorización se originó al segmentar la variable original con un nivel de medición de razón y el porcentaje de reticulocitos micronucleados utilizando la media como criterio estadístico.

Se consideraron como variables independientes aquellas establecidas como importantes por su efecto sobre el resultado. La finalidad en la construcción del modelo de regresión logística estribó en

controlar el efecto presuntamente confusor de cada una de las variables incluidas en el modelo frente a las otras. Estos resultados estadísticos se obtuvieron utilizando el programa SPSS™, versión 22.

### **Consideraciones éticas**

Además de la firma del consentimiento informado, se obtuvo la aprobación del Comité de Ética Independiente del Instituto de Cancerología de la Clínica Las Américas y del Comité de Bioética de la Sede de Investigación de la Universidad de Antioquia.

### **Resultados**

#### **Selección de la población de análisis**

Inicialmente, se descartaron los eventos celulares mayores a 2n mediante los parámetros de exclusión FSC-H y la incorporación de yoduro de propidio (figura 1a); de allí, se tomaron los eventos menores de 2n (P1) y se excluyeron los agregados (P2) mediante el uso de los parámetros FSC-H y FSC-A (figura 1b). En la figura 1c se muestra la distribución de las poblaciones celulares en cuanto a su tamaño (FSC-A) y granularidad (SSC-A). Posteriormente, y dado que las plaquetas tienen un tamaño similar a la porción de reticulocitos inmaduros, se utilizó el anticuerpo anti-CD61 para excluirlas (figura 1d), y se seleccionó la población correspondiente a células RET<sup>CD71+</sup> (figura 1e). Por último, en la población seleccionada, se cuantificaron los eventos con mayor cantidad de yoduro de propidio, es decir, el cuadrante Q2-2 correspondiente a los reticulocitos micronucleados (figura 1f).

#### **Medición de la población de reticulocitos micronucleados**

Las muestras de los 50 individuos (25 pacientes y 25 controles) se analizaron para detectar las frecuencias de células RET<sup>CD71+</sup> y de reticulocitos micronucleados. El número de eventos únicos totales evaluados por individuo osciló entre 28.000 y 520.000, de los cuales alrededor del 1 % pertenecía a la población total de reticulocitos. Con base en el valor promedio de células RET<sup>CD71+</sup> para estos individuos, y en los análisis con los cuales se midieron las frecuencias de reticulocitos establecidos sobre la fluorescencia asociada a los ácidos nucleicos, se estimó que el anticuerpo anti-CD-71-PE había marcado, aproximadamente, entre 98 y 100 % de la población de reticulocitos.

#### **Comparación de las frecuencias de RET-MN de pacientes y controles**

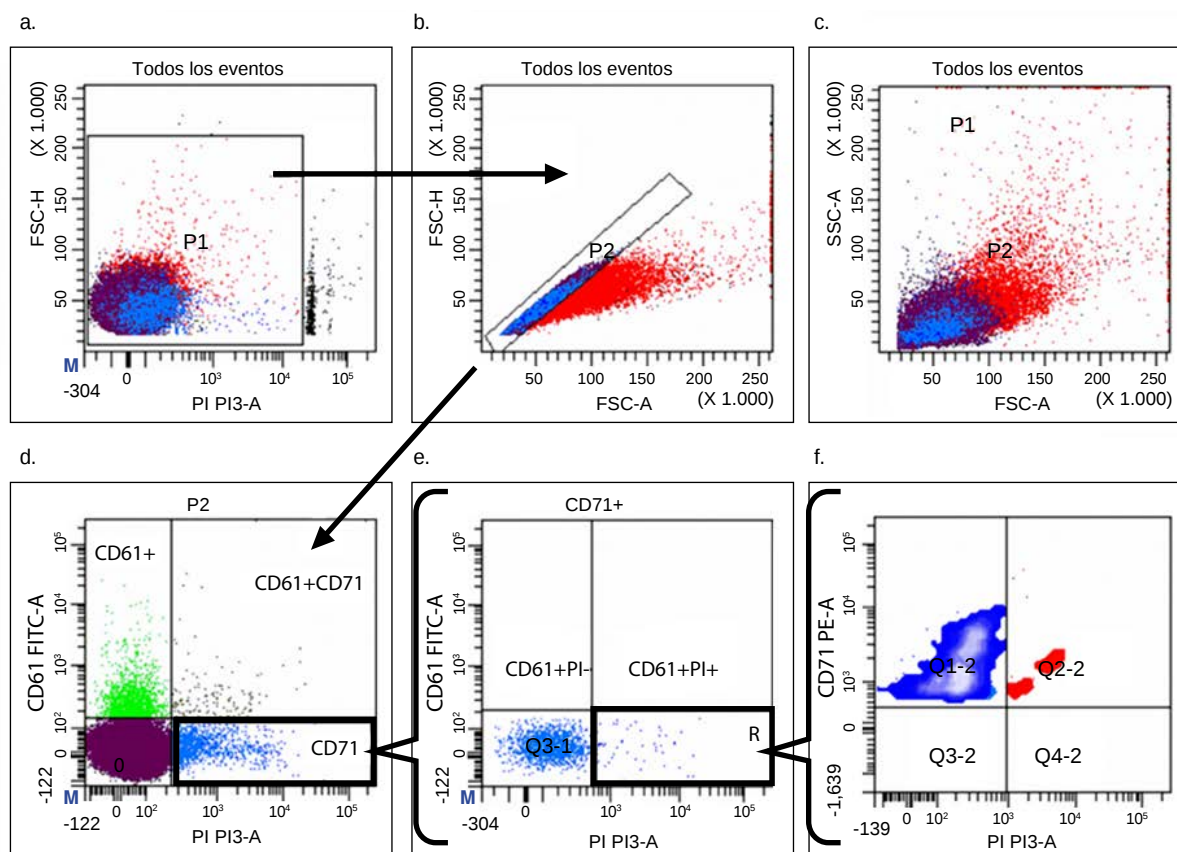
Inicialmente, se analizó el porcentaje de reticulocitos micronucleados en las muestras de voluntarios

sanos, el cual varió entre 0,00 y 8,48 %, con una mediana de 2,31 % y un rango intercuartil de 3,51. En los pacientes con cáncer (gliomas de alto grado), por el contrario, las frecuencias de estos reticulocitos fueron mayores que en los controles (0,384; 61,76 %), con una mediana de 12,45 % y un rango intercuartílico de 18,325. Los datos de frecuencias se presentan en el cuadro 1.

En la figura 2 se presenta una gráfica bivariada que compara la frecuencia de las RET<sup>CD71+</sup> de un voluntario sano (control) (figura 2a) y la de un paciente con glioma de alto grado antes del

tratamiento (figura 2b); como se observa en el cuadrante Q2-3, el número de reticulocitos micronucleados fue mucho más elevado en el paciente que en el control.

En el análisis multivariado solo los casos tuvieron un efecto significativo sobre el porcentaje de reticulocitos micronucleados; de hecho, su porcentaje de riesgo alto (por encima de la mediana) fue 93,9 % más bajo en los controles que en los casos después de ajustar por las variables de ser hombre, consumir alcohol o tabaco, no consumir antioxidantes, usar medicamentos y ser adulto mayor (cuadro 2).



**Figura 1.** Gráficas bivaridas que ilustran la estrategia de portales (gating) usada para los análisis de muestras de sangre humana. **a)** Selección de eventos (<2n, P1); sobre el límite superior de esta región se observan las células 2n. **b)** Exclusión de agregados utilizando los parámetros de FSC-Area Vs. FSC-Height. **c)** Distribución de tamaño (FSC-A) Vs. granularidad (SSC-A); en color rojo aparecen los agregados y en azul los eventos únicos. **d)** Exclusión de plaquetas CD61+. **e)** Selección de la población celular RET<sup>CD71+</sup>. **f)** Cuantificación de reticulocitos multinucleados (RET-MN) (CD71+PI+)

**Cuadro 1.** Medidas estadísticas descriptivas del porcentaje de reticulocitos micronucleados.

| Porcentaje inicial de RET-MN | n  | Media | Mediana | Desviación estándar | CV    | p     |
|------------------------------|----|-------|---------|---------------------|-------|-------|
| <b>Casos</b>                 | 25 | 12,45 | 3,45    | 16,74               | 134   | 0,045 |
| <b>Controles</b>             | 25 | 2,97  | 2,31    | 2,36                | 79,46 |       |

RET-MN: reticulocitos micronucleados; CV: coeficiente de variación

Los valores de  $p < 0,05$  indican diferencias significativas entre controles y pacientes.

Aunque las demás variables constitutivas del modelo no tuvieron significación estadística, cabe mencionar que, al ajustar por las variables mencionadas, el riesgo de un porcentaje alto de reticulocitos micronucleados fue 68 % mayor en los hombres que en las mujeres, y 5,3 % mayor en adultos mayores que en los adultos jóvenes.

Por último, el análisis de las variables independientes evidenció que estas solo explicaron el 42,3 % de la presencia de reticulocitos micronucleados.

## Discusión

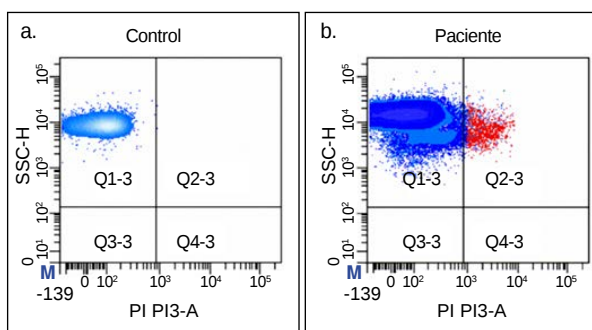
La detección de micronúcleos por citometría de flujo en reticulocitos humanos se basa en la marcación de la población de interés y la cuantificación de dichos micronúcleos en estas células de manera específica, siguiendo un protocolo de fijación y marcación celular diferencial en muestras de sangre periférica.

Los procedimientos descritos en este artículo son sencillos y se basan en el uso de colorantes de ácidos nucleicos con gran especificidad para el ADN, así como los reportados por Dertinger, et al.

La técnica no incluye la separación física de los eritrocitos CD71+ sino el uso de anticuerpos contra CD71 marcados con fluoróforos, que se utilizan para distinguir la fracción inmadura de los eritrocitos en el citómetro de flujo (6,12,13).

La eficiencia con la cual el bazo humano remueve de la circulación los eritrocitos que contienen micronúcleos, se ha considerado un obstáculo para utilizar la medida de reticulocitos micronucleados en sangre periférica como un indicador confiable del daño citogenético (12,13). Sin embargo, los datos presentados en este estudio sugieren que sería posible evaluar el daño citogenético en individuos no sometidos a esplenectomía utilizando un sistema de análisis de alto rendimiento, como el de la citometría de flujo, con el cual se puede detectar la rara aparición de la subpoblación RET<sup>CD71+</sup> y de los micronúcleos.

Con base en los resultados obtenidos y la efectividad de este procedimiento, se puede afirmar que los reticulocitos recién formados en sangre periférica representan un blanco celular alternativo con muchas ventajas: se requieren bajos volúmenes sanguíneos; son muy pocos los pasos de procesamiento de la muestra, pues la cosecha de células es mínimamente invasiva; los requisitos del equipo son poco sofisticados, y el conteo es automatizado e imparcial, pues el análisis de muestras de sangre para la detección de micronúcleos excede las tasas de hasta 1.000 eventos por segundo, lo cual equivale a un gran número de células si se compara con las empleadas en microscopía óptica, en la cual se analizan máximo 2.000 células binucleadas por muestra (14). Además, se cuantifica simultáneamente el porcentaje de reticulocitos y el de reticulocitos micronucleados, y el tiempo requerido para recolectar los datos en el citómetro es de 20 minutos por muestra, aproximadamente (13).



**Figura 2.** Gráfica bivariada que ilustra la resolución de fluorescencia de la subpoblación celular RET<sup>CD71+</sup>: **a)** en sangre periférica de un voluntario sano, y **b)** en un paciente con glioma antes de iniciar el tratamiento.

**Cuadro 2.** Regresión logística del análisis multivariado para el porcentaje del riesgo de reticulocitos micronucleados (MN-RET) según los factores de interés

| Factores                      | Coeficiente | Error estándar | Prueba de Wald | Valor de p | Odds ratio | IC <sub>95%</sub> para OR |          |
|-------------------------------|-------------|----------------|----------------|------------|------------|---------------------------|----------|
|                               |             |                |                |            |            | Inferior                  | Superior |
| Caso                          | -2,80       | 1,25           | 5,04           | 0,025      | 0,06       | 0,005                     | 0,70     |
| Ser hombre                    | 0,52        | 0,93           | 0,32           | 0,575      | 1,69       | 0,270                     | 10,50    |
| Consumo elevado de alcohol    | -0,11       | 0,35           | 0,09           | 0,760      | 0,90       | 0,460                     | 1,78     |
| Consumo elevado de cigarrillo | -0,11       | 0,53           | 0,04           | 0,839      | 0,90       | 0,320                     | 2,52     |
| No consumir antioxidantes     | -1,02       | 0,99           | 1,07           | 0,302      | 0,36       | 0,050                     | 2,49     |
| Usar medicamentos             | -1,03       | 0,94           | 1,20           | 0,274      | 0,36       | 0,060                     | 2,26     |
| Adulto mayor                  | 0,05        | 0,03           | 3,15           | 0,076      | 1,05       | 0,995                     | 1,12     |
| Constante                     | 1,88        | 2,30           | 0,67           | 0,413      | 6,53       |                           |          |

La citometría de flujo da una indicación de la medida de inestabilidad genómica determinando la frecuencia de los reticulocitos micronucleados en una población, aunque tiene una única desventaja, y es que no provee información sobre la composición cromosómica de los micronúcleos ni distingue entre los diferentes mecanismos de acción de los inductores (clastogénicos o aneugénicos); el ensayo tampoco determina si una célula tiene un micronúcleo o varios, como sí lo hace la microscopía convencional (6).

Las muestras de sangre de los 25 voluntarios sanos fueron importantes para estimar el número basal de reticulocitos y de aquellos micronucleados. Aunque los porcentajes de estos últimos no fueron tan elevados en este grupo de control (2,31 %; RIQ=3,51), el coeficiente de variación fue alto (79,46 %). Al igual que en otros estudios (1,3,15-17), se observó un rango variable de micronúcleos en las frecuencias tanto de los voluntarios sanos como de los pacientes, lo que indica una variabilidad individual significativa. Así, el conocimiento de los cambios espontáneos en las frecuencias de estos eventos permitiría determinar los parámetros basales en la población.

Los análisis de covarianza demostraron que la variación en la frecuencia basal tal vez no está relacionada con la edad y el sexo, lo cual contrasta con otros estudios que sugieren efectos significativos de estos factores en la incidencia de micronúcleos. Tales discrepancias pueden estar relacionadas con diferencias en las células blanco (eritroblastos Vs. linfocitos) u otros factores inherentes a la variabilidad entre individuos (3,16).

Las frecuencias de micronúcleos antes del tratamiento en los pacientes con cáncer, también fueron variables y más elevadas que las de los voluntarios sanos, con una mediana de 12,45 % (RIQ=18,32), lo que evidenciaría la presencia en sangre circulante de factores genotóxicos de naturaleza aún desconocida, o una posible propensión a padecer la enfermedad, como se ha observado en otros estudios sobre diferentes tipos de cáncer (16-21). Los experimentos aquí descritos sugieren que los reticulocitos<sup>CD71+</sup> micronucleados en sangre periférica podrían representar un posible biomarcador de la propensión a desarrollar este tipo de neoplasias.

Una de las estrategias más prometedoras para la prevención del cáncer es desarrollar y validar biomarcadores que puedan anticiparse al diagnóstico clínico. De hecho, los biomarcadores son

instrumentos que ayudan a detectar personas en alto riesgo, y se pueden dividir en tres grupos: el primero, para definir la exposición a agentes carcinogénicos; el segundo, para mostrar efectos biológicos, y el tercero, para dar información sobre la propensión individual (21,22).

El uso de los micronúcleos como biomarcadores de genotoxicidad o riesgo de cáncer (23), se fundamenta en el hecho de que las alteraciones citogenéticas hacen parte del fenotipo tumoral y en la hipótesis de que el daño cromosómico está involucrado directamente en la etiología del cáncer (21,22). Sin embargo, es difícil establecer una relación causal entre el aumento del número de micronúcleos y el riesgo de cáncer, pues dicho aumento puede ser consecuencia de la enfermedad (causalidad inversa) o el reflejo de una propensión individual a eventos que generan inestabilidad genómica (16,22).

La asociación entre las frecuencias elevadas de micronúcleos y el riesgo de desarrollar cáncer, no está confinada a cánceres en sitios específicos (22). Sin embargo, reflejan la acumulación de alteraciones genéticas causadas por factores genotóxicos endógenos y exógenos, así como las variaciones individuales en la vulnerabilidad frente a estos factores (16,21).

Hasta la fecha, las investigaciones sobre biomarcadores en tumores cerebrales han presentado pocas opciones útiles para la práctica clínica, por lo que se hace necesario buscar nuevas opciones de marcadores tumorales, por ejemplo, los basados en sangre periférica o en biopsias líquidas, los cuales resultarían más prácticos que los actuales, ya que se pueden hacer sin necesidad de repetir la cirugía o las biopsias en los pacientes. La investigación de biomarcadores en gliomas de alto grado es todo un reto, dada la baja frecuencia y la diversidad genética de estos tumores. Además, al comparar con otros cánceres, su adopción en la práctica clínica se ha visto obstaculizada por las bajas tasas de detección.

Por último, cabe destacar que la detección de micronúcleos por citometría de flujo en reticulocitos humanos, es una técnica moderna, rápida y eficiente que evalúa la genotoxicidad en los reticulocitos micronucleados con un grado de eficiencia y sensibilidad sin precedentes. Los datos aquí suministrados respaldan la hipótesis de que las frecuencias de estos reticulocitos en sangre periférica pueden ser una alternativa de mayor sensibilidad que los análisis convencionales

basados en la técnica de linfocitos binucleados, y podrían constituir una nueva herramienta validable como biomarcador para la predicción y la detección temprana del cáncer.

### Agradecimientos

Este estudio recibió el apoyo de la Estrategia de Sostenibilidad 2013/2014 (Grupo GRC) del CODI – Universidad de Antioquia, y la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República (Proyecto 3640). Los autores agradecen a los donantes voluntarios, y a la Unidad de Quimioterapia del Instituto de Cancerología de la Clínica Las Américas de Medellín, por su ayuda en la obtención de las muestras de los pacientes.

### Conflicto de intereses

Los autores de este artículo expresan que no existieron conflictos de intereses durante la preparación de este documento ni para su publicación.

### Financiación

Esta investigación fue financiada por la Estrategia de Sostenibilidad (Grupo GRC) del CODI – Universidad de Antioquia y la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República (Proyecto 3640).

### Referencias

1. Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. The Human MicroNucleus Project—An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res.* 1999;428:271-83. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(99\)00053-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(99)00053-8)
2. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, *et al.* An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis.* 2007;28:625-31. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl177>
3. Dertinger SD, Miller RK, Brewer K, Smudzin T, Torous DK, Roberts DJ, *et al.* Automated human blood micronucleated reticulocyte measurements for rapid assessment of chromosomal damage. *Mutat Res.* 2007;626:111-9. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.09.003>
4. Araldi RP, de Melo TC, Mendes TB, de Sá Júnior P, Nozima BH, Ito ET, *et al.* Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review. *Biomed Pharmacother.* 2015;72:74-82. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.04.004>
5. Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan AT, Surrallés J, Crott JW, Parry J, *et al.* Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis.* 2011;26:125-32. <http://dx.doi.org/10.1093/mutage/geq052>
6. Balmus G, Karp NA, Ng BL, Jackson SP, Adams DJ, McIntyre RE. A high-throughput *in vivo* micronucleus assay for genome instability screening in mice. *Nat Protoc.* 2014;1:205-15. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.010>
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell.* 2011;144:646-74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
8. von Ledebur M, Schmid W. The micronucleus test. Methodological aspects. *Mutat Res.* 1973;19:109-17. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(73\)90118-8](https://doi.org/10.1016/0027-5107(73)90118-8)
9. Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res.* 1975;31:9-15. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8)
10. Chen Y, Tsai Y, Nowak I, Wang N, Hyrien O, Wilkins R, *et al.* Validating high-throughput micronucleus analysis of peripheral reticulocytes for radiation biodosimetry: Benchmark against dicentric and CBMN assays in a mouse model. *Health Phys.* 2010;98:218-27. <https://doi.org/10.1097/HP.0b013e3181abaae5>
11. Dertinger SD, Torous DK, Hayashi M, MacGregor JT. Flow cytometric scoring of micronucleated erythrocytes: An efficient platform for assessing *in vivo* cytogenetic damage. *Mutagenesis.* 2011;26:139-45. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq055>
12. Dertinger SD, Torous DK, Hall NE, Murante FG, Gleason AE, Miller RK, *et al.* Enumeration of micronucleated CD71-positive human reticulocytes with a single-laser flow cytometer. *Mutat Res.* 2002;515:3-14. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00009-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00009-8)
13. Dertinger SD, Chen Y, Miller RK, Brewer K, Smudzin T, Torous DK, *et al.* Micronucleated CD71-positive reticulocytes: A blood-based endpoint of cytogenetic damage in humans. *Mutat Res.* 2003;542:77-87. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2003.08.004>
14. Torous DK, Dertinger SD, Hall NE, Tometsko CR. Enumeration of micronucleated reticulocytes in rat peripheral blood: A flow cytometric study. *Mutat Res.* 2000;465:91-9. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00216-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00216-8)
15. Bonassi S, Fenech M, Lando C, Lin YP, Ceppi M, Chang WP, *et al.* HUMAN MicroNucleus project: International database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. *Environ Mol Mutagen.* 2001;37:31-45. [https://doi.org/10.1002/1098-2280\(2001\)37:1<31::AID-EM1004>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1098-2280(2001)37:1<31::AID-EM1004>3.0.CO;2-P)
16. Chang P, Li Y, Li D. Micronuclei levels in peripheral blood lymphocytes as a potential biomarker for pancreatic cancer risk. *Carcinogenesis.* 2010;32:210-5. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq247>
17. Cao J, Liu Y, Sun H, Cheng G, Pang X, Zhou Z. Chromosomal aberrations, DNA strand breaks and gene mutations in nasopharyngeal cancer patients undergoing radiation therapy. *Mutat Res.* 2002;504:85-90. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(02\)00082-9](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(02)00082-9)
18. Berg-Drewniok B, Weichenthal M, Ehlert U, Rummelein B, Breitbart EW, Rudiger HW. Increased spontaneous formation of micronuclei in cultured fibroblasts of first-degree relatives of familial melanoma patients. *Cancer Genet Cytogenet.* 1997;97:106-10. [https://doi.org/10.1016/S0165-4608\(96\)00364-0](https://doi.org/10.1016/S0165-4608(96)00364-0)

19. **Scott D, Barber JB, Levine EL, Burrill W, Roberts SA.** Radiation-induced micronucleus induction in lymphocytes identifies a high frequency of radiosensitive cases among breast cancer patients: A test for predisposition? *Br J Cancer*. 1998;77:614-20. <https://doi.org/10.1038/bjc.1998.98>
20. **Burrill W, Barber JB, Roberts SA, Bulman B, Scott D.** Heritability of chromosomal radiosensitivity in breast cancer patients: A pilot study with the lymphocyte micronucleus assay. *Int J Radiat Biol*. 2000;76:1617-9. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600628>
21. **Bloching M, Hofmann A, Lautenschläger C, Berghaus A, Grummt T.** Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aerodigestive tract using the MN-assay. *Oral Oncol*. 2000;36:550-5. [https://doi.org/10.1016/S1368-8375\(00\)00051-8](https://doi.org/10.1016/S1368-8375(00)00051-8)
22. **Murgia E, Ballardín M, Bonassi S, Rossi AM, Barale R.** Validation of micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes as early cancer risk biomarker in a nested case-control study. *Mutat Res*. 2008;639:27-34. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.10.010>
23. **Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, et al.** An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*. 2007;28:625-31. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl177>

ORIGINAL ARTICLE

## Neurogenesis and gliogenesis modulation in cerebral ischemia by CDK5 RNAi-based therapy

Juan Ignacio Muñoz-Manco, Johanna Andrea Gutiérrez-Vargas, Gloria Patricia Cardona-Gómez

Grupo de Neurociencias de Antioquia, Área de Neurobiología Celular y Molecular,  
Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introduction:** Cerebral ischemia is the third cause of death risk in Colombia and the first cause of physical disability worldwide. Different studies on the silencing of the cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) have shown that reducing its activity is beneficial in ischemic contexts. However, its effect on neural cell production after cerebral ischemia has not been well studied yet.

**Objective:** To evaluate CDK5 silencing on the production of neurons and astrocytes after a focal cerebral ischemia in rats.

**Materials and methods:** We used 40 eight-week-old male Wistar rats. Both sham and ischemia groups were transduced at CA1 hippocampal region with an adeno-associated viral vector using a non-interfering (shSCRmiR) and an interfering sequence for CDK5 (shCDK5miR). We injected 50 mg/kg of bromodeoxyuridine intraperitoneally from hour 24 to day 7 post-ischemia. We assessed the neurological abilities during the next 15 days and we measured the immunoreactivity of bromodeoxyuridine (BrdU), doublecortin (DCX), NeuN, and glial fibrillary acid protein (GFAP) from day 15 to day 30 post-ischemia.

**Results:** Our findings showed that CDK5miR-treated ischemic animals improved their neurological score and presented increased BrdU<sup>+</sup> cells 15 days after ischemia, which correlated with higher DCX and lower GFAP fluorescence intensities, and, although mature neurons populations did not change, GFAP immunoreactivity was still significantly reduced at 30 days post-ischemia in comparison with untreated ischemic groups.

**Conclusion:** CDK5miR therapy generated the neurological recovery of ischemic rats associated with the induction of immature neurons proliferation and the reduction of GFAP reactivity at short and long-term post-ischemia.

**Key words:** Brain ischemia; neurogenesis; cyclin-dependent kinase 5.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3800>

### Modulación de la neurogénesis y la gliogénesis en la isquemia cerebral mediante una terapia basada en la interferencia de CDK5

**Introducción.** La isquemia cerebral es la tercera causa de riesgo de muerte en Colombia y la primera causa de discapacidad física en el mundo. En diversos estudios en los que se silenció la cinasa 5 dependiente de la ciclina (CDK5) se ha demostrado que la reducción de su actividad es beneficiosa frente a la isquemia. Sin embargo, su efecto sobre la neurogénesis después de la isquemia no se ha dilucidado suficientemente.

**Objetivo.** Evaluar el silenciamiento de la CDK5 en la neurogénesis y la gliogénesis después de la isquemia cerebral focal en ratas.

**Materiales y métodos.** Se usaron 40 machos de rata Wistar de ocho semanas de edad. Los grupos de control y los isquémicos sometidos a transducción en la región del hipocampo CA1, se inyectaron intraperitonealmente por estereotaxia con 50 mg/kg de bromodesoxiuridina (BrdU) a partir de las 24 horas y hasta el día 7 después de la isquemia, con un vector viral asociado a adenovirus usando una secuencia no interferente (SCRmiR) y una interferente (CDK5miR). Se evaluó la capacidad neurológica durante los quince días siguientes y se detectó la capacidad de inmunorreacción para la BrdU, la proteína doblecortina (DCX), los núcleos neuronales (NeuN), y la proteína fibrilar acídica de la glía (*Glial Fibrillary Acidic Protein*, GFAP) a los 15 y 30 días de la isquemia.

**Resultados.** Los animales isquémicos tratados con CDK5miR mejoraron su puntuación neurológica y presentaron un incremento de la BrdU<sup>+</sup> a los 15 días de la isquemia, lo cual se correlacionó con

#### Author's contributions:

Juan Ignacio Muñoz-Manco: experiments and writing of the manuscript

Johanna Andrea Gutiérrez-Vargas: support for experiments and critical revision of the manuscript

Gloria Patricia Cardona-Gómez: critical revision of the manuscript intellectual content

All authors contributed to the study concept and design, read, and approved the final manuscript.

una mayor intensidad de la DCX<sup>+</sup> y una menor de la GFAP<sup>+</sup>. No hubo modificación de los NeuN<sup>+</sup>, pero sí una reducción significativa de la GFAP<sup>+</sup> a los 30 días de la isquemia en los animales tratados comparados con los animales isquémicos no tratados.

**Conclusión.** La terapia con CDK5miR generó la recuperación neurológica de ratas isquémicas asociada con la inducción de la neurogénesis y el control de la capacidad de reacción de la proteína GFAP a corto y largo plazo después de la isquemia.

**Palabras clave:** isquemia encefálica; neurogénesis, cinasa 5 dependiente de la ciclina.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3800>

Cerebrovascular disease (CVD) represents a critical public health problem and it is considered the first cause of mental and physical disabilities around the world (1,2). Ischemic stroke is a CVD, which mainly generates a focal ischemia by the occlusion of the middle cerebral artery characterized by a core and a penumbra zone (3). In the ischemic core, cellular necrotic events occur that make it impossible to rescue cells after the insult; however, the apoptotic cell death caused by nutrient deprivation, the oxidative stress, and the excitotoxicity occurring in the penumbra zone represent a key target for therapeutic intervention in cerebral ischemia (4,5).

During cerebral infarction, various affected molecular actors are involved in neurotransmission, cell adhesion, and cytoskeletal remodelling, among others (6). CDK5 is a cyclin dependent kinase implied in neurodevelopment and neurotransmission, but its over-activation is associated with degeneration. Given that an increased cleavage of p35 (activator) to p25 generates an abnormal production of the CDK5/p25 complex with a sustained activation of the enzyme, an unbalancing phosphorylation of tau and of several substrates related to the loss of plasticity and neurovascular unit, as well as dementia (6-9), it has been suggested that the prevention of a sustained activity of CDK5 is neuroprotective (10-12).

In this context, it is necessary to gain a deeper understanding of CDK5 RNAi-based therapy for future translational studies in humans, which are in great clinical demand and have a significant social impact (13). In this study, we analyzed the role of CDK5miR on neurogenesis and gliogenesis after an ischemic stroke.

## Materials and methods

### Animal model

Procedures in animals were performed according to the ARRIVE guidelines, the "Guide for the care and use of laboratory animals", 8th edition, published by the National Institutes of Health (NIH), and the Colombian standards (Law 84/1989 and Resolution 8430/1993), taking special care to minimize suffering and reduce their number. The study was approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation of the University of Antioquia, Medellín, Colombia.

Animals were obtained from a specific pathogen-free colony of the *vivarium* at the *Sede de Investigación Universitaria* (SIU), University of Antioquia, Medellín, Colombia. Rats were maintained in groups of five with food and water *ad libitum* and on a 12:12-hour dark:light cycle. We used 40 eight-week-old male Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*) of average size and an average weight of 350 g. Ten rats per experimental group were used for neurological scoring. In addition, we used 5 per experimental group for the histologic assessments.

### Surgical procedure

We performed a transient middle cerebral artery occlusion (t-MCAO) and reperfusion as described previously (12,14). Initially, animals were anaesthetized with a mixture of ketamine via IP (60 mg/kg; Holliday Scott S.A. Int. Neyer, Buenos Aires, Argentina), xylazine (5 mg/kg; Synthesis Ltda. & Cia., S.C.A, Bogotá, Colombia), subcutaneous atropine (100 mg/kg; Erma S.A., Bogotá, Colombia); they also received an inhalational mixture of 2% to 4% of isoflurane (Baxter, Deerfield, IL, USA) and 96% oxygen using an inhalation anaesthesia machine (VMC<sup>TM</sup> Table top gas anaesthesia Instrument).

The right common carotid artery (CCA) was exposed and carefully isolated from the vagus nerve (VN); the right external and internal carotid arteries (ECA and ICA) were exposed and isolated. ECA ascending pharyngeal artery, superior thyroid and occipital

Corresponding author:

Gloria Patricia Cardona-Gómez, Sede de Investigación Universitaria (SIU), Universidad de Antioquia, Calle 62 N° 52-59, torre 1, piso 4, laboratorio 412, Medellín, Colombia  
patricia.cardonag@udea.edu.co

Received: 24/02/17; accepted: 16/03/18

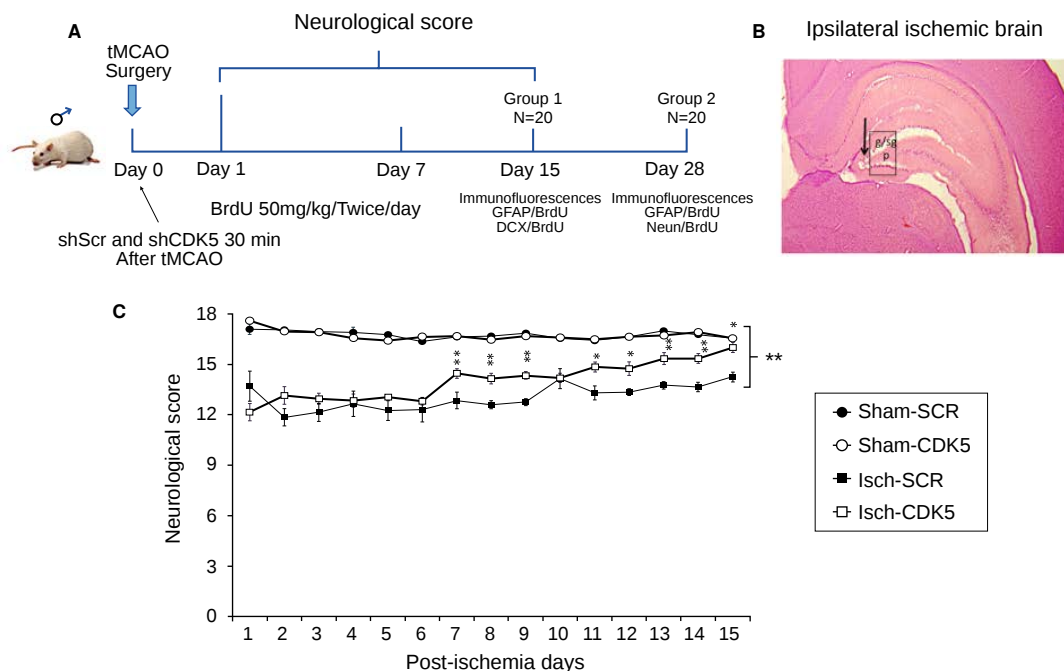
branches were cauterized by electrocoagulation (AARON Bipolar Cautery™, Albany, NY, USA). The ICA artery pterygopalatine first branch was isolated. The distal portion of the ECA was tied with a 6/0 nylon and then cut. A 4-0 monofilament nylon (Corpaul, Bogotá, Colombia), previously rounded at one end by flaming and coated with poly-L-lysine solution (0.1% w/v in deionized water; Sigma, St Louis, MO, USA), and inserted 17-19 mm from the ECA to the ICA to occlude the MCA and its origin. Then, we verified that the monofilament was not inside the pterygopalatine artery. The incision was sutured leaving a bulge of 1 cm. After 60 minutes, the nylon was removed allowing reperfusion and the wound was closed.

Sham animals were subjected to the same procedures, but the filament was not introduced. Half of the animals were euthanized 15 days after reperfusion and the other half, 30 days after for which all animals were anesthetized with xylazine 10 mg/kg + ketamine 90 mg/kg and immediately perfused with 4% paraformaldehyde (0.1 M phosphate buffer [PBS], pH 7.4). Brains were carefully removed and post-fixed with 4% paraformaldehyde at 4°C for 48 hours, then preserved by a sucrose gradient

(7%, 25%, 30%) at 4°C; they were then placed in a cryopreservation solution at -20°C. Coronal sections were sectioned at 50 µm with a vibrating blade microtome (VT1000S™, Leica Microsystems, Nussloch, Germany).

### Short hairpin RNAmiR delivery

During the t-MCA occlusion, at 30 minutes, we performed a right hippocampal stereotaxic injection with anteroposterior (AP) coordinates of -2.56 mm, mediolateral (ML) 0.8 mm and dorsoventral (DV) 4.1 mm. We used a 10 µL Hamilton syringe for injection at a rate of 0.2 µL/min of a solution containing adeno-associated viral (AAV) particles obtained from the Davidson Laboratory (University of Iowa Viral Vector Core) with the RNAi sequences for silencing CDK5 (short hairpin CDK5miR) and a control scrambled RNA sequence (shSCRmiR) (12,15-18) for treating ischemic and control animals, respectively. Five minutes elapsed after the infusion before withdrawing the syringe. We injected a volume of 2.5 µL of AAV2.5.shSCRmiR.GFP or AAV2.5.shCDK5miR.GFP as previously described (12,18). After the injection, we proceeded to suture the animals keeping them in observation until their awakening (figure 1 A,B).



**Figure 1.** Neurological recovery induced by CDK5 silencing in ischemic rats. **A)** Experimental design to evaluate the effect of CDK5 RNAi on neural population and neurological performance after an ischemic insult. **B)** Ipsilateral injection site at stereotaxic coordinates AP -2.56, ML 0.8, and DV 4.1. and evaluated hippocampal regions (g: granular; sg: subgranular; p: polymorphic zone). **C)** Neurological analysis of CDK5 silencing in ischemic rats. The error bars indicate the SEM. All data are presented as mean  $\pm$  SEM. Sham-SCR: Control group treated with shSCRmiR; Sham-CDK5: Control group treated with shCDK5miR; Isch-SCR: Ischemic group treated with SCRmiR; Isch-CDK5: Ischemic group treated with shCDK5miR. n=10, p<0.05 = \*, p<0.001 = \*\*.

### **Recovery and neurological evaluation**

Animals were evaluated from day 1 to 15 after the t-MCAO (N=10). Neurological evaluation was scored on an 18-point scale. The evaluation was divided into six independent tests scored from 0 to 3 to determine the following parameters:

- 1) Cage exploration and spontaneous activity;
- 2) symmetry in limb movement;
- 3) forepaw outstretching;
- 4) climbing;
- 5) body proprioception, and
- 6) response to vibrissae touch (12,18,19) (figure 1A).

The highest possible score in the tests was 18, which indicated there were no neurological deficits, while the lowest was 3 for the most severe impairment. Neurological evaluation was performed every day and in the same order in all animals. To validate and reduce bias, a double-blind procedure was performed recording videos for every animal during the test.

### **Insertion of 5-Bromo-2-deoxyuridine**

For the BrdU (Catalog Number B5002, Sigma-Aldrich) insertion, we injected rats via IP twice a day during seven days after ischemia at 50 mg/kg (0.1 M phosphate buffer [PBS], pH 7.4).

### **Immunohistochemistry**

Brain sections were treated with methanol and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) in 0.1M PBS (pH 7.4) to inhibit endogenous peroxidase activity for 20 minutes while free-floating with moderate shaking. Subsequently, we washed them three times with 0.3% (v/v) Triton X-100™ (Sigma-Aldrich) in 0.1 M PBS to increase tissue permeability and we then incubated for 30 minutes with Triton™ 0.5% (v / v) X-100 in 0.1 M PBS. Then, we backwashed with 0.3% (v/v) Triton X-100™ in 0.1 M PBS for three times.

For BrdU, we denaturalized brain DNA sections with HCl 2N for 20 minutes at 37°C, we washed three times with 0.3% (v/v) Triton X-100™ in 0.1 M PBS, then incubated with citrate buffer (Sodium citrate 10Mm, 0.05% tween 20, pH 6.0) for 10 minutes at room temperature and, finally, we washed three times with 0.3% (v/v) TritonX-100™ in 0.1 M PBS. Nonspecific binding sites were blocked by pre-incubation with BSA (1%) and 0.3% (v/v) Triton X-100™ in 0.1 M PBS for 1 hour.

Sections were incubated 24 hours while free-floating with moderate shaking and with the primary anti-body diluted in incubation solution (0.1 M PBS with 0.3% (v/v) Triton X-100™ and 0.3% BSA) at 4°C.

Anti-BrdU (1:100 mouse monoclonal B8434, Sigma-Aldrich) was used to detect bromodeoxyuridine (BrdU) specifically incorporated into the DNA. Next day, sections were washed 5 minutes with 0.1 M PBS three times and incubated with the secondary antibody (1:250 biotinylated mouse, Pierce) for 1 hour at room temperature and then washed 3 times with 0.1 M PBS, incubated with Avidin-Biotin complex (Pierce complex™; 1: 250 reagents A and B), and washed again three more times and developed with a chromogenic reaction diaminobenzidine (DBA) in 0.01%  $H_2O_2$ . For negative controls, we followed the same protocol for each experimental group without incubation with the respective primary antibody.

Sections were mounted on glass slides, dehydrated with increasing concentration of alcohol (70%, 96%, 100%) and cleared with xylene. Finally, the slides were sealed using Vecta-shield mounting medium (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), and then analyzed through a light microscope (Nikon Eclipse E200™). Images were captured using a Nikon digital camera (Sight DS-L1™). Quantification of immunoreactivity in the hippocampus was determined using a 10X objective. Photomicrographs were analyzed using the ImageJ software program (version 1.45, US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). To quantify the relative intensity of immunostaining, we modified the images to a binary system and obtained integrated densities (relative units) subtracting automatically the background for each image.

### **Immunofluorescence**

Brain slices were initially heated (80°C) in 10mM Tris pH 6.0 to increase exposure of the antigen and then treated with ammonium chloride ( $NH_4Cl$ ) for 20 minutes to avoid autofluorescence. Three washes with 0.3% v/v Triton X-100™ in 0.1M PBS were made to increase tissue permeability. For BrdU, we denaturalized DNA brain sections with HCl 2N for 20 minutes at 37°C, washed them three times with 0.3% (v/v) Triton X-100™ in 0.1 M PBS, and then incubated them with citrate buffer (sodium citrate 10 Mm, 0.05% tween 20, pH 6.0) for 10 minutes at room temperature to finally wash them three times with 0.3% (v/v) Triton X-100™ in

0.1 M PBS. Nonspecific binding sites were blocked by preincubation with BSA (3%) and 0.5% (v/v) Triton X-100™ in 0.1 M PBS for 1 hour.

Sections were incubated overnight while free-floating with moderate shaking at 4°C with the respective primary anti-BrdU (mouse monoclonal 1: 100, Sigma) for the new cells produced, anti-DCX (polyclonal rabbit 1: 250, Abcam) for immature neurons, anti-GFAP (rabbit polyclonal 1: 500, Sigma) for astrocytic cells and anti-NeuN (polyclonal rabbit 1: 500, Millipore) for mature neuronal cells. After three washes, tissues were incubated with secondary antibodies: Rabbit Alexa Fluor 594™, and mouse Alexa Fluor 350™ (molecular probes, 1:1,000) for 90 minutes at room temperature. Finally, we washed with PBS and slides were coverslipped using Gel Mount™ (BioMeda, Hatfield, PA, USA) in dark conditions. For negative controls, we followed the same protocol for each experimental group without incubation with the respective primary antibodies. Tissues were observed with a motorized spinning disk confocal microscope (Disk Scan Unit) Olympus IX 81™ (Olympus, Latin America, Inc., Miami, FL, USA). Images were photographed at 10X and the analysis was performed by evaluating the fluorescence intensity (FI) using the Image Pro Plus (Media Cybernetics) software.

### Statistical analysis

For the neurological analysis, we used ten (10) animals per group and for the histological analysis, five (5) per group. The data obtained from the neurological and tissue immunoreactivity evaluations were analyzed using a homogeneity of variance test, followed by ANOVA of repeated measurement and one-way ANOVA tests, and a Tukey's *post hoc* test to define differences between groups. We used the SPSS Statistics™ software (20.0 version) and a  $p \leq 0.05$  significance. All experimental groups were processed in parallel for reducing variability. The data are presented as mean  $\pm$  SEM.

### Results

#### ***CDK5 reduction promoted neurological recovery in ischemic rats***

The neurological assessment showed that the Isch-SCR animals had a lower score (12.8 and 14.3 points) at days 7 and 15 post-ischemia, respectively, compared with the sham groups with and without CDK5 RNAi treatment (16.5 points). Interestingly, the CDK5 RNAi-treated ischemic group presented a significantly higher score of 14.5

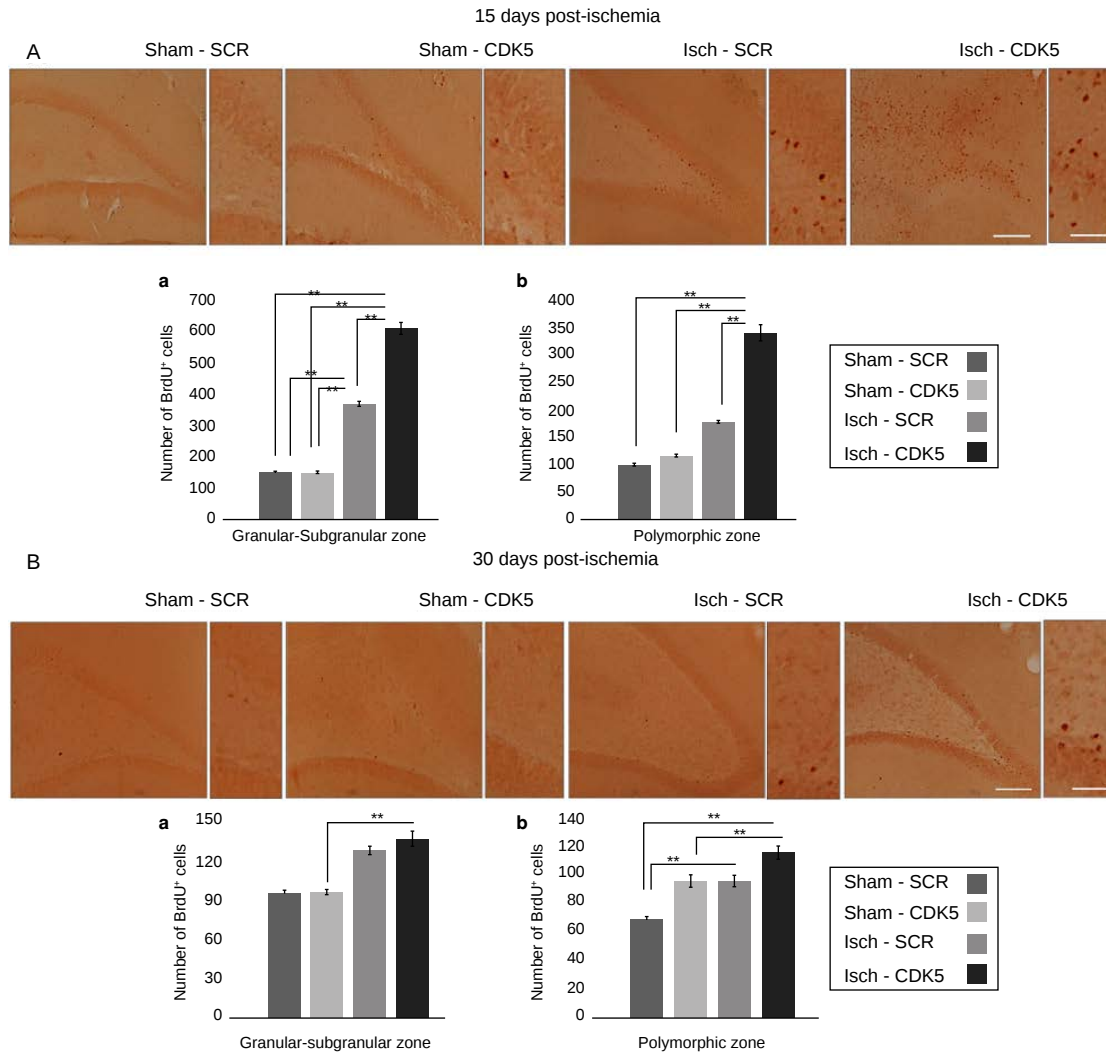
on day 7 and of 16 points on day 15, recovering neurological skills similar to those of the control animals (figure 1C;  $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.001 = **$ , repeated-measures in ANOVA).

#### ***BrdU incorporation in the hippocampus was promoted by CDK5 RNAi treatment in ischemic rats***

We found a significantly increased number of BrdU<sup>+</sup> cells in the Isch-SCR group compared with the sham-SCR and sham-CDK5 controls (figure 2A a;  $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.001 = **$ , repeated-measures in ANOVA and Tukey's test). However, the CDK5 RNAi treatment induced a significantly greater incorporation of BrdU in ischemic animals compared with the Isch-SCR group without treatment (figure 2A a). Although there was no significant incorporation of BrdU in the polymorphic area of the Isch-SCR animals compared to controls (figure 2A b;  $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.001 = **$ , repeated-measures in ANOVA and Tukey's test), CDK5 silencing significantly increased BrdU<sup>+</sup> cells compared to Isch-SCR and controls in the cerebral zone (figure 2A b). This effect of CDK5 RNAi on ischemic rats remained for a month in the granular/subgranular and polymorphic zones (figure 2B b). The Isch-group had a slight tendency or significantly increased BrdU<sup>+</sup> cells in comparison with the control groups (figure 2B a, b).

#### ***CDK5 RNAi exerted neuroprotection associated with the induction of immature neurons and down-regulation of the astroglial population in ischemic rats***

Our findings showed that CDK5 RNAi treatment induced proliferation of immature neurons in the granular/subgranular zones. This is supported by the significant increase of BrdU<sup>+</sup> and DCX<sup>+</sup> cells in comparison with ischemic and control groups at 15 days post-ischemia (figure 3A, C;  $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.001 = **$ , repeated-measures in ANOVA and Tukey's test). Although the sham-CDK5 and Isch-SCR groups presented a significant increase of BrdU in the granular/subgranular zones, this was not confirmed by the variations in the amount of DCX<sup>+</sup> or GFAP<sup>+</sup> cells (figure 3A, C). On the other side, the polymorphic zone presented variability between groups and treatments (figure 3B, c;  $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.001 = **$ , repeated-measures in ANOVA and Tukey's test), however, there was a significant increase of BrdU<sup>+</sup> and GFAP<sup>+</sup> cells in the ischemic-SCR group 15 days post-ischemia, which was significantly down-regulated by the CDK5 RNAi treatment in ischemic rats (figure 3B, C). The green fluorescent protein (GFP) was used



**Figure 2.** BrdU incorporation in the hippocampus of CDK5 RNAi-treated ischemic rats. **A)** Representative images at bregma -2.56 mm of BrdU immunoreactivity in the granular-subgranular (a) and polymorphic (b) zones at 15 days and **B)** 28 days post-ischemia in treated and untreated rats. The error bars indicate the SEM.  $n = 5$ ,  $p < 0.05 = *$ ;  $p < 0.001 = **$ . All data are presented as mean  $\pm$  SEM. 10X. Scale bar=100  $\mu$ m.

to confirm the expression of AAV2.5.shSCRmiR. GFP and AAV2.5.shCDK5miR.GFP in each group, respectively.

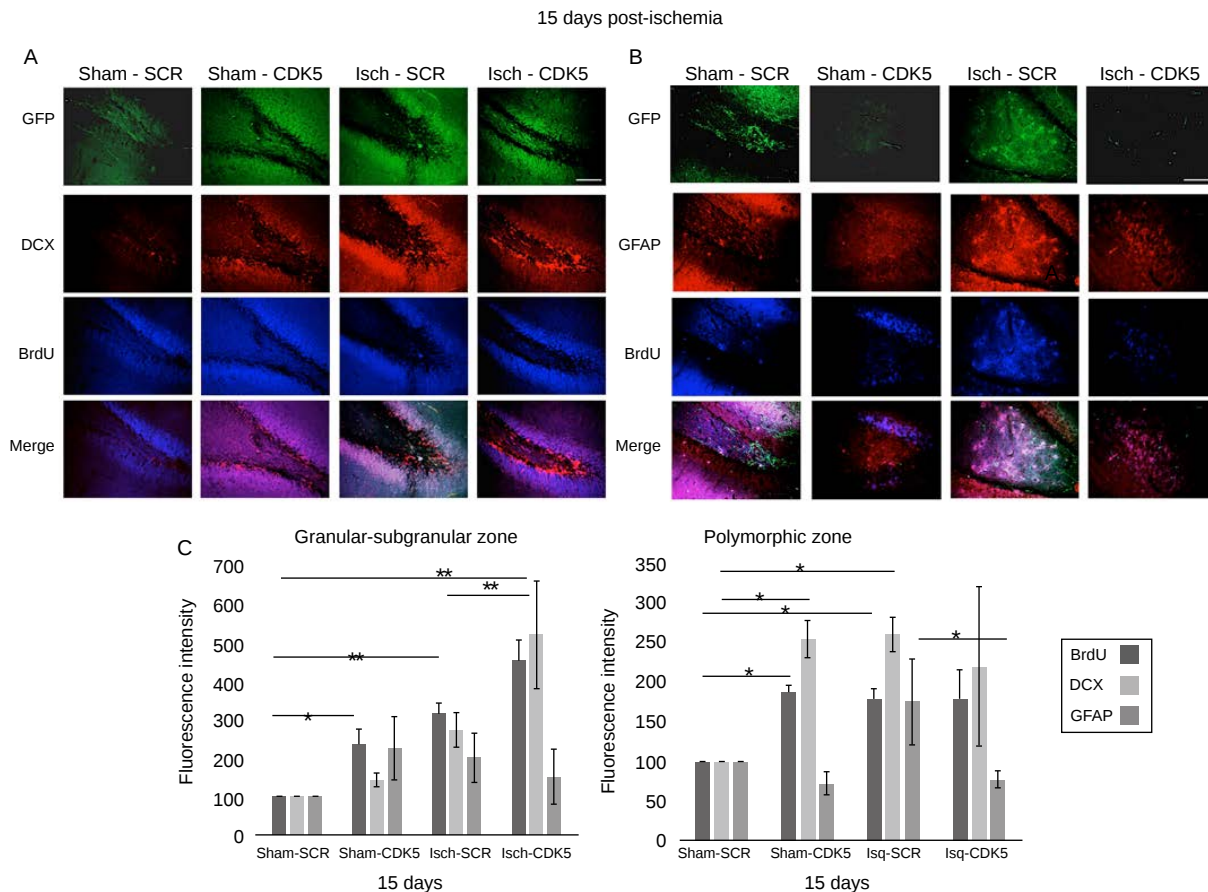
#### **CDK5 RNAi preserved the down-regulation of astrogliosis at one month post-ischemia**

Interestingly, when we evaluated the neural population at 30 days post-ischemia, we did not find changes in the mature neuron immunoreactivity neither in the granular/subgranular nor in the polymorphic zones in the untreated and treated rats, because there was a significant increase in the BrdU<sup>+</sup> cells but without changes in the NeuN immunoreactivity (figure 4A, B;  $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.001 = **$ , repeated measures in ANOVA

and Tukey's test). The GFAP<sup>+</sup> population did not present changes in the granular/subgranular zone either (figure 4A, B), but stayed increased in the polymorphic zone at one-month post-ischemia in untreated rats, which was reversed by the CDK5 RNAi treatment as in the control groups (figure 4A, C,  $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.001 = **$ , repeated measures in ANOVA and Tukey's test).

#### **Discussion**

Our data suggest that CDK5 RNAi exerts part of its neuroprotection effect by controlling immature neuron proliferation and reducing astrogliosis, which reflects in the recovery of the neurological function after an ischemic stroke.



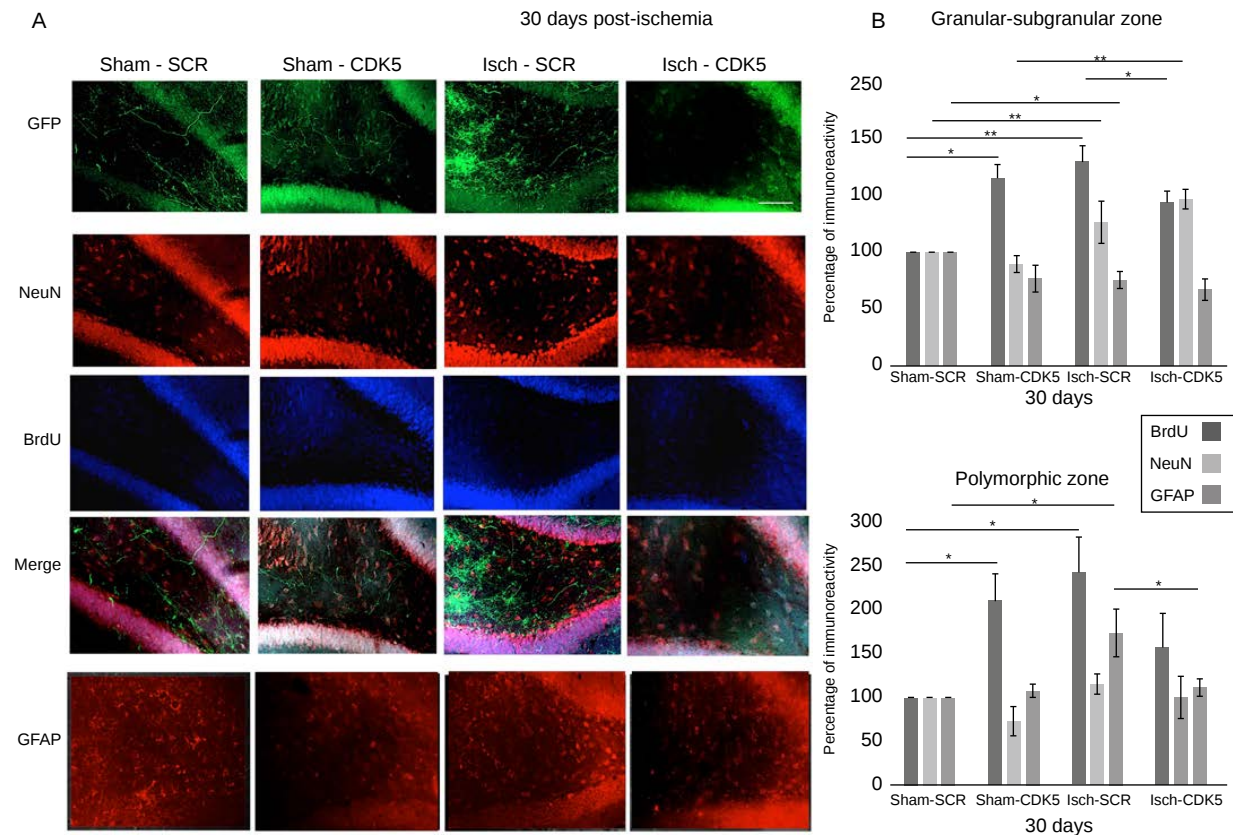
**Figure 3.** CDK5 RNAi induced immature neurons and down-regulation of astroglial population in ischemic rats. A) BrdU and DCX immunoreactivities in the granular-subgranular and polymorphic zones at 15 days post-ischemia in treated and untreated rats (A, C). BrdU and GFAP in the granular-subgranular and polymorphic zones (B, C) at 15 days post-ischemia in treated and untreated rats. The error bars indicate the SEM.  $n=5$ ,  $p<0.05$  = \*;  $p<0.001$  = \*\*. All data are presented as mean  $\pm$  SEM. Representative images at bregma -2.56 mm. 10X. Scale bar = 100  $\mu$ m.

CDK5 is an effective form of protection against an ischemic event (7), preventing the excitotoxic spreading of glutamate by the reduction of calpain and CDK5 activation (12,20).

Complementarily, the present study suggests that the silencing of CDK5 in the hippocampus has positive consequences on the behaviour associated with the motor cortex (M1 and M2) and the sensory area (S1) (21-24) as the exploratory behaviour integrate the interaction of those areas in the spatial activity performed by the hippocampus (24-26), whisker movement through the motor cortex by M1 stimulation, which strongly innervates reticular nuclei containing cholinergic premotor neurons of the vibrissae and, in parallel, the sensory cortex S1, which innervates the trigeminal interpolar nuclei of brainstem and plays a role in the retraction of the whiskers and, in turn, in the sensitivity of the paretic side of the animals (25,26).

In addition, our recent observations support the influence of hippocampal CDK5 down-regulation on the neurological tasks and the performance of learning and memory functions, where the CDK5 RNAi avoids cell death on cingulate cortex and thalamus at one and four months post-ischemia (unpublished data); these cerebral areas are involved in motivation and motor control behaviours (27,28). Its mode of action also involves the BDNF/TRKB pathway and the restoration of long-term potentiation (LTP) dysfunction after stroke in the hippocampus at one-month post-ischemia (12,18).

On the other hand, BrdU has been widely used for labelling new-born cells and proliferation of different cell types. It has been shown that in cerebral ischemia the inclusion of BrdU is a marker of proliferation or neurogenesis in brain niches (29), which was confirmed in our observations. It is well known that CDK5 plays an important role in



**Figure 4.** CDK5 RNAi prevents astrogliosis at one-month post-ischemia. A) NeuN, BrdU and GFAP immunoreactivities in the granular-subgranular (A, B) and polymorphic (A, C) zones at 30 days post-ischemia in treated and untreated rats. The error bars indicate the SEM. All data are presented as mean $\pm$ SEM. Representative images at bregma -2.56 mm. n=5, p<0.05 = \*; p<0.001 = \*\*. 10X. Scale bar = 100  $\mu$ m

post-mitotic neurons, where its inhibition prevents immature neuron migration and progression to a mature stage in physiological conditions (30). But the cellular and molecular fate depend on the contexts and homeostatic balance between normal and pathological conditions (12,18).

In our findings, CDK5 silencing in ischemia increased the BrdU/DCX<sup>+</sup> cells, maybe because its reduction could regulate the re-entry in the cell cycle for a correct balance between Cdk6 and Cdk4 and the E2F1/CDK5 nuclear complex (31-36), or by the prevention of stem cell differentiation as CDK5 activity promotes neural differentiation through phosphorylation of the p27 protein in its 187-threonine residue (37). Moreover, CDK5 may phosphorylate to DCX, an immature neurons marker, in the 297-serine residue during migration (38). Therefore, our data would suggest that CDK5 RNAi induces DCX in an early stage, but it does not facilitate its migration and maturation since NeuN labelling was unmodified.

It has also been described that CDK5 RNAi induces the production of BDNF (14,18), a neurotrophic factor highly involved in neurogenesis, neuronal plasticity, and protection preventing proinflammatory response (39,40). The neuroprotective action of CDK5 RNAi increased activation of a typical plasticity pathway, the BDNF/ERK/CREB, and its action is dependent on the TRKB receptor activity (18,39,40,41). Also, ERK signalling has been widely described as a mediator of neuronal plasticity and survival in physiological and neurodegenerative contexts (41).

Those sequential cascades of CDK5 RNAi-induced survival and plasticity events could also be associated with the control of astrocytes reactivity. GFAP is a marker of astrogliosis on brain disease, and its proliferation is related to the adverse progression of brain impairment, pro-inflammatory response, lymphocytic infiltration, cytokines release, and neurovascular uncoupling (1,3,6). Interestingly, CDK5 knock-down could prevent the astrogliosis

in the short and long time post-injury, thus supporting the potential translation of CDK5 RNAi-based therapy (7,12,18,42,43).

On the other hand, when CDK5 levels are decreased in astroglial cells, BDNF is released from those cells protecting neurons (42) and endothelial cells in co-cultures (unpublished data), and recovering motor and neurological functions in ischemic rats (43).

Moreover, our data suggest that CDK5 RNAi induces proliferation of other types of cells besides neurons, which were not detected by our current approach. However, in agreement with our previous studies we have found that silencing of CDK5 induces an increase of endothelial cell marker PECAM1(43) and the adhesion cell protein p120ctn in the membrane of endothelial cells (unpublished data), suggesting that endothelial cells may be the other potential cell population involved in the CDK5 RNAi-induced neuroprotection. This is supported by the recovery of the neurovascular unit as we have suggested previously (6), and is reflected in the physiological recovery of the neurological performance (14,18,42,43).

In conclusion, our data suggest CDK5 reduction induces proliferation of immature neurons and blocks astrogliosis in the long-term after ischemic injury improving neurological function, which, together with previous scientific evidence, supports the potential translation of CDK5 RNAi-based gene therapy in acute and chronic neurodegeneration.

### Acknowledgments

We would like to thank Dr. Angel Céspedes-Rubio at the *Universidad de Tolima*, Colombia, and Jean Paul Delgado Charris, at *Universidad de Antioquia*, Colombia, for their recommendations during the development of this research. We also thank the support we received during our experiments from the *Grupo de Neurociencias de Antioquia*, *Área de Neurobiología Celular y Molecular*, *Facultad de Medicina*, *Universidad de Antioquia*.

### Conflicts of interest

The authors certify there is no conflict of interests regarding the institutions that financed and support this project.

### Funding

This research was funded by Colciencias (project 111554531400).

### References

1. Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4:399-415. <https://doi.org/10.1038/nrn1106>
2. Lo EH. Experimental models, neurovascular mechanisms and translational issues in stroke research. *Br J Pharmacol*. 2003;153(Suppl.1):S396-405. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707626>
3. Murphy TH, Corbett C. Plasticity during stroke recovery: From synapse to behavior. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10:861-72. <https://doi.org/10.1038/nrn2735>
4. Mehta SL, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain Res Rev*. 2007;54:34-66. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.11.003>
5. Baron JC, von Kummer R, del Zoppo GJ. Treatment of acute ischemic stroke. Challenging the concept of a rigid and universal time window. *Stroke*. 1995;26:2219-21. <https://doi.org/10.1161/01.STR.26.12.2219>
6. Posada-Duque RA, Barreto GE, Cardona-Gómez GP. Protection after stroke: Cellular effectors of neurovascular unit integrity. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:231. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00231>
7. Meyer DA, Torres-Altoro MI, Tan Z, Tozzi A, Di Filippo M, DiNapoli V, et al. Ischemic stroke injury is mediated by aberrant Cdk5. *J Neurosci*. 2014;34:8259-67. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4368-13.2014>
8. Chang KH, de Pablo Y, Lee HP, Lee HG, Smith MA, Shah K. Cdk5 is a major regulator of p38 cascade: Relevance to neurotoxicity in Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2010; 113:1221-9. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06687.x>
9. Lopes JP, Agostinho P. Cdk5: Multitasking between physiological and pathological conditions. *Prog Neurobiol*. 2011; 94:49-63. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.03.006>
10. Chang KH, Vincent F, Shah K. Deregulated Cdk5 triggers aberrant activation of cell cycle kinases and phosphatases inducing neuronal death. *J Cell Sci*. 2012;125:5124-37. <https://doi.org/10.1242/jcs.108183>
11. Meyer DA, Torres-Altoro MI, Tan Z, Tozzi A, Di Filippo M, DiNapoli V, et al. Ischemic stroke injury is mediated by aberrant Cdk5. *J Neurosci*. 2014;34:8259-67. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4368-13.2014>
12. Gutiérrez-Vargas JA, Múnera A, Cardona-Gómez GP. CDK5 knockdown prevents hippocampal degeneration and cognitive dysfunction produced by cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2015;35:1937-49. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.150>
13. Khaja AM, Grotta JC. Established treatments for acute ischemic stroke. *Lancet*. 2007;369:319-30. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60154-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60154-8)
14. Gutiérrez-Vargas JA, Muñoz-Manco JI, García-Segura LM, Cardona-Gómez GP. GluN2B N-Methyl-D-aspartic acid receptor subunit mediates atorvastatin-induced neuroprotection after focal cerebral ischemia. *J Neurosci Res*. 2014;92:1529-48. <https://doi.org/10.1002/jnr.23426>

15. **Piedrahita D, Hernández I, López-Tobón A, Fedorov D, Obara B, Manjunath BS, et al.** Silencing of CDK5 reduces neurofibrillary tangles in transgenic Alzheimer's mice. *J Neurosci.* 2010;30:13966-76. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3637-10.2010>
16. **Posada-Duque RA, López-Tobón A, Piedrahita D, González-Billault C, Cardona-Gómez GP.** p35 and Rac1 underlie the neuroprotection and cognitive improvement induced by CDK5 silencing. *J Neurochem.* 2015;134:354-70. <https://doi.org/10.1111/jnc.13127>
17. **Posada-Duque RA, Palacio-Castañeda V, Cardona-Gómez GP.** CDK5 knockdown in astrocytes provide neuroprotection as a trophic source via Rac1. *Mol Cell Neurosci.* 2015;68:151-66. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.07.001>
18. **Gutiérrez-Vargas JA, Moreno H, Cardona-Gómez GP.** Targeting CDK5 post-stroke provides long-term neuroprotection and rescues synaptic plasticity. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016;37:2208-23. <https://doi.org/10.1016/j.jcbs.2016.06.001>
19. **García JH, Wagner S, Liu KF, Hu XJ.** Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation. *Stroke.* 1995;26:627-35. <https://doi.org/10.1161/01.STR.26.4.627>
20. **Chang KH, Multani PS, Sun KH, Vincent F, de Pablo Y, Ghosh S, et al.** Nuclear envelope dispersion triggered by deregulated Cdk5 precedes neuronal death. *Mol Biol Cell.* 2011;22:1452-62. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-07-0654>
21. **Schmidt-Kastner R, Freund TF.** Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. *Neuroscience.* 1991;40:599-636. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90001-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90001-5)
22. **Jin K, Sun Y, Xie L, Peel A, Ou-Mao X, Bateau S, et al.** Directed migration of neuronal precursors into the ischemic cerebral cortex and striatum. *Mol Cell Neurosci.* 2003;24:171-89. [https://doi.org/10.1016/S1044-7431\(03\)00159-3](https://doi.org/10.1016/S1044-7431(03)00159-3)
23. **Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J.** The Hippocampus Book. First edition. Oxford Neuroscience Series. Oxford: Oxford University Press, Inc.; 2007. p. 872.
24. **Harrison TC, Silasi G, Boyd JD, Murphy TH.** Displacement of sensory maps and disorganization of motor cortex after targeted stroke in mice. *Stroke.* 2013;44:2300-6. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001272>
25. **Preston AR, Eichenbaum H.** Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Curr Biol.* 2013;23:R764-73. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.041>
26. **Petersen CC.** Cortical control of whisker movement. *Annu Rev Neurosci.* 2014;37:183-203. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062012-170344>
27. **Paus P.** Primate anterior cingulate cortex: Where motor control, drive and cognition interface. *Nat Rev Neurosci.* 2001;2:417-24. <https://doi.org/10.1038/35077500>
28. **Sherman SM.** Thalamus plays a central role in ongoing cortical functioning. *Nat Neurosci.* 2016;16:533-41. <https://doi.org/10.1038/nn.4269>
29. **Taupin P.** BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: Paradigms, pitfalls, limitations, and validation. *Brain Res Rev.* 2007;53:198-214. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.08.002>
30. **Legace DC, Benavides DR, Kansy JW, Mapelli M, Greengard P, Bibb JA, et al.** Cdk5 is essential for adult hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:18567-71. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810137105>
31. **Zhang J, Li H, Yabut O, Fitzpatrick H, D'Arcangelo G, Herrup K.** Cdk5 suppresses the neuronal cell cycle by disrupting the E2F1-DP1 complex. *J Neurosci.* 2010;30:5219-28. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5628-09.2010>
32. **Maestre C, Delgado-Esteban M, Gómez-Sánchez JC, Bolaños JP, Almeida A.** Cdk5 phosphorylates Cdh1 and modulates cyclin B1 stability in excitotoxicity. *EMBO J.* 2008;27:2736-45. <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.195>
33. **Artegiani B, Lindemann D, Calegari F.** Overexpression of Cdk4 and cyclin D1 triggers greater expansion of neural stem cells in the adult mouse brain. *J Exp Med.* 2011;208:937-48. <https://doi.org/10.1084/jem.20102167>
34. **Beukelaers P, Vandenbosch R, Caron N, Nguyen L, Belachew S, Moonen G, et al.** Cdk6-dependent regulation of G (1) length controls adult neurogenesis. *Stem Cells.* 2011;29:713-24. <https://doi.org/10.1002/stem.616>
35. **Veas-Pérez de Tudela M, Maestre C, Delgado-Esteban M, Bolaños JP, Almeida A.** Cdk5-mediated inhibition of APC/C-Cdh1 switches on the cyclin D1-Cdk4-pRb pathway causing aberrant S-phase entry of postmitotic neurons. *Sci Rep.* 2015;5:18180. <https://doi.org/10.1038/srep18180>
36. **Niu Y, Li H, Herrup K, Zhang J.** Neuronal cell cycle regulation of Cdk5 in Alzheimer's disease. *Brain Disord Ther.* 2012;S1:004. <https://doi.org/10.4172/2168-975X.S1-004>
37. **Zheng YL, Li BS, Rudrabhatla P, Shukla V, Amin ND, Maric D, et al.** Phosphorylation of p27Kip1 at Thr187 by cyclin-dependent kinase 5 modulates neural stem cell differentiation. *Mol Biol Cell.* 2010;21:3601-14. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-01-0054>
38. **Tanaka T, Serneo FF, Tseng HC, Kulkarni AB, Tsai LH, Gleeson JG.** Cdk5 phosphorylation of doublecortin ser297 regulates its effect on neuronal migration. *Neuron.* 2004;41:215-27. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00852-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00852-3)
39. **Park H, Poo MM.** Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci.* 2013;14:723. <https://doi.org/10.1038/nrn3379>
40. **Lu B, Nagappan G, Guan X, Pradeep JN, Wren P.** BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci.* 2013;14:401-16. <https://doi.org/10.1038/nrn3505>
41. **Fournier NM, Lee B, Banasr M, Elsayed M, Duman RS.** Vascular endothelial growth factor regulates adult hippocampal cell proliferation through MEK/ERK- and PI3K/Akt-dependent signaling. *Neuropharmacology.* 2012;63:642-52. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.04.033>
42. **Posada-Duque RA, Ramírez O, Härtel S, Inestrosa NC, Bodaleo F, González-Billault C, et al.** CDK5 down-regulation enhances synaptic plasticity. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74:153. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2333-8>
43. **Becerra-Calixto A, Cardona-Gómez GP.** Neuroprotection induced by transplanted CDK5 knockdown astrocytes in global cerebral ischemic rats. *Mol Neurobiol.* 2017;54:6681-96. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0162-2>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Utilización de dos antibióticos genéricos en un hospital de tercer nivel en Bogotá

José Julián López<sup>1</sup>, Yira Cortázar<sup>1</sup>, Ángela Acosta<sup>2</sup>,  
Claudia Marcela Vargas-Peláez<sup>3</sup>, Francisco Rossi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación de la Red para el Uso Adecuado de Medicamentos, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Instituto Suramericano de Gobierno en Salud, ISAGS, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>3</sup> Fundación IFARMA, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La política farmacéutica de Colombia establece la necesidad de intensificar la investigación en farmacoepidemiología a nivel nacional, especialmente en el caso de los antibióticos.

**Objetivo.** Aportar información farmacoepidemiológica en cuanto a la efectividad, las condiciones de uso y la seguridad de la cefepima y el meropenem genéricos en un hospital de alta complejidad en Bogotá.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio descriptivo, longitudinal y retrospectivo sobre la utilización de estos medicamentos. Los datos se recolectaron de todas las historias clínicas en las cuales se registraba el uso de cefepima y meropenem.

**Resultados.** Se incluyeron 82 pacientes tratados con cefepima y 91 con meropenem. La mayoría de ellos había estado internada en servicios diferentes a la unidad de cuidados intensivos (59,8 % con cefepima y 52,7 % con meropenem). El 21,9 % de los tratados con cefepima y el 49 % de los tratados con meropenem, tuvieron consulta con un infectólogo, en tanto que en 47 % de los primeros y en 78 % de los segundos, se hizo cultivo o antibiograma. Las condiciones más frecuentemente tratadas con cefepima fueron las infecciones de vías respiratorias (32,5 %) y, con meropenem, las infecciones genitourinarias (34,8 %). Las tasas de éxito terapéutico fueron de 61,7 % para la cefepima y de 63,0 % para el meropenem.

**Conclusiones.** Este estudio aporta información sobre el desempeño terapéutico de dos antibióticos genéricos de uso hospitalario. No hubo reportes de falla terapéutica durante el periodo de estudio. En los casos en que no hubo respuesta al tratamiento, las causas frecuentes fueron las alteraciones farmacocinéticas, las condiciones clínicas desfavorables y la elección inadecuada del tratamiento antimicrobiano.

**Palabras clave:** antibacterianos; medicamentos genéricos; utilización de medicamentos, cefalosporinas, tienamicinas, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3831>

### Drug utilization study of two generic antibiotics in a tertiary hospital in Bogotá

**Introduction:** The Colombian national pharmaceutical policy establishes as a strategy the generation of greater pharmaco-epidemiological research at the national level, especially in the case of antibiotic drugs.

**Objective:** To provide local pharmaco-epidemiological evidence regarding the effectiveness, conditions of use and safety of generic meropenem and cefepime in a tertiary hospital in Bogotá.

**Materials and methods:** We conducted a descriptive, longitudinal and retrospective drug utilization study. The data were collected from the medical histories of all the patients who had cefepime or meropenem prescribed.

**Results:** We included 82 patients treated with cefepime and 91 treated with meropenem in the study. Most of the patients were in services different from the intensive care unit (taking cefepime: 59.8%, and meropenem: 52.7%). Only 21.9% of the patients treated with cefepime and 49% of those treated with meropenem were seen by an infectious disease specialist. The antibiogram was performed for 47% and 60% of the patients treated with cefepime and meropenem, respectively. The most frequent indication for cefepime were respiratory infections and for meropenem, genitourinary ones. Therapeutic success rates were 61.7% for cefepime and 63.0% for meropenem.

#### Contribución de los autores:

José Julián López, Ángela Acosta y Francisco Rossi: diseño del estudio

Yira Cortázar: recolección de los datos

Todos los autores participaron en el análisis de los datos y la escritura del manuscrito.

**Conclusions:** This study contributes evidence regarding the therapeutic performance of two generic antibiotics used in tertiary hospitals. There were no reports of therapeutic failure during the study period. In the cases of non-response, pharmacokinetic alterations, unfavorable clinical conditions, and inappropriate choice of antimicrobial treatment were identified as frequent factors.

**Key words:** Anti-bacterial agents; drugs, generic; drug utilization; cephalosporins; thienamycins; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3831>

Los medicamentos han contribuido a disminuir notablemente la mortalidad, han reducido los períodos de hospitalización y han propiciado una mejor calidad de vida en millones de personas. Sin embargo, también deben reconocerse sus consecuencias negativas y el problema emergente de su uso inadecuado, lo cual ha resultado en el aumento de la morbilidad y la mortalidad debido a la medicalización excesiva, la utilización simultánea de múltiples medicamentos y el aumento de la incidencia de las reacciones adversas a medicamentos (1).

En el caso particular de los antibióticos, y ante el surgimiento cada vez más frecuente de microorganismos resistentes a los productos disponibles, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto estrategias como el Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia Antimicrobiana, en la cual se plantean retos importantes en materia sanitaria con relación a la forma de abordar las acciones que mitiguen o eliminen el problema. Este plan de acción establece como una prioridad la recolección de información sobre la utilización de los medicamentos en el ámbito clínico (2).

La información recabada en estudios en modelos animales en los últimos 10 años en Colombia, sugiere que el comportamiento de los productos genéricos no es igual al de los llamados innovadores (3,4) y que, con los primeros, la aparición de resistencia es más rápida y más grave. Aunque el valor de estos estudios se ha puesto en duda en diversos ámbitos académicos internacionales (Acosta A, Rossi F, López J. Descripción de evidencia publicada a la fecha en Suramérica de estudios que evalúan la eficacia *in vivo* de antibióticos genéricos. Póster: XII Encuentro Internacional de Farmacovigilancia; 11 de noviembre de 2015; Medellín, Colombia) (5,6), siguen teniendo repercusiones en la práctica clínica local (7).

En la práctica clínica, sin embargo, la efectividad de un antibiótico depende de factores como las características clínicas del paciente (edad, sexo), el diagnóstico y la condición clínica (estado nutricional, comorbilidades), las características de la infección (microorganismo, perfil de resistencia) y las prácticas de prescripción (8). Por esta razón, es importante documentar los patrones de su utilización (prescripción, dispensación y administración), con el fin de evidenciar las posibles causas de sus efectos positivos y negativos (9). En este contexto, los estudios de utilización de medicamentos cobran relevancia como un “campo multidisciplinario de investigación, tanto básica como aplicada, que examina condiciones de uso, costo, calidad, accesibilidad, dispensación, administrativas y financieras de los medicamentos, así como sus resultados en prestación de servicios de salud con el objeto de incrementar el conocimiento y facilitar la comprensión de la estructura, procesos y efectos de la prestación de servicios de salud en individuos y poblaciones” (10).

En el campo de este tipo de estudios, se han desarrollado nuevos métodos de investigación que exploran el efecto del uso de los medicamentos en las poblaciones. En este sentido, los investigadores académicos, la industria farmacéutica y las agencias reguladoras han aplicado métodos epidemiológicos para generar información cierta que contribuya al uso seguro de los medicamentos, entendiendo la epidemiología como el estudio de la distribución y los factores determinantes de la enfermedad en una población (1).

En ese contexto, el objetivo del presente estudio fue aportar información farmacoepidemiológica local en cuanto a la efectividad, las condiciones de uso y la seguridad del meropenem y la cefepima, en un hospital de alta complejidad en Bogotá.

## Materiales y métodos

Se desarrolló un estudio observacional, descriptivo y longitudinal para hacer seguimiento a la utilización de dos antibióticos de administración parenteral en el hospital seleccionado. La información se recolectó de forma retrospectiva, mediante la revisión consecutiva de las historias clínicas.

### Correspondencia:

Francisco Rossi, Carrera 13 N° 32-51, torre 3, oficina 1115, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 338 1490  
[frossi@ifarma.org](mailto:frossi@ifarma.org)

Recibido: 17/04/17; aceptado: 21/03/18

Se estimó un tamaño de muestra de 82 pacientes, utilizando la herramienta de cálculo de muestra de OpenEpi para proporciones y tomando como parámetros una prevalencia esperada de falla terapéutica del 50 %, un error de tipo I del 10 % y, para compensar posibles pérdidas, un 20 % adicional de individuos.

El periodo de estudio para la cefepima fue del 1° de julio del 2015 al 29 de febrero del 2016 y, para el meropenem, entre el 1° y el 31 de octubre del 2015. Se incluyeron todos los pacientes que habían recibido uno de los dos antibióticos en estudio.

Para caracterizar a los pacientes, se recolectó información sobre variables sociodemográficas (edad y sexo), microbiológicas (tipo de microorganismo, perfil de resistencia) y clínicas, entre las que se incluyeron, el diagnóstico infeccioso y las comorbilidades que deterioran el sistema inmunitario (cáncer, diabetes mellitus, desnutrición, alcoholismo, trasplante renal) o que pueden alterar la farmacocinética (falla renal, deshidratación, obesidad), así como los procedimientos invasivos. Asimismo, se recopiló información sobre la especialidad del médico que prescribía (prescriptor), las dosis, la duración del tratamiento, la línea de uso del antibiótico (profilaxis, primera, segunda o tercera línea), los medicamentos usados concomitantemente, y la aparición de reacciones adversas. Las potenciales interacciones medicamentosas se analizaron utilizando la información disponible en la base de datos Micromedex®.

Se definió como éxito del tratamiento antibiótico, su suspensión por cualquiera de las siguientes causas: paso a la administración por vía oral habiendo dado de alta al paciente o no, y mejoría clínica o microbiológica documentada en la historia clínica. La falla terapéutica se consideró cuando se había presentado choque séptico, necesidad de prescribir otro u otros antibióticos intravenosos sin evidencia de resistencia, el traslado a un servicio de mayor complejidad por causas asociadas con la infección, o la muerte por alguna complicación infecciosa o por otras causas. Los casos de fracaso terapéutico se analizaron de manera individual, utilizando el algoritmo de Vaca, et al. (11). Al calcular las tasas de éxito o falla terapéutica, no se consideraron aquellos casos en que el diagnóstico de la infección no había sido confirmado clínica o microbiológicamente, ni aquellos en los que el cambio de antibiótico había sido consecuencia de los resultados del antibiograma (detección de microorganismos 'multisensibles' o resistencia a los antibióticos estudiados).

Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva y los resultados se expresaron en frecuencias porcentuales absolutas y relativas. Además, se hizo un análisis bivariado exploratorio para estimar la razón de momios (*odds ratio*, OR) y el intervalo de confianza del 95 % entre la falla terapéutica y algunas variables posiblemente asociadas, utilizando el programa OpenEpi (disponible en <http://www.openepi.com/TwoByTwo/TwoByTwo.htm>).

Para controlar los sesgos, se diseñó una herramienta de recolección de datos sometida a una prueba piloto con las historias clínicas no incluidas en la muestra, la cual se ajustó según los resultados. Un profesional de la salud entrenado en este campo calibró la digitación de la información; para evitar la fatiga, se dio el entrenamiento adecuado y se estableció un tiempo de recolección. Además, para controlar los factores de confusión, se estratificaron las variables que así lo requirieron.

### Consideraciones éticas

En este tipo de investigación se observa a los participantes y se recopilan los datos de sus historias clínicas, por lo que no implica ninguna intervención ni modificación intencionada de variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales en seres humanos; se clasificó como una investigación sin riesgo según la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia. El protocolo para mantener la integridad de la información fue aprobado por los comités de investigaciones y de ética de las instituciones participantes. El estudio se ajustó a los lineamientos Internacionales de investigación de la Declaración de Helsinki y del informe Belmont.

### Resultados

Las características de los pacientes incluidos en este estudio, se describen en el cuadro 1. En ambos grupos, hubo predominio del sexo femenino. La mayoría de los pacientes tratados con meropenem (60,4 %) tenía entre 18 y 65 años, en tanto que, en el caso de la cefepima, su uso fue más frecuente en niños entre los 0 y los 5 años (36,6 %). Se observó un uso frecuente de cefepima (40,2) y meropenem (47,3 %) en las unidades de cuidados intensivos.

En cuanto a las comorbilidades que pueden afectar el sistema inmunitario o la farmacocinética de los antibióticos, se encontró que la desnutrición fue la condición más frecuente en los pacientes tratados con cefepima (23,3 %) y, la diabetes mellitus, en los tratados con meropenem (18,7 %).

**Cuadro 1.** Características de los pacientes incluidos en el estudio

| Variable                      | Cefepima (n=82) |      | Meropenem (n=91) |      |
|-------------------------------|-----------------|------|------------------|------|
|                               | n               | %    | n                | %    |
| Edad (años)                   |                 |      |                  |      |
| Promedio                      | 33,4 ± 30,5     |      | 50,1 ± 23,7      |      |
| 0 a 5                         | 30              | 36,6 | 9                | 9,9  |
| 6 a 17                        | 6               | 7,3  | 3                | 3,3  |
| 18 a 65                       | 30              | 36,6 | 55               | 60,4 |
| >65                           | 16              | 19,5 | 24               | 26,4 |
| Sexo                          |                 |      |                  |      |
| Masculino                     | 48              | 58,5 | 56               | 61,5 |
| Femenino                      | 34              | 41,5 | 35               | 38,5 |
| Servicio                      |                 |      |                  |      |
| Unidad de cuidados intensivos | 33              | 40,2 | 43               | 47,3 |
| Otro servicio                 | 49              | 59,8 | 48               | 52,7 |
| Comorbilidades*               |                 |      |                  |      |
| Falla renal                   | 6               | 7,3  | 8                | 8,8  |
| Diabetes mellitus             | 9               | 11,0 | 17               | 18,7 |
| Cáncer                        | 3               | 3,7  | 13               | 14,3 |
| Desnutrición                  | 19              | 23,2 | 4                | 4,4  |
| Deshidratación                | 11              | 13,4 | 9                | 9,9  |
| Falla hepática                | 0               | 0,0  | 0                | 0,0  |
| Alcoholismo                   | 3               | 3,7  | 1                | 1,1  |
| VIH/sida                      | 4               | 4,9  | 2                | 2,2  |
| Trasplante renal              | 0               | 0,0  | 0                | 0,0  |
| Edema                         | 16              | 19,5 | 13               | 14,3 |
| Otra                          | 7               | 8,5  | 3                | 3,3  |
| Ninguna                       | 26              | 31,7 | 21               | 23,1 |
| Procedimientos invasivos      |                 |      |                  |      |
| Dos o más procedimientos      | 38              | 46,3 | 51               | 56,0 |
| Solo un procedimiento         | 44              | 53,7 | 40               | 44,0 |
| Ninguno                       | 0               | 0,0  | 0                | 0,0  |
| Promedio                      | 33,4 ± 30,5     |      | 50,1 ± 23,7      |      |

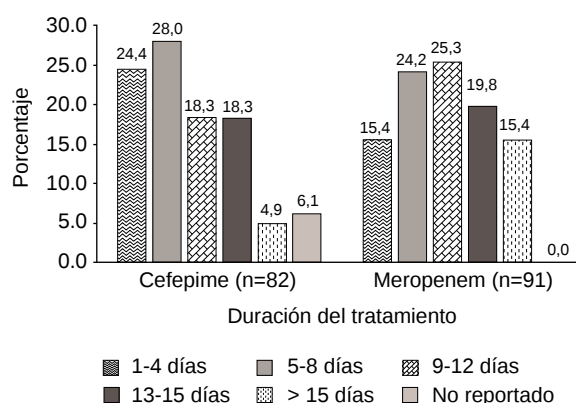
\*Los pacientes podían presentar más de una comorbilidad

La proporción de pacientes que no presentaba ninguna de las enfermedades consideradas fue de 31,7 % en quienes recibían cefepima y de 23,1 % en quienes recibían meropenem. Por último, el 53,7 % de los tratados con cefepima había tenido un procedimiento invasivo y, el 56 % de los tratados con meropenem, dos o más (cuadro 1).

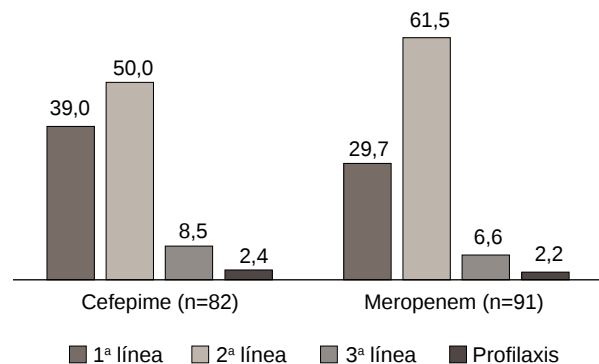
La duración del tratamiento con cefepima en la mayoría (52,4 %) de los pacientes, fue de hasta siete días (media: 8,5; desviación estándar, DE=5,5), en tanto que, en el caso del meropenem, la mayor parte de ellos (64,9%) lo recibió hasta por 12 días (media=10,4; DE=5,6) (figura 1). Las dosis utilizadas de cefepima se ajustaron según el peso corporal en los pacientes pediátricos, pero no se registraron ajustes de las dosis de ninguno de los antibióticos en los pacientes con alteración de la función renal o con alteraciones farmacocinéticas (edema, desnutrición o deshidratación).

El consumo mensual de meropenem fue de 1.220,3 dosis diarias definidas (DDD) por mes (1,42 DDD/paciente-día). En el caso de la cefepima, en 13 de las 82 historias clínicas revisadas no constaban los datos completos del régimen antibiótico (dosis, frecuencia y días de tratamiento). Su consumo en los 69 pacientes restantes fue de 793 DDD/mes (0,05 DDD/paciente-día) y fue prescrita principalmente por médicos pediatras (35,4 %) y médicos internistas (15,9 %), en tanto que el meropenem lo fue por cirujanos (26,4 %) e internistas (17,6 %) (cuadro 2).

Los dos antibióticos se usaron más frecuentemente como segunda línea de tratamiento, en tanto que su indicación para profilaxis fue poco frecuente (figura 2). Solamente el 21,9 % de los tratados con cefepima y el 49 % de los tratados con meropenem, tuvieron consulta con un infectólogo. Además, se hizo cultivo o antibiograma para la

**Figura 1.** Duración del tratamiento antibiótico (%)**Cuadro 2.** Especialidad del prescriptor del antibiótico

| Especialidad del prescriptor | Cefepima (n=82) |       | Meropenem (n=91) |       |
|------------------------------|-----------------|-------|------------------|-------|
|                              | n               | %     | n                | %     |
| Internista                   | 13              | 15,9  | 16               | 17,6  |
| Cirujano                     | 3               | 3,7   | 24               | 26,4  |
| Gineco-obstetra              | 1               | 1,2   | 0                | 0,0   |
| Infectólogo                  | 7               | 8,5   | 3                | 3,3   |
| Intensivista                 | 3               | 3,7   | 2                | 2,2   |
| Ortopedista                  | 1               | 1,2   | 0                | 0,0   |
| Pediatra                     | 29              | 35,4  | 6                | 6,6   |
| Urólogo                      | 5               | 6,1   | 4                | 4,4   |
| Médico general               | 11              | 13,4  | 15               | 16,5  |
| Oncólogo                     | 1               | 1,2   | 1                | 1,1   |
| Nefrólogo                    | 0               | 0,0   | 1                | 1,1   |
| Neurólogo                    | 0               | 0,0   | 2                | 2,2   |
| Otro                         | 8               | 9,8   | 17               | 18,7  |
| Total                        | 82              | 100,0 | 91               | 100,0 |



**Figura 2.** Línea de tratamiento en la que se usaron los antibióticos (%)

identificación del microorganismo en 47 % de los tratados con cefepima y en 78 % de los tratados con meropenem. El uso de otro antibiótico simultáneo con algunos de los dos en estudio, se registró en 52 de los pacientes (63,4 %) tratados con cefepima y en 41 (45,1 %) de los tratados con meropenem. Los antibióticos más frecuentemente utilizados simultáneamente con la cefepima, fueron la clindamicina (n=21; 40,4 %) y la vancomicina (n=18; 34,6 %); y en el caso del meropenem, la vancomicina (n=17; 41,5 %), la amikacina (n=5; 12,2 %) y la tigeciclina (n=5; 12,2 %).

La mayoría de las infecciones tratadas con cefepima fueron respiratorias (n=26; 32,5 %) y, con meropenem, genitourinarias (n=31; 34,8 %). La mayoría de las infecciones habían sido adquiridas en la comunidad, en 46 (63,9 %) de los tratados con cefepima y en 65 (73 %) de los tratados con meropenem. Menos de la mitad de las infecciones tratadas con cefepima (n=28; 38,9 %) habían sido confirmadas microbiológicamente, en tanto que el uso de meropenem se registró con mayor frecuencia (n=15; 16,9 %) en los casos en que no había evidencia microbiológica de infección (n=15; 16,9 %). En las infecciones tratadas con los dos antibióticos, el microorganismo más frecuentemente identificado como agente causal fue *Escherichia coli*.

En 15 (51,7 %) del grupo con cefepima y en 33 (56,9 %) del grupo con meropenem fue frecuente detectar resistencia a los antibióticos en los antibiogramas, aunque se detectó un mayor número (6 casos) de resistencia específica con la cefepima (cuadro 3). En seis pacientes tratados con cefepima y en uno tratado con meropenem, se cambió el antibiótico al detectarse organismos resistentes o 'multisensibles' en los antibiogramas.

En cuanto a las potenciales interacciones, se encontró una de carácter mayor de la cefepima con la warfarina (incremento del riesgo de hemorragias) y otra de carácter menor con la furosemida (incremento de la toxicidad de la furosemida). En el caso del meropenem, se detectó una potencial interacción significativa entre este y el ácido valproico, así como con la betametildigoxina (incremento en la toxicidad del ácido valproico y de la betametildigoxina). En ninguno de estos casos, las potenciales interacciones comprometieron la actividad de los antibióticos involucrados. No se encontraron reportes de reacciones adversas relacionadas con los antibióticos en las historias clínicas.

**Cuadro 3.** Características de las infecciones de los pacientes tratados con los antibióticos en estudio

| Variable                            | Cefepima        |      | Meropenem       |      |
|-------------------------------------|-----------------|------|-----------------|------|
|                                     | n               | %    | n               | %    |
| Sitio de infección <sup>a</sup>     | n=80            |      | n=89            |      |
| Intraabdominal                      | 1               | 1,3  | 10              | 11,2 |
| Respiratoria                        | 26              | 32,5 | 8               | 9,0  |
| Genitourinaria                      | 15              | 18,8 | 31              | 34,8 |
| Tejidos blandos                     | 2               | 2,5  | 13              | 14,6 |
| Bacteriemia/sepsis                  | 12              | 15,0 | 22              | 24,7 |
| Otra                                | 18              | 22,5 | 6               | 6,7  |
| No reportada                        | 8               | 10,0 | 0               | 0,0  |
| Tipo de infección                   | n=72            |      | n=89            |      |
| Adquirida en la comunidad           | 46              | 63,9 | 65              | 73,0 |
| Asociada al cuidado                 | 26              | 36,1 | 24              | 27,0 |
| Evidencia de infección              | n=72            |      | n=89            |      |
| Infección con prueba microbiológica | 28              | 38,9 | 72              | 80,9 |
| Infección clínicamente documentada  | 38              | 52,8 | 2               | 2,2  |
| Sin evidencia de infección          | 6               | 8,3  | 15              | 16,9 |
| Microorganismo aislado <sup>b</sup> | n=29            |      | n=58            |      |
| <i>Escherichia coli</i>             | 13              | 44,8 | 14              | 24,1 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>        | 4               | 13,8 | 10              | 17,2 |
| <i>Proteus mirabilis</i>            | 4               | 13,8 | 2               | 3,4  |
| Otros                               | 4               | 13,8 | 12              | 20,7 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>        | 2               | 6,9  | 2               | 3,4  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>       | 2               | 6,9  | 10              | 17,2 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>   | 0               | 0,0  | 4               | 6,9  |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>       | 0               | 0,0  | 2               | 3,4  |
| <i>Enterobacter cloacae</i>         | 0               | 0,0  | 2               | 3,4  |
| Evidencia de resistencia            | n=29            |      | n=58            |      |
| Microorganismo resistente           | 15 <sup>c</sup> | 51,7 | 33 <sup>d</sup> | 56,9 |
| Microorganismo no resistente        | 10              | 34,5 | 12              | 20,7 |
| Microorganismo no desafiado         | 4               | 13,8 | 13              | 22,4 |

<sup>a</sup> Los pacientes podían tener más de una infección; <sup>b</sup> Los pacientes podían presentar más de un microorganismo; <sup>c</sup> Seis con resistencia a cefepima; <sup>d</sup> Tres con resistencia a meropenem

En cuanto a los resultados terapéuticos, se observó que en 61,7 % de los pacientes con diagnóstico confirmado de infección tratados con cefepima y en 63,0 % de los tratados con meropenem, el tratamiento tuvo éxito. En el cuadro 4 se presenta la distribución de los resultados evaluados.

Tras la aplicación del algoritmo de Vaca, *et al.* (9), para analizar fallas terapéuticas, se encontró que entre los pacientes que la presentaron, 21 de los 22 tratados con cefepima y 14 de los 22 tratados con meropenem presentaban comorbilidades que alteraban la farmacocinética o enfermedades que afectaban el sistema inmunitario. Además, todos los pacientes tratados con uno de los dos antibióticos y que presentaron falla terapéutica, habían sido sometidos por lo menos a un procedimiento invasivo.

En el análisis estadístico pudo observarse que la influencia de los factores analizados fue diferente según los antibióticos estudiados. Solamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el caso del meropenem en cuanto a la edad y, en el de la cefepima, en cuanto a la presencia de condiciones clínicas que afectan la reacción al tratamiento antibiótico (cuadro 5).

## Discusión

En la política farmacéutica nacional formulada en el 2012, se reconoció que el uso inadecuado de los antibióticos y su relación con el surgimiento de resistencia microbiana es un desafío para la salud en Colombia. En ese marco se definió la estrategia de desarrollar proyectos de investigación en farmacoepidemiología. A diferencia de los ensayos clínicos, en los cuales los medicamentos se emplean bajo condiciones controladas, garantizando su disponibilidad y un seguimiento acucioso del paciente, los llamados “estudios de vida real” o *real world data* permiten recopilar información sobre los resultados y la efectividad de los medicamentos en el uso cotidiano, situación en la cual los límites de los criterios de inclusión y de exclusión, así como las condiciones de seguimiento, son diferentes a las de los estudios clínicos aleatorizados (12).

En la revisión hecha en este caso, no se encontraron estudios sobre la utilización del meropenem y la cefepima en Colombia, y fueron escasos aquellos con un diseño similar al de este. En el caso del meropenem, según el estudio de Angkasekwini, *et al.*, en Tailandia, la tasa de éxito terapéutico se situó entre 63 y 70 % Vs. 63 % en el presente estudio (13). En cuanto a la cefepima, en el estudio

**Cuadro 4.** Resultados de los tratamientos antibióticos

| Resultado                                | Cefepima<br>(n=60) | Meropenem<br>(n=73) |
|------------------------------------------|--------------------|---------------------|
| Éxito terapéutico                        | 37 (61,7 %)        | 46 (63,0 %)         |
| Dado de alta                             | 17                 | 12                  |
| Mejoría clínica                          | 17                 | 29                  |
| Mejoría microbiológica                   | 1                  | 0                   |
| Traslado a un servicio<br>menos complejo | 2                  | 4                   |
| Otro                                     | 0                  | 1                   |
| Falla terapéutica                        | 22 (37,7 %)        | 22 (30,1 %)         |
| Escalonamiento IV                        | 15                 | 13                  |
| Muerte por otras causas                  | 7                  | 8                   |
| Muerte por choque séptico                | 0                  | 0                   |
| Choque séptico                           | 0                  | 1                   |
| Sin información sobre el<br>resultado    | 1 (1,6 %)          | 5 (6,9 %)           |

de Badaró, *et al.*, en Brasil, se reportó una tasa de éxito terapéutico del 90 %, mayor de la encontrada en el presente estudio (14), diferencia que podría deberse a una mayor probabilidad de resistencia a este antibiótico en la institución estudiada, con un mayor número reportado de casos de resistencia específica. Cabe destacar que esta comparación de resultados tiene un alcance limitado, ya que la práctica clínica puede variar de un país a otro.

Los resultados de este estudio también evidenciaron algunas prácticas en el uso clínico de los antibióticos que pueden considerarse poco adecuadas, entre ellas, la falta de consulta con el infectólogo, así como el hecho de que no se hicieron cultivos o antibiogramas en casos en que la situación clínica del paciente lo permitía, medidas estas que hubieran facilitado la adopción de la mejor opción de tratamiento antibiótico. También, llamó la atención el uso de estas alternativas de tratamiento como profilaxis; el que no se registraron los diagnósticos de infección a pesar del uso y el escalonamiento de los antibióticos; el uso de antibióticos en casos de infecciones virales o fúngicas, así como la gran frecuencia del uso de dos o más antibióticos simultáneamente, todo lo cual puede aumentar el riesgo de resistencia bacteriana y comprometer la posibilidad de hacer un seguimiento del uso de los antibióticos a nivel institucional.

Aunque en Colombia la regulación exige la conformación de los llamados comités institucionales de infecciones como una estrategia para garantizar el uso adecuado de los antibióticos, aún existen falencias, como la falta de estandarización de los procesos de vigilancia, y la poca capacitación del personal encargado de la vigilancia y del

**Cuadro 5.** Análisis estadístico

| Características                                                   | Cefepima (n=59) |       |            |                        | Meropenem (n=68) |       |                |                        |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|------------|------------------------|------------------|-------|----------------|------------------------|
|                                                                   | Éxito           | Falla | Odds ratio | Intervalo de confianza | Éxito            | Falla | Odds ratio     | Intervalo de confianza |
| Sexo                                                              |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Femenino                                                          | 18              | 8     | 1,66       | 0,56 – 4,89            | 20               | 8     | 1,35           | 0,47 – 3,83            |
| Masculino                                                         | 19              | 14    |            |                        | 26               | 14    |                |                        |
| Edad (años)                                                       |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Hasta 60                                                          | 8               | 7     | 0,59       | 0,18 – 1,94            | 33               | 9     | 3,67*          | 1,26 – 10,64           |
| Mayor de 60                                                       | 29              | 15    |            |                        | 13               | 13    |                |                        |
| Índice de masa muscular, IMC (kg/m <sup>2</sup> )                 |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| IMC hasta 20                                                      | 18              | 8     | 1,66       | 0,56 – 4,89            | 10               | 3     | 1,76           | 0,43 – 7,17            |
| IMC >20                                                           | 19              | 14    |            |                        | 36               | 19    |                |                        |
| Procedimientos invasivos                                          |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Sin procedimientos                                                | -               | -     | 0,43       | 0,15 – 1,29            | -                | -     | 1,11           | 0,40 – 3,11            |
| Un procedimiento <sup>a</sup>                                     | 16              | 14    |            |                        | 20               | 9     |                |                        |
| Dos procedimientos o más                                          | 21              | 8     |            |                        | 26               | 13    |                |                        |
| Condiciones que afectaron la reacción al antibiótico <sup>b</sup> |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Sí                                                                | 18              | 21    | 0,05*      | 0,005 – 0,37           | 33               | 18    | 0,56           | 0,16 – 1,99            |
| No                                                                | 19              | 1     |            |                        | 13               | 4     |                |                        |
| Servicio                                                          |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Unidad de cuidados intensivos                                     | 14              | 12    | 0,51       | 0,17 – 1,48            | 17               | 10    | 0,70           | 0,25 – 1,97            |
| Otro servicio                                                     | 23              | 10    |            |                        | 29               | 12    |                |                        |
| Intención de tratamiento                                          |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Primera línea                                                     | 15              | 10    | 0,82       | 0,28 – 2,37            | 26               | 14    | 0,74           | 0,26 – 2,12            |
| Segunda/tercera línea                                             | 22              | 12    |            |                        | 20               | 8     |                |                        |
| Antibiograma                                                      |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Sí                                                                | 25              | 10    | 2,50       | 0,85 – 7,40            | 44               | 22    | - <sup>c</sup> | -                      |
| No                                                                | 12              | 12    |            |                        | 2                | 0     |                |                        |
| Consulta con infectólogo                                          |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Sí                                                                | 9               | 5     | 1,09       | 0,31 – 3,81            | 26               | 12    | 1,08           | 0,39 – 3,01            |
| No                                                                | 28              | 17    |            |                        | 20               | 10    |                |                        |
| Uso simultáneo de varios antibióticos                             |                 |       |            |                        |                  |       |                |                        |
| Sí                                                                | 22              | 17    | 0,43       | 0,13 – 1,42            | 23               | 10    | 1,20           | 0,43 – 3,32            |
| No                                                                | 15              | 5     |            |                        | 23               | 12    |                |                        |

<sup>a</sup> Referencia para los cálculos; <sup>b</sup> Condiciones que afectan la farmacocinética del antibiótico y condiciones clínicas que comprometen la reacción inmunitaria del paciente; <sup>c</sup> No fue posible calcular la OR por el valor cero; \* p<0,05

diseño de los programas de seguimiento del uso de los antibióticos a nivel institucional (15,16). El fortalecimiento de dichos comités (17), además de otras estrategias como la definición de protocolos institucionales para el uso de antibióticos con participación de los prescriptores (18) y una mayor participación de los infectólogos en la atención del paciente (19), pueden contribuir a reducir el uso inapropiado de los antibióticos y prevenir la aparición de la resistencia microbiana, según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (19).

En este trabajo fue particularmente llamativo el que no se encontraran reportes de falla terapéutica o de reacción adversa a los medicamentos, a pesar de que en un porcentaje de casos no se consiguieron los resultados esperados. Una de las razones que ayuda a explicar este hecho sería

la poca disposición de los médicos a diligenciar los informes de farmacovigilancia que, en buena medida, se debe al desconocimiento de su necesidad y utilidad (20,21). Asimismo, puede ser que, en pacientes con infecciones graves y compromiso inmunológico o una gran probabilidad de resistencia, los médicos esperan proporciones de fracaso terapéutico importantes y, por ello, no percibirían como una “falla terapéutica que debe reportarse” el que no se obtengan los resultados clínicos esperados.

Para poder determinar la naturaleza de las fallas terapéuticas en cerca de la tercera parte de los pacientes, se utilizó el algoritmo de Vaca, et al. (11), en el cual se establecen ocho factores relacionados con el resultado (falla terapéutica). Estos factores se evalúan planteando preguntas sobre el comportamiento del factor de riesgo cuyas

respuestas permiten describir el comportamiento del medicamento en las condiciones de uso señaladas en los registros, con el fin de determinar la causalidad entre la existencia del factor y los resultados terapéuticos obtenidos.

El algoritmo debe aplicarse a cada registro de manera individual. En este caso, al evaluar la causalidad de la falla terapéutica con productos farmacéuticos de la misma tecnología, las características de la cinética del medicamento serán las mismas en todos los casos. En este sentido, el algoritmo hace referencia a si la cinética del fármaco es de naturaleza compleja y si a ella se puede atribuir la falla terapéutica o no. En el caso de los antibióticos en estudio, su administración por vía parenteral permite una absorción completa y se presenta un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) que aumenta proporcionalmente al incrementar la dosis, lo cual permite establecer cuáles fármacos siguen una cinética lineal. La eliminación se da principalmente por vía renal, casos en que se puede recuperar entre el 60 y el 80 % del fármaco intacto en la orina (22), con lo cual se puede descartar que los antibióticos estudiados respondieran a un modelo farmacocinético complejo y policompartimental relacionado con la posible falla terapéutica.

Entre los elementos que pueden alterar la reacción al tratamiento antibiótico, se encuentran condiciones específicas como desnutrición, edema, deshidratación, diabetes y falla renal. En este último caso, los fármacos son eliminados por el riñón. Dicha vía y la falla alteran la depuración basal, lo que requiere de un ajuste de dosis, con el fin de no generar depósitos del fármaco que puedan provocar toxicidad por su concentración en el organismo.

Dado que ningún medicamento ha mostrado una eficacia del 100 % en los ensayos clínicos, ni una efectividad plena en la práctica clínica, incluso cuando se utiliza en las dosis adecuadas y siguiendo las indicaciones previstas (23), los resultados del presente estudio ponen en evidencia que la eficacia de los antibióticos usados hospitalariamente depende de una compleja interacción de las características de los pacientes, de los microorganismos y de los fármacos, como lo han sugerido McKinnon, *et al.* (8).

Este estudio aporta información sobre el desempeño terapéutico de antibióticos empleados en los hospitales, la cual puede resultar útil en la discusión en torno de asuntos controversiales como

las diferencias en la eficacia terapéutica de los medicamentos genéricos (*in vitro* y en modelos animales) comparados con aquellos desarrollados con tecnología de avanzada.

En las historias clínicas revisadas, no se registraron reacciones adversas a medicamentos ni reportes de falla terapéutica con el uso de los antibióticos estudiados. En los casos en que no hubo reacción terapéutica, se presentaron factores como alteraciones farmacocinéticas que pudieron haber modificado los índices de farmacocinética y farmacodinámica, condiciones clínicas desfavorables y una elección inadecuada del tratamiento antimicrobiano. En este sentido, se detectaron casos de utilización profiláctica (no quirúrgica), sin diagnóstico confirmado de la infección, así como prescripciones hechas por médicos generales.

### Conflicto de intereses

Los autores manifiestan que no tienen conflictos de intereses con respecto al estudio.

### Financiación

El laboratorio Farmalógica, propietario de los derechos comerciales de los productos estudiados, hizo una donación a la Fundación IFARMA, con el fin de apoyar la realización del presente estudio. El financiador no participó en ninguna de las etapas de desarrollo del presente estudio, ni en su diseño metodológico, la recolección de datos, el análisis de resultados o la estructuración del manuscrito.

### Referencias

1. **Acosta A.** Descripción del gasto y consumo de medicamentos biotecnológicos útiles en el tratamiento de artritis reumatoide refractaria: series temporales para Argentina, Colombia y Ecuador (tesis). Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires; 2017.
2. **World Health Organization.** Global action plan on antimicrobial resistance. 1<sup>st</sup> edition. Geneva: WHO; 2015. p. 19.
3. **Vesga O, Agudelo M, Salazar B, Rodríguez C, Zuluaga A.** Generic vancomycin products fail *in vivo* despite being pharmaceutical equivalents of the innovator. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;5:3271-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.01044-09>
4. **Rodríguez CA, Agudelo M, Aguilar YA, Zuluaga AF, Vesga O.** Impact on bacterial resistance of therapeutically nonequivalent generics: The case of piperacillin-tazobactam. *PLoS One.* 2016;11:e0155806. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155806>
5. **Tattevin P, Saleh-Mghir A, Davido B, Ghout I, Massias L, García De La María C, et al.** Comparison of six generic vancomycin products for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1157-62. <https://doi.org/10.1128/AAC.01669-12>

6. **Tattevin P, Crémieux AC, Rabaud C, Gauzit R.** Efficacy and quality of antibacterial generic products approved for human use: A systematic review. *Clin Infect Dis.* 2014;58: 458-69. <https://doi.org/10.1093/cid/cit769>
7. **Pallares CJ, Martínez E.** Factores de riesgo asociados a mortalidad en infecciones relacionadas con la atención en salud en un hospital universitario de tercer nivel en Colombia. *Biomédica.* 2014;34:148-55. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1646>
8. **McKinnon PS, Davis SL.** Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of bacterial infectious diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004;23:271-88. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-004-1107-7>
9. **Arnau J, Vallano A.** Estudio de utilización de medicamentos. *Medicamentos y Salud.* 2000;2:78-82.
10. **Elseviers M, Andersen M, Benko R, Bennie M, Godman B, Vander Stichele R, et al.** Drug utilization research: Methods and applications. 1st edition. Chichester: John Wiley & Sons; 2016. p. 3-14.
11. **Vaca CP, de las Salas RP, López JJ, Sánchez R, Figueras A.** Algorithm for the evaluation of therapeutic failure reports-proposal and pilot analysis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2013;22:199-206. <https://doi.org/10.1002/pds.3355>
12. **Saturni S, Bellini F, Braido F, Paggiaro P, Sanduzzi A, Scichilone N, et al.** Randomized controlled trials and real life studies. Approaches and methodologies: A clinical point of view. *Pulm Pharmacol Ther.* 2014;27:129-38. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2014.01.005>
13. **Angkasekwinai N, Werarak P, Chaiyasoot K, Thamlikitkul V.** Monitoring of effectiveness and safety of generic formulation of meropenem for treatment of infections at Siriraj Hospital. *J Med Assoc Thai.* 2011;94(Suppl.1):S217-24.
14. **Badaró R, Molinar F, Seas C, Stambouliau D, Mendonça J, Massud J, et al.** A multicenter comparative study of cefepime versus broad-spectrum antibacterial therapy in moderate and severe bacterial infections. *Braz J Infect Dis.* 2002;6:206-18. <https://doi.org/10.1590/S1413-8670200200500001>
15. **Lizarazo M, Andrea N, Villamil L, Alicia M, Lopera-Velásquez V, Robledo J, et al.** Characterization of the infection prevention and control programs in hospitals located in Medellín - Colombia, 2011. *Infectio.* 2013;17:136-45. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(13\)70720-3](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(13)70720-3)
16. **Carrillo P, Álvarez CA, Arboleda D, Yomayusa N.** Estado actual de los comités de infecciones en cinco ciudades de Colombia. *Rev Med Sanitas.* 2010;13:34-9.
17. **Rattanaumpawan P, Sutha P, Thamlikitkul V.** Effectiveness of drug use evaluation and antibiotic authorization on patients' clinical outcomes, antibiotic consumption, and antibiotic expenditures. *Am J Infect Control.* 2010;38:38-43. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2009.04.288>
18. **Llor C, Bjerrum L.** Antimicrobial resistance: Risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Ther Adv Drug Saf.* 2014;5:229-41. <https://doi.org/10.1177/2042098614554919>
19. **Murthy R.** Implementation of strategies to control antimicrobial resistance. *Chest.* 2001;119(Suppl.2):405S-11S. [https://doi.org/10.1378/chest.119.2\\_suppl.405S](https://doi.org/10.1378/chest.119.2_suppl.405S)
20. **Torres NMC, Rodríguez JJ.** Notificación de las reacciones adversas a los medicamentos antiepilépticos en Bogotá (Colombia, 2008-2012). *Rev Cuba Neurol Neurocir.* 2014; 4:117-23.
21. **Monterrosa DA, Bolívar HC.** Caracterización de las reacciones adversas a medicamentos (RAMs) observadas en una institución asistencial de III nivel de complejidad. *Cienc E Innov En Salud.* 2015;3:11-16. <https://doi.org/10.17081/innosa.3.2.90>
22. **Truven Health Analytics.** Micromedex. Fecha de consulta: 12 de enero de 2017. Disponible en: [www.micromedex.com/support](http://www.micromedex.com/support)
23. **Figueras A, Pedrós C, Valsecia M, Laporte J-R.** Therapeutic ineffectiveness: Heads or tails? *Drug Saf.* 2002;25: 485-7. <https://doi.org/10.2165/00002018-200225070-00002>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Caracterización de las potenciales interacciones farmacológicas en pacientes de una unidad de cuidados intensivos en un hospital de tercer nivel de Bogotá

Marcela Hernández, Gabriel Tribiño, Carlos Bustamante

Departamento de Farmacología Clínica y Terapéutica, Universidad de La Sabana, Chía, Colombia

**Introducción.** Las interacciones farmacológicas ocurren con mayor frecuencia en las unidades de cuidados intensivos que en otros servicios. Sin embargo, en Colombia son pocos los estudios en que se han evaluado en pacientes críticamente enfermos.

**Objetivos.** Caracterizar las potenciales interacciones farmacológicas en las prescripciones de pacientes hospitalizados en una unidad de cuidados intensivos y determinar los factores asociados con su aparición.

**Materiales y métodos.** Se analizó una cohorte retrospectiva de pacientes hospitalizados en una unidad de cuidados intensivos, durante un periodo de siete meses. Las prescripciones diarias se evaluaron en busca de potenciales interacciones farmacológicas mediante el programa Lexicomp™. Se calculó la incidencia de interacciones, se clasificaron según su tipo, gravedad y grado de documentación, y se evaluaron los factores asociados con su aparición mediante regresión logística.

**Resultados.** La proporción de pacientes con por lo menos una interacción fue de 84 %, en tanto que el 87 % presentó más de una interacción; la mediana fue de seis interacciones por paciente. La más frecuente fue entre el fentanilo y el midazolam (23 %). Las interacciones de gravedad y grado de documentación moderados fueron las más frecuentes (77,6 y 52,6 %, respectivamente). El fármaco índice más frecuente fue el midazolam (12 %) y el precipitante más frecuente, el fentanilo (10,6 %). La edad (*odds ratio*, OR=3,1) y el número de medicamentos (OR=11,8), se asociaron con la aparición de interacciones.

**Conclusiones.** Dada su elevada frecuencia y potencial impacto negativo es importante vigilar sistemáticamente las prescripciones en cuidados intensivos para detectar las interacciones, con el fin de contribuir al uso racional de los medicamentos y a mejorar la calidad de la atención.

**Palabras clave:** interacciones medicamentosas; cuidados críticos; prescripciones de medicamentos; incidencia; factores de riesgo; estudios de cohortes.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3884>

### Characterization of potential drug-drug interactions in patients hospitalized in the intensive care unit of a tertiary hospital in Bogotá

**Introduction:** Drug-drug interactions occur more frequently in intensive care units than in other services. However, in Colombia, there are few studies on this problem in critically ill patients.

**Objectives:** To characterize potential drug-drug interactions generated from prescriptions during hospitalization in an intensive care unit and to determine factors associated with their onset.

**Materials and methods:** A retrospective cohort was assembled with patients hospitalized in an intensive care unit for a seven-month period. The daily prescription was assessed for potential drug-drug interactions using the Lexicomp® program. We calculated the incidence of interactions, classified them by type, severity, and level of documentation, and evaluated the factors associated with their onset using logistic regression.

**Results:** The proportion of patients with at least one interaction was 84% while 87% had more than one interaction; the median was six interactions per patient. The most frequent was fentanyl and midazolam (23%). Moderate interactions were the most frequent by severity (77.6%) and by documentation (52.6%). The most common index and precipitating drugs were midazolam (12%) and fentanyl (10.6%), respectively. Age (OR=3.1) and the number of drugs (OR=11.8) were associated with the occurrence of interactions.

#### Contribución de los autores:

Marcela Hernández: elaboración del protocolo y recolección de la información

Gabriel Tribiño: asesoría para la metodología en la elaboración del protocolo y del análisis estadístico (concepción y presentación)

Carlos Bustamante: asesoría en la elaboración del protocolo desde el punto de vista temático

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

**Conclusions:** Given their high frequency and potential negative impact, the systematic monitoring of prescriptions in intensive care units to detect interactions is important. Such monitoring contributes to the rational use of medicines and to improve the quality of care.

**Key words:** Drug interactions; critical care; drug prescriptions; incidence; risk factors; cohort studies.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3884>

El tema de las interacciones farmacológicas recibe cada vez mayor atención como consecuencia del creciente desarrollo de nuevos medicamentos durante los últimos 20 años (1). Estas interacciones son frecuentes, pueden impactar de forma negativa los resultados en salud y son parte del 70,4 % de los problemas prevenibles relacionados con medicamentos. Además, la proporción de reacciones adversas prevenibles causadas por interacciones oscila entre 35 y 81 % (2,3).

En una revisión de la literatura, Becker, *et al.* (4), encontraron que 0,57 % de los ingresos hospitalarios y 0,12 % de los reingresos se debían a interacciones farmacológicas y, aunque el número puede parecer modesto, resulta significativo si se tiene en cuenta el promedio general de hospitalizaciones y reingresos (4). En pacientes hospitalizados, se ha reportado que entre el 3 y el 5 % de las reacciones adversas prevenibles pueden deberse a interacciones farmacológicas (3,4). En diversos estudios, la prevalencia de tales interacciones en las unidades de cuidados intensivos ha oscilado entre el 11 y el 85 % (1,5,6), dependiendo del número de pacientes incluidos y los sistemas de verificación que se empleen para detectarlas y clasificarlas según su gravedad.

Son pocos los estudios que se han llevado a cabo sobre la relevancia clínica de tales interacciones. En 2011, Reis, *et al.*, encontraron que estas se habían presentado en el 70 % de las prescripciones evaluadas, 23 % de las cuales fueron clínicamente relevantes (7). Sin embargo, según el método de clasificación que se utilice, esta última proporción puede disminuir a 12 % (8,9). Entre las consecuencias derivadas de las interacciones farmacológicas, se encuentran las complicaciones de las condiciones de base, el incremento de la estancia hospitalaria y el aumento en la mortalidad (10,11). Según los *National Institutes of Health*

de los Estados Unidos, ocurren entre 44.000 y 98.000 muertes al año a causa de errores médicos (12), de las cuales 7.000 son el resultado de reacciones adversas a medicamentos, y de estas, cerca de 6,9 % corresponden a interacciones farmacológicas (13).

Por otra parte, los pacientes en mayor riesgo de presentar interacciones medicamentosas son: los que reciben varios fármacos a la vez, los infectados con HIV, los que han recibido trasplantes y los críticamente enfermos (14). Estos últimos pueden llegar a recibir hasta 15 medicamentos simultáneamente y, además, presentan cambios en la farmacocinética que contribuyen a aumentar el riesgo (1).

En Colombia, la investigación de las interacciones farmacológicas sigue siendo limitada. Hay estudios sobre grupos farmacológicos particulares, pero, en un contexto más amplio y en unidades de cuidados intensivos, son escasas. La falta de información en este campo específico impide detectar oportunamente un problema que aumenta la morbimortalidad, el cual podría prevenirse mediante herramientas validadas que están disponibles para el personal de salud y permiten la prescripción más racional y segura de medicamentos.

El objetivo de este estudio fue detectar las interacciones entre los medicamentos prescritos durante la estancia en una unidad de cuidados intensivos y, además, caracterizar su frecuencia, tipo, gravedad, grado de documentación y fármacos más frecuentemente implicados; asimismo, evaluar la asociación entre dichas interacciones y las variables de edad, sexo, número de medicamentos prescritos, número de prescriptores y días de estancia.

## Materiales y métodos

### *Tipo de estudio y población*

Se hizo un estudio retrospectivo de cohorte. La cohorte se seleccionó de los pacientes hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos de una clínica de tercer nivel de un municipio del departamento de Cundinamarca (Colombia), entre el 1º de junio y el 31 de diciembre de 2013; esta unidad cuenta con 22 camas.

Correspondencia:

Marcela Hernández, Departamento de Farmacología Clínica y Terapéutica, Universidad de La Sabana, Chía, Colombia  
Teléfono: (310) 800 6559  
[marcela.herlon@outlook.com](mailto:marcela.herlon@outlook.com)

Recibido: 26/04/17; aceptado: 21/03/18

Se incluyeron los pacientes mayores de 18 años de cualquier sexo, hospitalizados por cualquier causa, con una estancia mayor o igual a 24 horas, a quienes se les habían prescrito, por lo menos, dos medicamentos durante el periodo de estudio. Se excluyeron los pacientes que recibían únicamente formulaciones de nutrición parenteral o entérica.

### **Detección y caracterización de las interacciones farmacológicas**

Para la detección, se revisó la prescripción diaria de cada paciente durante su estancia en la unidad según el registro en la base de datos de la institución, a cargo exclusivamente del personal médico de la unidad.

Se aplicó el identificador de interacciones del programa Lexicomp™, versión 2014, desarrollado por el Grupo Wolters Kluwer. La identificación y la clasificación de las interacciones generadas por esta herramienta, no difieren significativamente de las obtenidas mediante Micromedex™ (15). Con Lexicomp™, las interacciones farmacológicas se clasifican según el grado de documentación, como excelentes, buenas, deficientes o desconocidas; según la gravedad, como menores, moderadas, mayores o contraindicadas (cuadro 1); según el tiempo de aparición, como tempranas ( $\leq 24$  horas) o tardías ( $> 24$  horas), y según su tipo, como farmacocinéticas, farmacodinámicas o mixtas (16).

También, se registraron el tiempo de aparición de la primera interacción y el tiempo de exposición en días. Los datos sobre edad, sexo, diagnóstico de ingreso, estancia hospitalaria, número de prescriptores y total de medicamentos prescritos también se extrajeron de la base de datos de la clínica, suministrada en formato de libro de Excel™ para su análisis. La base de datos contenía la información de la historia clínica electrónica, en la cual las formulaciones diarias registradas tienen un enlace con el departamento de farmacia hospitalaria.

### **Análisis de datos**

Las medidas de frecuencia calculadas fueron las siguientes.

1. Tasa de incidencia (número de pacientes con una o más interacciones, sobre la suma de persona-día de estancia en la unidad de cuidados intensivos). Para los pacientes que presentaron varias interacciones, el denominador se calculó teniendo en cuenta el tiempo desde el ingreso a la unidad de cuidados intensivos hasta el momento en el que se presentó la primera interacción.
2. Proporción de pacientes con una o más interacciones (pacientes con interacciones, sobre número total de pacientes).
3. Proporción de pacientes con dos o más interacciones (número de pacientes con dos o más, sobre número de pacientes con una o más).
4. Tasa absoluta (número total de interacciones/duración global en días del periodo de observación).
5. Proporción de prescripciones con una o más interacciones sobre el número total de prescripciones).

Los pacientes con interacciones y sin ellas se compararon en cuanto a edad, número de medicamentos recibidos y tiempo de estancia mediante la prueba t de Student, y en cuanto a sexo y morbilidad, mediante la prueba de ji al cuadrado. También, se compararon los pacientes con por lo menos una interacción mayor y aquellos con interacciones moderadas o leves, empleando las mismas variables y pruebas estadísticas.

Los factores asociados con las interacciones se evaluaron mediante un análisis de regresión logística en el que la variable dependiente fue la presencia de por lo menos una interacción y las variables independientes, la edad, el sexo, el número de prescriptores, la duración de la estancia

**Cuadro 1.** Clasificación de interacciones según el programa Lexicomp™

| Categoría de gravedad | Definición de gravedad                                                                      | Nivel de documentación                                                       |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| X                     | Contraindicada                                                                              | Excelente: comprobada con buenos estudios clínicos                           |
| D                     | Mayor: puede causar daño o requerir manejo.                                                 | Buena: bien documentada, y es conocida.<br>No validada por estudios clínicos |
| C                     | Moderada: puede exacerbar la condición clínica o requerir modificaciones en el tratamiento. | Moderada: hay datos sugestivos. Buena documentación para un fármaco similar  |
| B                     | Menor: puede tener mínimos efectos clínicos y no requerir modificación.                     | Deficiente: datos muy limitados, pero teóricamente posible                   |
| A                     | No se conoce.                                                                               | No se conoce.                                                                |

y el número de medicamentos. Inicialmente, se hizo un análisis bivariado y, luego, las variables que presentaron un valor de  $p$  menor de 0,05 se incluyeron en un análisis de regresión logística múltiple. En este análisis no se incluyeron las interacciones clasificadas como deficientes. Dado que los pacientes con interacciones intencionadas pero con potencial de riesgo, pueden representar un grupo etiológicamente diferente, se hizo un análisis de sensibilidad repitiendo los análisis de regresión sin tener en cuenta a dichos sujetos.

El tamaño de la muestra se calculó para establecer la asociación mediante el enfoque de casos por variable independiente. Tomando 12 casos por variable independiente, se requerían 84 casos de interacción farmacológica. Se asumió una frecuencia de pacientes con por lo menos una interacción del 50 %, una frecuencia de pacientes con interacciones deficientes del 10 % y una frecuencia de pacientes con interacciones benéficas pero con riesgo potencial del 10 % (los cuales no se tuvieron en cuenta en el análisis de sensibilidad).

Así, con un 30 % de pacientes con interacciones farmacológicas elegibles para el análisis de sensibilidad, se requería un total de 280 pacientes, a lo cual se sumó un 10 % de no elegibles, para un tamaño de muestra de 308. Dado que el periodo durante el cual se atendió un número de sujetos igual o superior al tamaño de muestra calculado fue entre el 1° de junio y el 31 de diciembre del 2013, se decidió evaluar a todos los pacientes hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos durante ese periodo ( $N=356$ ). Con el número de pacientes que resultaron elegibles ( $N=312$ ), se obtenía un poder mayor de 80 % para encontrar asociaciones estadísticamente significativas con una razón de momios (OR, *Odds Ratio*) mayor de 2. La base de datos se elaboró en Excel™, versión 2013, y el análisis estadístico se hizo con el programa Stata 12™.

El estudio se sometió a consideración del comité de investigación y ética de la institución y se obtuvo la aprobación para el uso de su base de datos, la cual fue entregada a los investigadores por un funcionario del departamento de informática designado por el comité. Los resultados se presentaron a la institución, la cual estableció planes de farmacovigilancia activa y brindó educación a la comunidad médica, así como un mejor acceso a las herramientas disponibles para evaluar las interacciones con la intervención activa del departamento de farmacología clínica.

## Resultados

En el estudio se incluyeron 312 pacientes. Las causas de exclusión se presentan en la figura 1 y, las características de los pacientes, en el cuadro 2. En 263 pacientes (84 %) se presentó, por lo menos, una interacción. La tasa de incidencia fue de 5,8 por 10 persona-día de estancia en la unidad de cuidados intensivos. La proporción de pacientes con más de una interacción fue de 87 % (229/263) y, en estos, la mediana del número de interacciones fue de seis (rango intercuartílico: 6-9). La tasa absoluta fue de siete interacciones por día, la mediana de tiempo para la primera interacción fue un día (rango intercuartílico: 1-2) y la mediana de tiempo de exposición a la interacción fue de cuatro días (rango intercuartílico: 3-9).

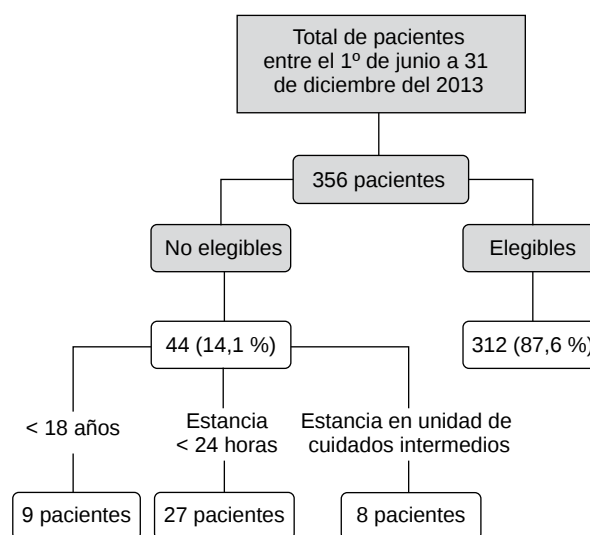


Figura 1. Flujograma de pacientes

Cuadro 2. Caracterización de la población estudiada ( $n=312$ )

| Variable                                                  | Medida de resumen        |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------|
| Sexo masculino, $n$ (%)                                   | 169 (54,1)               |
| Edad (años) (media $\pm$ DE*)                             | 55,09 $\pm$ 21,6         |
| Tiempo de estancia (días) (media $\pm$ DE)                | 5,5 $\pm$ 3,98           |
| Medicamentos prescritos por paciente (mediana, RI)        | 17 (11-22)               |
| Número de prescriptores por paciente (mediana, RI)        | 4 (3-6)                  |
| Grupos de diagnósticos de ingreso más frecuentes, $n$ (%) | Cardiovascular 96 (30,8) |
|                                                           | Neurológico 78 (25)      |
|                                                           | Infeccioso 57 (18,3)     |
|                                                           | Metabólico 24 (7,7)      |
|                                                           | Renal 16 (5,1)           |
|                                                           | Ortopedia 6 (1,9)        |

DE: desviación estándar; RI: rango intercuartílico

Se evaluaron 5.315 prescripciones, de las cuales 1.514 (28,5 %) presentaron por lo menos una interacción, con una mediana de interacciones por prescripción de cinco (rango intercuartílico: 2-8). Las características de las interacciones detectadas se presentan en el cuadro 3. La interacción más frecuente fue la de fentanilo con midazolam, seguida por la de enoxaparina con potasio, y omeprazol con losartán. Las diez interacciones más frecuentes se resumen en la figura 2. Los fármacos precipitantes más frecuentes fueron el fentanilo y la dexametasona, y los fármacos índice más frecuentes, el midazolam y el fentanilo (figuras 3 y 4).

Según la gravedad, las interacciones moderadas fueron las más frecuentes (con la combinación de fentanilo y midazolam, en primer lugar), seguidas

por las mayores (con la combinación de fenitoína y midazolam, en primer lugar). Las diez interacciones moderadas o mayores más frecuentes se presentan en el cuadro 4. No se detectaron interacciones menores ni contraindicadas.

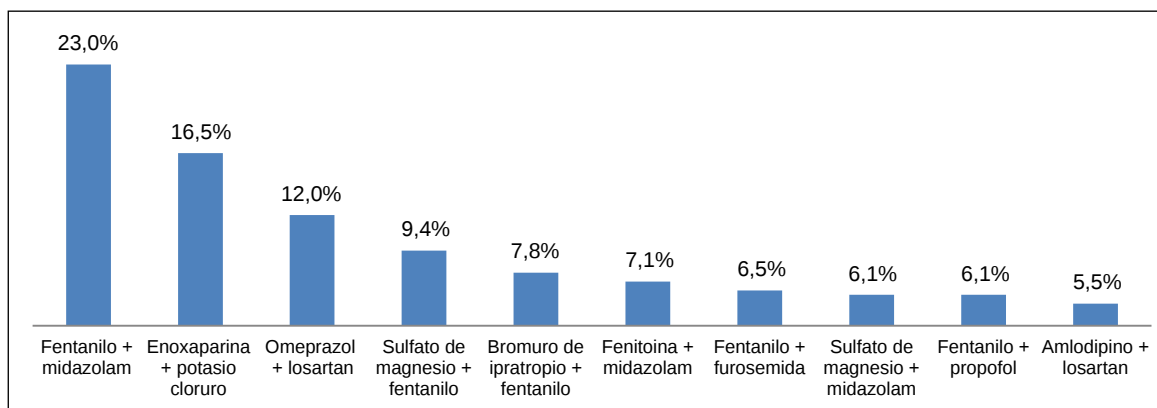
En cuanto al grado de documentación, la mayor proporción de interacciones se clasificaron como moderadas (n=797), las tres más frecuentes fueron las de enoxaparina y cloruro de potasio (n=35; 4,4 %), omeprazol y losartán (n=33; 4,1 %) y bromuro de ipratropio y fenitoína (n=23; 2,9 %). Las tres interacciones con buena documentación más frecuentes fueron: fentanilo y midazolam (n=71; 11,6 %), fentanilo y propofol (n=18; 2,9 %), y fentanilo y morfina (n=16; 2,6 %). Las interacciones con documentación excelente fueron las menos frecuentes (n=82); entre estas, la de mayor frecuencia fue la de gluconato de calcio y amlodipino (n=12; 14,6 %), seguida por la de claritromicina y midazolam (n=6; 7,3 %) y la de nimodipino y fenitoína (n=6; 7,3 %).

Al comparar a los pacientes que presentaron interacciones con quienes no, se encontró que los primeros eran de mayor edad (media de 57,1 Vs. 43,8 años; p=0,0001), recibieron un mayor número de medicamentos (media 18,5 Vs. 9,3; p=0,000), en la formulación intervino un mayor número de prescriptores (media 4,9 Vs. 3,1; p=0,000) y su estancia fue más prolongada (media 6 Vs. 2,9 días; p=0,000). Las diferencias en cuanto al sexo y los grupos de diagnóstico de ingreso no fueron estadísticamente significativas.

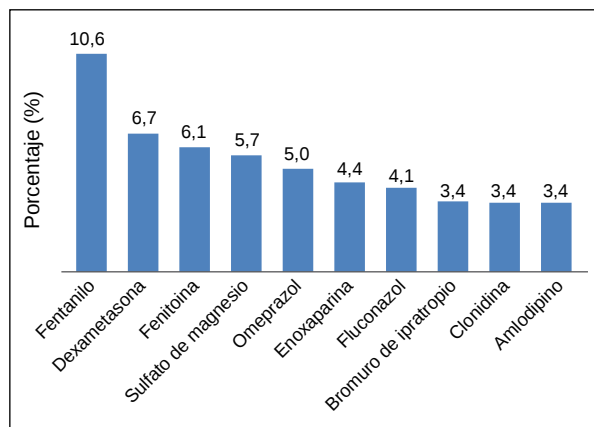
Al comparar los pacientes que presentaron interacciones mayores con quienes presentaron interacciones moderadas, se encontró una diferencia estadísticamente significativa para las variables

**Cuadro 3.** Caracterización de las interacciones detectadas

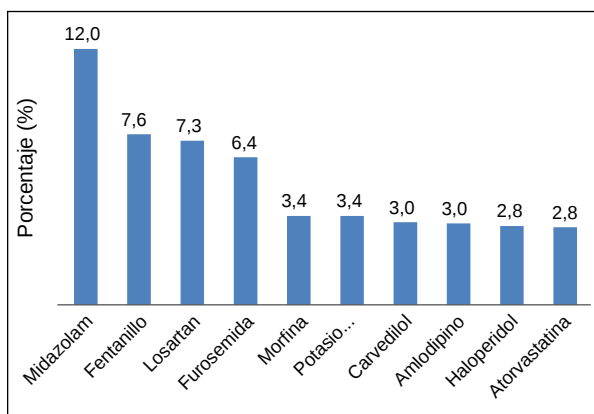
| Característica              | n     | %    |
|-----------------------------|-------|------|
| Presentación                |       |      |
| Temprana ( $\leq 24$ horas) | 903   | 59,7 |
| Tardía ( $> 24$ horas)      | 611   | 40,3 |
| Tipo de interacción         |       |      |
| Farmacodinámica             | 893   | 55,5 |
| Farmacocinética             | 560   | 37,0 |
| Mixta                       | 25    | 1,7  |
| Desconocida                 | 35    | 2,3  |
| Gravedad                    |       |      |
| Mayor                       | 337   | 22,2 |
| Moderada                    | 1.175 | 77,6 |
| Documentación               |       |      |
| Excelente                   | 82    | 5,4  |
| Buena                       | 611   | 40,3 |
| Moderada                    | 797   | 52,6 |
| Deficiente                  | 24    | 1,6  |
| Tiempo de exposición (días) |       |      |
| $\leq 2$                    | 305   | 20,1 |
| 3 a 5                       | 929   | 61,4 |
| $> 5$                       | 280   | 18,5 |
| Interacciones benéficas     | 176   | 11,6 |



**Figura 2.** Interacciones más frecuentes



**Figura 3.** Fármacos precipitantes más frecuentes en las interacciones detectadas (n=1.514)



**Figura 4.** Fármacos índice más frecuentes en las interacciones detectadas (n=1.514)

de número de medicamentos recibidos (20,5 Vs. 16,4, respectivamente;  $p=0,000$ ), de número de prescriptores (media 5,5 Vs. 4,4;  $p=0,00$ ) y de duración de la estancia en días (media 7,6 Vs. 4,5;  $p=0,00$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad y el sexo.

En el análisis bivariado se encontró que una edad mayor de 60 años, un número de prescriptores mayor de cuatro, una estancia mayor de tres días, y recibir más de diez medicamentos, aumentaban en forma significativa la posibilidad de que se presentara, por lo menos, una interacción (cuadro 5). Sin embargo, al introducir estas variables en el análisis de regresión múltiple, solamente la edad y el número de medicamentos prescritos retuvieron la significación. El ser mayor de 60 años aumentó la posibilidad de que se presentara, por lo menos, una interacción en 3,1 veces, en tanto que recibir

**Cuadro 4.** Interacciones mayores y moderadas más frecuentes

|                                    | n   | %    |
|------------------------------------|-----|------|
| <b>Gravedad mayor (n=337)</b>      |     |      |
| Fenitoína + midazolam              | 21  | 6,2  |
| Dexametasona + midazolam           | 16  | 4,7  |
| Omeprazol + atorvastatina          | 15  | 4,5  |
| Fluconazol + fentanilo             | 12  | 3,6  |
| Metoclopramida + haloperidol       | 12  | 3,6  |
| Dexametasona + haloperidol         | 9   | 2,7  |
| Fenitoína + dexametasona           | 9   | 2,7  |
| Dexametasona + losartan            | 8   | 2,4  |
| Haloperidol + fentanilo            | 8   | 2,4  |
| Claritromicina + fentanilo         | 6   | 1,8  |
| Diez más frecuentes                | 116 | 34,4 |
| <b>Gravedad moderada (n=1.175)</b> |     |      |
| Fentanilo + midazolam              | 69  | 5,9  |
| Enoxaparina + potasiocloruro       | 37  | 3,1  |
| Omeprazol + losartan               | 37  | 3,1  |
| Sulfato de magnesio + fentanilo    | 29  | 2,5  |
| Bromuro de ipratropio + fentanilo  | 24  | 2,0  |
| Fentanilo + furosemida             | 20  | 1,7  |
| Sulfato de magnesio + midazolam    | 19  | 1,6  |
| Fentanilo + propofol               | 18  | 1,5  |
| Amlodipino + losartan              | 16  | 1,4  |
| Fentanilo + morfina                | 16  | 1,4  |
| Diez más frecuentes                | 285 | 24,3 |

entre 11 y 20 medicamentos la aumentó en 11,8 veces (cuadro 6). En el análisis de sensibilidad, el cual no incluyó las interacciones favorables, se encontraron asociaciones estadísticamente significativas con las mismas variables, aunque con efectos de menor magnitud.

## Discusión

En este estudio la proporción de pacientes con interacciones farmacológicas se ubicó en el rango reportado en otros (53-87,9 %) (1,6,7). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las metodologías de dichos estudios difieren: en algunos, como el de Caribé, *et al.* (5), se hizo una evaluación prospectiva y observacional en cohortes pequeñas (86 pacientes), en tanto que, en otros, como el de Carvalho (17), se estimó la prevalencia en momentos específicos de la hospitalización y en grupos grandes (1.124 pacientes); además, la sensibilidad y la especificidad de los programas utilizados para detectar las interacciones también variaba, todo lo cual dificulta la comparación de sus resultados. Un factor que pudo contribuir a la gran frecuencia de interacciones hallada en el presente estudio, es que Lexicomp™ es de los pocos programas que actualiza diariamente la información, lo cual aumenta la sensibilidad para la detección de interacciones (15).

**Cuadro 5.** Análisis bivariado de la presencia de interacciones

| Variable                            | Odds ratio (IC <sub>95%</sub> ) |                                      |
|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
|                                     | Todas las interacciones (n=306) | Sin interacciones favorables (n=194) |
| Sexo (femenino Vs. masculino)       | 0,95 (0,5-1,8), p=0,890         | 0,99 (0,5-1,9), p=0,99               |
| Edad (años) (>60 Vs. ≤60)           | 3,15 (1,6-6,3), p=0,001         | 2,79 (1,3-5,8), p=0,006              |
| Número de prescriptores (>4 Vs. ≤4) | 6,42 (2,9-14,8), p=0,000        | 4,65 (2,0-10,6), p=0,000             |
| Estancia (días) (Vs. 1-3)           |                                 |                                      |
| 4-6                                 | 3,3 (1,6-6,7), p=0,001          | 3,11 (1,5-6,6), p=0,003              |
| ≥7                                  | 37,3 (4,5-278,5), p=0,000       | 27 (3,5-205,5), p=0,001              |
| Número de medicamentos (Vs. =10)    |                                 |                                      |
| 11-20                               | 11,7 (5,5-24,8), p=0,000        | 8,4 (3,8-18,4), p=0,000              |
| >20                                 | *                               | *                                    |

\* Todos los pacientes que recibieron más de 20 medicamentos presentaron por lo menos una interacción, según el análisis bivariado.

**Cuadro 6.** Análisis de regresión logística múltiple (se muestran solo las variables que retuvieron la significación estadística)

| Variable                         | OR (IC <sub>95%</sub> )         |                                      |
|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
|                                  | Todas las interacciones (n=206) | Sin interacciones favorables (n=146) |
| Edad (>60 Vs. ≤60 años)          | 3,1 (1,37-7,0), p=0,007         | 2,9 (1,22-6,8), p=0,015              |
| Número de medicamentos (Vs. ≤10) |                                 |                                      |
| 11-20                            | 11,8 (5,4-25,6), p=0,000        | 8,8 (3,9-19,7), p=0,000              |
| >20                              | *                               | *                                    |

\* Todos los pacientes que recibieron más de 20 medicamentos presentaron por lo menos una interacción según la regresión logística múltiple.

En cuanto al tiempo para la aparición de las interacciones, en este estudio la mayoría se presentó tempranamente (en las primeras 24 horas de ingreso a la unidad de cuidados intensivos), lo cual puede obedecer a los cambios terapéuticos que suelen ser necesarios en este periodo debido a las condiciones de ingreso de los pacientes y la gravedad de su condición, que exige una pronta estabilización.

Con respecto al tipo de interacción, las más frecuentes fueron las farmacodinámicas, lo cual difiere de lo reportado por Almeida, *et al.* (13), en cuyo estudio las interacciones farmacocinéticas fueron las más comunes (30 % del total). Este dato es importante, pues evidencia la necesidad de evaluar el uso de un determinado fármaco teniendo en cuenta su mecanismo de acción y los procesos biológicos que modifica, y no solamente las vías metabólicas y de excreción que utiliza.

En cuanto a la gravedad, las interacciones moderadas fueron las más frecuentes, seguidas por las mayores, lo cual concuerda con lo reportado en estudios previos, como el de Rhanna, *et al.* (17), en el cual se encontró 51 % de interacciones moderadas, o como el de Hammes, *et al.* (18), que evidenció 68 %, y el de Cruciol-Souza (19), en el que se encontró 78 % de interacciones moderadas. Sin embargo, por la diversidad de los

programas utilizados para validar las interacciones en los diferentes estudios, es difícil comparar dichos resultados.

Con respecto a interacciones específicas, la más frecuente fue la de fentanilo y midazolam, clasificada como una interacción farmacodinámica con efecto sinérgico; se emplean un analgésico opioide y una benzodiacepina para la analgesia, la sedación y el alivio de la ansiedad en los pacientes con asistencia respiratoria mecánica, de manera que se acomoden al respirador y se optimice la oxigenación, es decir, se usa con un objetivo terapéutico (20). Sin embargo, esta interacción también tiene un componente cinético, ya que el fentanilo inhibe la enzima CYP 3A4, lo cual favorece la acumulación de glucurónido de hidroximidazolam, un metabolito activo del midazolam que se ha encontrado elevado en pacientes con sedación prolongada (21). Esto indicaría que, para lograr una sedación óptima en pacientes críticamente enfermos, es necesario tener presente el potencial de interacciones, emplear escalas validadas para ajustar las dosis, interrumpir diariamente la sedación y diseñar protocolos que eviten el uso prolongado e innecesario de esta combinación (22).

El fentanilo fue uno de los primeros diez fármacos precipitantes e índice, siendo el más frecuente del primer grupo. Ello se explica porque es tanto

sustrato como inhibidor de la enzima CYP3A4; además, fue el cuarto más prescrito durante el periodo de estudio.

El segundo fármaco precipitante más frecuente fue la dexametasona. Si bien no se ubicó entre los diez más formulados, la dexametasona se comporta como un inductor de la enzima CYP3A4, de manera que puede acelerar el metabolismo de múltiples fármacos, incluidos antihipertensivos como el verapamilo y el diltiazem, inmunosupresores como el tacrolimus, benzodiacepinas, ciertos antifúngicos, y antibióticos como la claritromicina, entre otros (23). El hallazgo del midazolam como el fármaco índice más frecuente puede estar relacionado con su metabolismo, el cual se lleva a cabo mediante la CYP3A4, enzima que es inducida o inhibida por una amplia variedad de fármacos.

Con respecto a los factores asociados con la aparición de las interacciones, el análisis multivariado solo mostró asociación estadísticamente significativa con la edad y el número de medicamentos prescritos. En los análisis adicionales en los que se evaluó la asociación entre la interacción y la duración de la estancia y entre esta y el número de prescriptores según la edad y el número de medicamentos, se evidenció que en las dos asociaciones mencionadas el número de medicamentos se comportó como factor de confusión.

Es interesante que la edad se comporte como un factor de riesgo independiente del número de medicamentos prescrito. Aunque se han documentado cambios farmacocinéticos que desencadenan consecuencias clínicas derivadas de una interacción en ancianos (24), en el caso de las interacciones potenciales, el riesgo en estos pacientes podría deberse al tipo de medicamentos que reciben, pues probablemente con frecuencia son fármacos con mayor probabilidad de precipitar interacciones o de ser modificados por otros.

Que el número de medicamentos apareciera como un factor independiente asociado con la generación de las interacciones, concuerda con lo reportado en la literatura científica en el sentido de que la probabilidad de presentar una interacción medicamentosa depende principalmente del número de fármacos que se prescriban; dicha probabilidad varía entre el 5,6 % para dos medicamentos y más del 80 % en pacientes que reciben siete o más medicamentos (25,26). Cabe destacar que, en la presente investigación, todos los pacientes que recibieron más de 20 medicamentos presentaron por lo menos una interacción.

Los estudios en que se han evaluado posibles factores asociados con la aparición de interacciones en pacientes críticamente enfermos son escasos. Cabe destacar el estudio de Lima, *et al.* (27), quienes los evaluaron en una cohorte retrospectiva de 102 pacientes de una unidad de cuidados intensivos de adultos. Los autores encontraron que las mujeres tenían una menor probabilidad de interacciones ( $OR=0,27$ ;  $IC_{95\%}$  0,095-0,74), pero no hallaron una asociación estadísticamente significativa con la edad al comparar a los pacientes de más de 60 años con los de menos edad ( $OR=0,94$ ;  $IC_{95\%}$  0,36-2,47), ni con la estancia hospitalaria al comparar una de más de nueve días con una de menos días ( $OR=0,66$ ;  $IC_{95\%}$  0,25-1,7).

Las diferencias entre estos hallazgos y los obtenidos en el presente estudio pueden explicarse por el tipo de interacciones incluidas (prevalentes en el estudio de Lima, *et al.*, incidentes en este) y por el menor número de pacientes evaluados en el estudio de los primeros. En otro estudio, Mohamed, *et al.*, encontraron que la edad y el número de medicamentos se asociaron con interacciones (28); sin embargo, es difícil establecer comparaciones con el presente estudio porque en aquel se incluyó población pediátrica además de los casos prevalentes.

Al comparar a los pacientes con interacciones mayores y aquellos con interacciones moderadas, se evidenció que los primeros recibían un mayor número de medicamentos, formulados por un mayor número de prescriptores y habían tenido estancias más prolongadas. Sin embargo, estos hallazgos deben interpretarse con cautela, pues no se hizo un análisis formal de factores asociados con interacciones mayores, el cual es importante para detectar a los pacientes en riesgo, por cuanto las interacciones mayores son de relevancia clínica y favorecen la aparición de reacciones adversas a medicamentos.

Las principales fortalezas de este estudio radican en el empleo de varias medidas de incidencia, con lo cual se brindó un panorama más completo de la frecuencia de interacciones durante el periodo de estudio, en comparación con la prevalencia puntual, que es la medida empleada en múltiples estudios sobre las interacciones, así como el empleo de una herramienta validada y sensible para su detección y la inclusión de interacciones incidentes, las cuales generan menos sesgos que los casos prevalentes a la hora de evaluar las asociaciones.

En cuanto a las limitaciones del estudio, cabe mencionar que no se evaluó la asociación entre

las interacciones y las enfermedades, ya que en la base de datos de la institución frecuentemente se registraban solo los códigos CIE-10 genéricos, lo que dificulta evaluar la asociación con cuadros específicos; tampoco se evaluó la asociación con la gravedad clínica porque no se registraba de manera sistemática una medición objetiva de esta variable, como la que se obtendría utilizando la escala *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* (APACHE); tampoco fue posible determinar los datos puntuales sobre los prescriptores, por ejemplo, su nivel de entrenamiento, experiencia, y observancia de las guías de práctica clínica, aunque era cierto que la configuración del programa usado para registrar la historia clínica en esta institución implicaba que todas las fórmulas fueran validadas por el especialista de turno.

La ausencia de estas variables pudo generar confusión residual, en especial en la asociación con la edad. Por otra parte, no se evaluó el impacto clínico de las interacciones detectadas, ya que los objetivos se plantearon en términos de interacción potencial; además, el diseño retrospectivo y las fuentes de datos disponibles no permitían obtener una medición válida de este aspecto. Por último, no se evaluaron las interacciones entre fármacos y compuestos nutricionales.

En conclusión, las interacciones farmacológicas son frecuentes en la mayoría de pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados intensivos. Si bien algunas interacciones contribuyen a la consecución de los objetivos terapéuticos, otras pueden causar resultados negativos asociados con la medicación. Cuanto mayor sea el número de medicamentos prescritos, mayor es la posibilidad de que se presenten una o varias interacciones. La edad es otro factor que puede estar asociado o, por lo menos, parece ser un marcador de riesgo.

El gran potencial de interacciones en los pacientes críticamente enfermos refuerza la recomendación de evaluar constantemente la necesidad de cada uno de los fármacos prescritos, lo cual implica un ejercicio diario de prescripción razonada y la implementación de ajustes en el tratamiento coherentes con los cambios clínicos del paciente, con lo cual se evita el uso de fármacos innecesarios, la duplicidad y los tratamientos de duración excesiva, y se limita el tiempo de exposición a interacciones potencialmente peligrosas.

Teniendo en cuenta la elevada frecuencia de interacciones farmacológicas durante el cuidado intensivo, y su impacto potencial, sería recomendable

que las instituciones faciliten a los médicos tratantes las herramientas sistematizadas y validadas para su detección, con lo cual podrían consultar de forma ágil en caso de dudas sobre posibles interacciones riesgosas entre los medicamentos que prescriben.

Sin embargo, lo ideal sería implementar un sistema de alertas en tiempo real que informe a los médicos sobre posibles interacciones en el momento mismo de hacer la prescripción, en especial sobre las mayores o contraindicadas, de manera que puedan tomar decisiones terapéuticas más seguras e informadas. Una ventaja de tales sistemas es que la alerta es automática y su uso no depende de la voluntad del prescriptor.

La participación de un farmacólogo clínico en el proceso de prescripción de medicamentos es otra medida que puede implementarse para garantizar la detección oportuna de interacciones riesgosas, así como de otros problemas relacionados con la medicación que alteren el curso clínico del paciente, y para que orienten el uso seguro de la medicación, sobre todo en situaciones complejas en las que la medida terapéutica sea imprescindible para el paciente a pesar del riesgo potencial, el cual puede ser controlado.

La instauración efectiva de estas medidas se traduciría en una mejor calidad de la atención y en mayor seguridad para los pacientes.

### Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no teníamos conflictos de intereses de orden académico, institucional u operacional en el momento de hacer el estudio.

### Financiación

El primer autor obtuvo el apoyo y la tutoría de los coautores como parte de los requisitos para optar al título de Especialista en Farmacología Clínica de la Universidad de La Sabana. El estudio no contó con financiación de fuente específica.

### Referencias

1. **Rodrigues DA, editor.** Drug-drug interactions. Second edition. London: Informa Health Care. 2008. p. 768.
2. **Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scout A, Walley T, et al.** Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: Prospective analysis of 18.820 patients. *BMJ*. 2004; 329:15-9. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7456.15>
3. **Pouyanne P, Haramburu F, Imbs J, Bégaud B.** Admissions to hospital caused by adverse drug reactions: Cross sectional incidence study. *BMJ*. 2000;320:1036-45. <https://doi.org/10.1136/bmj.320.7241.1036>

4. **Becker ML, Kallewaard M, Caspers PW, Visser LE, Leufkens HG, Stricker BH.** Hospitalizations and emergency department visits due to drug-drug interactions: A literature review. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2007;16: 641-51. <https://doi.org/10.1002/pds.1351>
5. **Caribé RA, Chaves GR, Pocognoni JD, Souza IA.** Potenciales interacciones medicamentosas en pacientes con sepsis internados en la unidad de terapia intensiva. *Farm Hosp.* 2013;37:383-7. <https://doi.org/10.7399/FH.2013.37.5.534>
6. **Rivkin A, Yin H.** Evaluation of the role of the critical care pharmacist in identifying and avoiding or minimizing significant drug-drug interactions in medical intensive care patients. *J Crit Care.* 2011;26:104.e1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2010.04.014>
7. **Reis AM, Cassiani SH.** Prevalence of potential drug interactions in patients in an intensive care unit of a university hospital in Brazil. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66:9-15. <https://doi.org/10.1590/S1807-59322011000100003>
8. **Plaza J, Álamo M, Torres P, Fuentes A, López F.** Interacciones de medicamentos y eventos adversos en fármacos utilizados en una unidad de cuidados intensivos. *Rev Med Chile.* 2010;138 452-60. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872010000400009>
9. **Bergk V, Gasse C, Rothenbacher D, Loew M, Brenner H, Haefeli WE.** Drug interactions in primary care: Impact of a new algorithm on risk determination. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;76:85-96. <https://doi.org/10.1016/j.clpt.2004.02.009>
10. **Askari M, Eslami S, Louws M, Wierenga PC, Dongelmans DA, Kuiper RA, et al.** Frequency and nature of drug-drug interactions in the intensive care unit. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2013;22:430-7. <https://doi.org/10.1002/pds.3415>
11. **Smithburger P, Kane-Gill SL, Seybert AL.** Drug-drug interactions in the medical intensive care unit: An assessment of frequency, severity and the medications involved. *Int J Pharma Pract.* 2012;20:402-8. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7174.2012.00221.x>
12. **Institute of Medicine (US) Committee on Quality of Health Care in America; Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS, editors.** To err is human: Building a safer health system. Washington (DC): National Academies Press (US); 2000. Fecha de consulta: 17 de febrero de 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK225182/>
13. **Almeida SM, Gama SC, Akamine N.** Prevalence and classification of drug-drug interactions in intensive care patients, Einstein (Sao Paulo). 2007;5:347-51.
14. **McFarland HM.** Identification and management of drug interactions. *Medscape.* Fecha de consulta: 20 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.medscape.org/viewarticle/418376>
15. **Joseph A, Khan A.** A comparison of the Micromedex vs. Lexicomp medicine information databases. Fecha de consulta: 20 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.ukmi.nhs.uk/filestore/misc/AcomparisonoftheMicromedexandLexi-compDatabases.pdf>
16. **Barrons R.** Evaluation of personal digital assistant software for drug interactions. *Am J Health Syst Pharm.* 2004;61:380-5.
17. **Carvalho RE, Reis AM, Faria LM, ZagoKS, Cassiani SH.** Prevalence of drug interactions in intensive care units in Brazil. *Acta Paul Enferm.* 2013;26:150-7.
18. **Hammes J, Pfuetszenreiter F, daSilveira F, Koenig A, AdrienoWestphal G.** Potential drug interactions prevalence in intensive care units. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2008;20:349-54. <https://doi.org/10.1590/S0103-507X2008000400006>
19. **Crucioli-Souza JM, Thomson JC.** Prevalence of potential drug-drug interactions and its associated factors in a Brazilian teaching hospital. *J Pharm Pharm Sci.* 2006;9:427-33.
20. **Devlin JW, Roberts RJ.** Pharmacology of commonly used analgesics and sedatives in the ICU: Benzodiazepines, propofol, and opioids. *Crit Care Clin.* 2009;25:431-49. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2009.03.003>
21. **Riker RR, Fraser GL.** Altering intensive care sedation paradigms to improve patient outcomes. *Crit Care Clin.* 2009;25:527-38. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2009.05.004>
22. **Schweickert WD, Kress JP.** Strategies to optimize analgesia and sedation. *Crit Care.* 2008;12(Suppl.3):S6. <https://doi.org/10.1186/cc6151>
23. **López JM.** Metabolismo de fármacos: enzimas CYP3A (sub familia del citocromo P450). Fecha de consulta: 21 de marzo de 2013. Disponible en: <http://www.info-farmacia.com/bioquimica/metabolismo-de-farmacos-enzimas-cyp3a-sub-familia-del-citocromo-p450>
24. **Hansten PD.** Drug interaction management. *Pharm World Sci.* 2003;25:94-7. <https://doi.org/10.1023/A:1024077018902>
25. **Elanjian S, Gora ML, Symes LR.** Methods used by pharmacy departments to identify drugs interactions. *Am J Hosp Pharm.* 1993;50:2546-9.
26. **Bucşa C, Farcaş A, Cazacu I, Leucuta D, Achimas-Cadariu A, Mogosan C, et al.** How many potential drug-drug interactions cause adverse drug reactions in hospitalized patients? *Eur J Intern Med.* 2013;24:27-33. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2012.09.011>
27. **Lima RE, Cassiani SH.** Potential drug interactions in intensive care patients at a teaching hospital. *Rev Lat Am Enfermagem.* 2009;17:222-7. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692009000200013>
28. **El Samia Mohamed SMA, Gad ZM, El-Nimr NA, Abdel Razek AAH.** Prevalence and pattern of potential drug-drug interactions in the critical care units of a tertiary hospital in Alexandria, Egypt. *Adv Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2013;2:144-54. <https://doi.org/10.4172/2167-1052.1000144>

ORIGINAL ARTICLE

## Prescribing patterns of antiparkinson drugs in a group of Colombian patients, 2015

Jorge Enrique Machado-Alba, Luis Felipe Calvo-Torres,  
Andrés Gaviria-Mendoza, Juan Daniel Castrillón-Spitia

Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia,  
Universidad Tecnológica de Pereira-Audifarma, S.A., Pereira, Colombia

**Introduction:** Parkinson's disease, whose prevalence in Colombia is 4.7 per 1,000 inhabitants, is a public health problem and a therapeutic challenge for health professionals.

**Objective:** To determine the prescribing patterns of antiparkinson drugs and the variables associated with its use in a population from Colombia.

**Materials and methods:** We conducted a descriptive cross-sectional study. We selected patients who had been given antiparkinson drugs uninterruptedly between January 1<sup>st</sup> and March 31<sup>st</sup>, 2015 from a systematized database of approximately 3.5 million people affiliated to the Colombian health system. We included sociodemographic, pharmacologic and comedication variables. For the multivariate analysis, we used the IBM SPSS<sup>TM</sup>-22 software.

**Results:** A total of 2,898 patients was included; the mean age was 65.1 years, and 50.7% were men; 69.4% (n=2010) of people received monotherapy and 30.6% combination therapy with two to five antiparkinson drugs. The most frequently prescribed drugs were: levodopa 45.5% (n=1,318 patients), biperiden 23.1% (670), amantadine 18.3% (531) and pramipexole 16.3% (471). The most commonly used association was levodopa/carbidopa + entacapone (n=311; 10.7%). Multivariate analysis showed that being male (OR=1.56; 95%CI: 1.321-1.837), over 60 years (OR=1.41; 95%CI 1.112-1.782) and receiving treatment in the city of Barranquilla (OR=2.23; 95%CI 1.675-2.975) were statistically associated with a greater risk of using combination therapy; 68.2% (n=1,977) patients were given concomitant treatment with other drugs.

**Conclusions:** Prescribing habits of drugs with high therapeutic value predominated, mainly in antiparkinson drugs monotherapy. Most were employed in the usual recommended doses. It is necessary to explore the clinical effectiveness of the medications studied and differentiate between disease and parkinsonian syndromes subtypes.

**Key words:** Parkinson disease; antiparkinson agents; pharmacoepidemiology; drug prescriptions; drug utilization; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3781>

### Patrones de prescripción de fármacos antiparkinsonianos en un grupo de pacientes de Colombia, 2015

**Introducción.** La enfermedad de Parkinson, cuya prevalencia en Colombia es de 4,7 por 1.000 habitantes, constituye un problema de salud pública y un reto terapéutico para los profesionales de la salud.

**Objetivo.** Determinar los patrones de prescripción de fármacos antiparkinsonianos y las variables asociadas con su utilización en una población colombiana.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal. A partir de una base de datos de 3,5 millones de afiliados al sistema de salud, se seleccionaron pacientes con prescripción de medicamentos antiparkinsonianos de manera ininterrumpida entre el 1º de enero y el 31 de marzo de 2015. Se incluyeron variables sociodemográficas, farmacológicas y de medicación concomitante. El análisis multivariado se hizo con el programa IBM SPSS<sup>TM</sup>-22.

**Resultados.** Se hallaron 2.898 pacientes, con una edad media de 65,1 años, de los cuales el 50,7 % correspondía a hombres. El 69,4 % (n=2.010) de las personas recibía monoterapia y el 30,6 %, tratamiento combinado con dos a cinco medicamentos antiparkinsonianos. Los más prescritos eran la levodopa (45,5 %; n=1.318 pacientes), el biperideno (23,1 %; n=670), la amantadina (18,3 %; n=531) y el pramipexol (16,3 %; n=471). La asociación más utilizada fue la de levodopa-carbidopa y entacapone

#### Author's contributions:

All authors participated in the drafting, data collection, data analysis, description and discussion of results, and in the writing of the manuscript.

( $n=311$ ; 10,7 %). En el análisis multivariado se encontró que ser hombre (*odds ratio*,  $OR=1,56$ ;  $IC_{95\%}$  1,321-1,837), ser mayor de 60 años ( $OR=1,41$ ;  $IC_{95\%}$  1,112-1,782) y recibir tratamiento en Barranquilla ( $OR=2,23$ ;  $IC_{95\%}$  1,675-2,975), se asociaban con una mayor probabilidad de emplear el tratamiento combinado. Al 68,2 % ( $n=1.977$ ) de los pacientes se les había prescrito tratamiento concomitante con otros medicamentos.

**Conclusión.** Predominaron los hábitos de prescripción de medicamentos con gran valor terapéutico, principalmente en la monoterapia, la mayoría en las dosis usuales recomendadas. Es necesario explorar la efectividad clínica de las prescripciones estudiadas, y diferenciar entre la enfermedad y los subtipos de síndromes parkinsonianos.

**Palabras clave:** enfermedad de Parkinson; antiparkinsonianos; farmacoepidemiología; prescripciones de medicamentos; utilización de medicamentos; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3781>

Parkinson's disease is the second most common movement disorder in the world and the second most frequent neurodegenerative disease. It is characterized by nigrostriatal neuronal loss and the presence of alpha-synuclein inclusion bodies called Lewy bodies, with a subsequent dopamine deficiency (1).

The estimated global incidence is about 4.5-19 cases per 100,000 inhabitants a year and prevalence varies between 71 and 258 cases per 100,000 people as reported by the World Health Organization (WHO). In the case of Europe, the prevalence is 100-200 cases per 100,000 people (1,2). There is an increased prevalence with advanced age, and between 1% and 2% of the population over 65 years suffer from the disease (3-5).

The costs of the pathology in the United Kingdom are estimated to be £3.3 billion and in the United States, the cost per patient per year is about USD\$ 10,000, which is equivalent to a total cost of the disease of USD\$ 23 billion per year (6).

In Colombia, the reported prevalence of Parkinson's disease in those over 50 years of age varies from 1.76 (95%CI 1.66-1.86) up to 4.7 (95%CI 2.20-8.90) per 1,000 inhabitants, predominantly male (7-9). Through the capture-recapture method, it has been established that of 551 individuals, 80.4% suffer idiopathic Parkinson's disease and the remaining 19.6% suffer from Parkinsonian syndrome, including that secondary to drugs. It is estimated that 180,000 persons have the disease in the country, making it a public health problem (10).

Today, the options for providing drug treatment have increased extensively, with around a dozen of active principles grouped into six different pharmacological groups, which are used not only in Parkinson's disease but in other Parkinsonian syndromes and in the drug-induced type, among other indications.

The Colombian health system (*Sistema General de Seguridad Social en Salud*, SGSSS) contemplates a list of drugs within the benefit plan for its affiliates that includes several drugs for the above-mentioned morbidities. In this context and given that no studies on the use of these drugs in Colombia was found, the main objective of this study was to determine the prescribing patterns of antiparkinson drugs and the variables associated with their use in the country. This may also help to gain data that could lead to the improvement and update of programs aimed at achieving a proper use of and better patient-targeted treatment.

## Materials and methods

This was a cross-sectional study on the prescribing habits of antiparkinson drugs in a population of approximately 3.5 million people affiliated to the contributory scheme of the SGSSS in five health insurance companies (*Empresas Prestadoras de Servicios*, EPS), corresponding to about 15.9% of the active population affiliated to this regime in the country and to 7.2% of the Colombian population. We analyzed the prescription data of patients treated between 1<sup>st</sup> January and 31<sup>st</sup> March of 2015 in 60 Colombian cities.

Data included individuals of all ages and of either sex who were receiving antiparkinson drugs and whose treatment was maintained uninterrupted for at least 3 months. This requirement was meant to ensure that patients complied consistently with the treatment, reflecting tolerability and adherence to the medication, while those people who missed

Corresponding author:

Jorge Enrique Machado-Alba, Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia  
Telephone: (57) (310) 832 6970; fax: (576) 313 7822  
[machado@utp.edu.co](mailto:machado@utp.edu.co)

Received: 30/01/17; accepted: 21/03/18

prescriptions during the observation period were excluded, as it was considered that these individuals would introduce a bias into a study that aimed to describe patterns of medications continuously.

From the information on the consumption of drugs, systematically obtained by the dispensing company Audifarma, S.A., a database was designed that allowed the collection of the following groups of variables:

1. Sociodemographic: gender, age (adult: 18-64 years old, young-old: 65 to 74 years, old: 75 to 84 years, and oldest-old: 85 or more years) and city;
2. antiparkinson drug: drug name, dosage and quantity delivered.

The defined daily dose (DDD) was used as the unit of measure of the usage of the following drugs, as recommended by the WHO, and expressed as defined daily dose (DDD) per 1,000 inhabitants per day:

- a) precursor of dopamine (levodopa-carbidopa, levodopa-benserazide);
- b) anticholinergic drug (biperiden);
- c) dopamine receptor agonists (cabergoline, rotigotine, pramipexole, etc.);
- d) inhibitors of catechol-o-methyl transferase [COMT] (entacapone);
- e) N-methyl-D-aspartate [NMDA] receptor antagonist (amantadine), and
- f) monoamine oxidase-B inhibitors (selegiline, rasagiline).

The unitary and total costs, and the cost per 1,000 inhabitants/day ( $CHD = [\text{cost}/365 \times \text{number of inhabitants}] \times 1,000$ ) were used to estimate the economic impact of the dispensation of antiparkinson drugs using the average price of the most commonly used drug presentation and the reference price of the distribution company for different EPS (reference value according to the Bank of the Republic of Colombia: USD\$ 1 = COP\$ 2,576 Colombian pesos (on 31st March, 2015).

Comedication was accepted as a substitute indicator of chronic disease, considering the following circumstances:

- a) antidiabetics and insulins/diabetes mellitus;
- b) antiulcer medication/peptic ulcer disease;
- c) psychostimulants/apathy, anhedonia and drowsiness;

- d) antidepressants/depressive disorder;
- e) anxiolytics and hypnotics/anxiety or sleep disorders;
- f) lipid-lowering medication/dyslipidemia;
- g) thyroid hormone/hypothyroidism;
- h) nitrovasodilators/ischemic heart disease;
- i) diuretics and antihypertensives/hypertension;
- j) mood stabilizers/bipolar affective disorder;
- k) antipsychotics/psychosis-schizophrenia;
- l) antimentia/dementia and Alzheimer's disease;
- m) antithyroid medication/hyperthyroidism;
- n) anticonvulsants/epilepsy;
- o) bronchodilators/asthma or chronic obstructive pulmonary disease;
- p) laxative/constipation;
- q) antiemetic/nausea;
- r) analgesics/pain.

In such cases, the convenience of the association with the antiparkinson drug was analyzed based on the pharmacological effects they may have on comorbidity.

The protocol received the approval of the bioethics committee of the Universidad Tecnológica de Pereira and was classified as "research without risk", safeguarding the identity of the patients according to the recommendations of the Declaration of Helsinki.

The statistical package SPSS™ Statistics 22.0 (IBM, USA) for Windows was used for data analysis. Descriptive statistics were used: means, standard deviation, minimum and maximum values for continuous variables and percentages for categorical variables. T-test or ANOVA was used for quantitative variables comparison and  $\chi^2$  for categorical. A logistic regression model was performed using as a dependent variable the use of antiparkinson drugs alone or in combination (yes/no), and also the need for comedications (yes/no), and as covariates those significantly associated with them in the bivariate analyses. The statistical significance level was determined as  $p < 0.05$ .

## Results

From 2,898 patients affiliated to SGSSS on treatment with antiparkinson drugs for a period of not less than 3 months, the distribution by gender

showed that 1,468 (50.7%) were men and 1,430 (49.3%) women, with a mean age of  $65.1 \pm 16.0$  years (rank: 16.5-103.2 years); the distribution by age groups identified 972 adults (33.5% of the patients), 519 (17.9%) young-old, 529 (18.3%) old and 174 (6.9%) oldest-old. It stood out that 1,570 patients (54.2%) were over 60 years of age (figure 1).

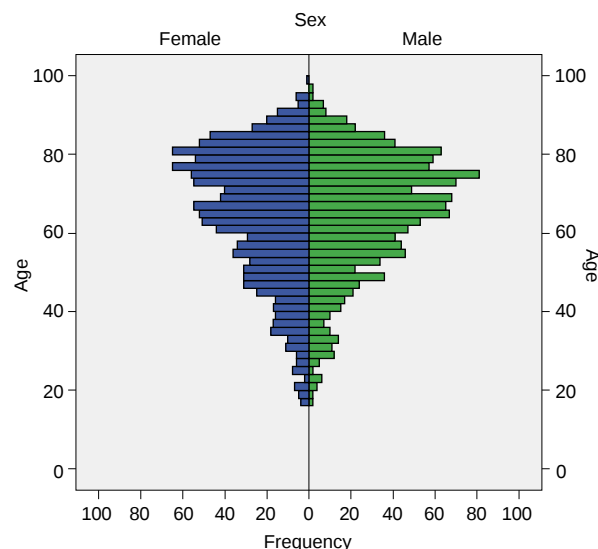
Table 1 summarizes the prescribing patterns of antiparkinson drugs most frequently used in Colombia. Considered by pharmacological groups, 45.5% of patients were using levodopa, while 31.6% received a dopamine agonist. Levodopa-carbidopa and amantadine were being used at usual doses, pramipexole and selegiline were being used above the DDD, while cabergoline and biperiden were below. In this study, no patient was prescribed with pergolide, tolcapone or trihexyphenidyl.

### **Monotherapy versus combination therapy**

Of the total study patients, 2,010 (69.4%) were prescribed with one, while 888 (30.6%) received a combination of two or more antiparkinsonian agents. There were 687 (23.7% of the total) patients receiving two drugs, 155 (5.3%) receiving three, 44 (1.5%) receiving four, and even two (0.1%) patients receiving five of these drugs. Figure 2 shows the relationship between monotherapy and combination therapy for some of the drugs that were evaluated, and that monotherapy was more usual than combination therapy. Statistically significant differences were found between those receiving monotherapy according to sex (women: 74.3% vs. men: 64.5%;  $p < 0.001$ ).

Among the 888 patients who were prescribed with antiparkinson drugs combinations, the most frequently used were: levodopa/carbidopa + entacapone ( $n=311$ ; 10.7%), levodopa/carbidopa + amantadine ( $n=152$ ; 5.2%), levodopa/carbidopa + pramipexole ( $n=52$ ; 1.8%), and levodopa/carbidopa + biperiden ( $n=35$ ; 1.2%). The most common combinations of three of these drugs were: levodopa/carbidopa + entacapone + pramipexole ( $n=38$ ; 1.3%), levodopa/carbidopa + entacapone + amantadine ( $n=25$ ; 0.9%) followed by levodopa/carbidopa + amantadine + pramipexole ( $n=16$ ; 0.5%).

Multivariate analysis of the relationship between the use of antiparkinson combination therapy and other variables showed that being male, being over 60 years of age, being treated in the city of Barranquilla, and being affiliated with the EPS 1 were statistically associated with a greater likelihood of receiving combined therapy, while being an adult



**Figure 1.** Distribution of 2,898 patients treated with antiparkinson medication by age and sex, Colombia, 2015

between 18 and 64 years was associated with a lower probability of being treated with more than one drug from the group (table 2).

### **Comedication**

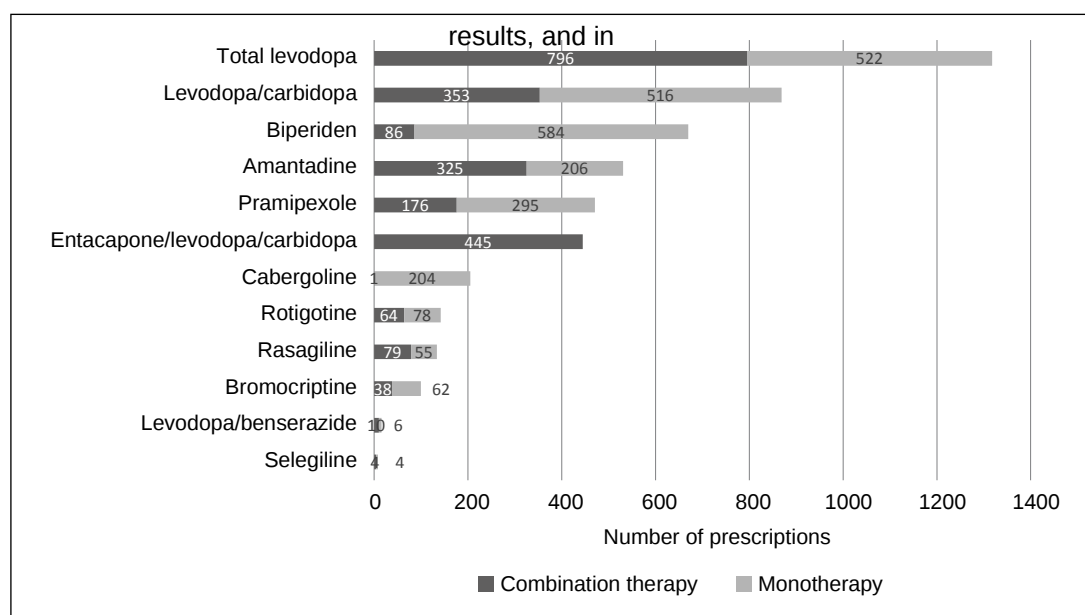
Parkinson's disease and Parkinsonian syndrome are often accompanied by comorbidities that need additional treatment. Among the subjects included, 1,977 patients (68.2%) concomitantly received one or more of the following groups of drugs that reflect comorbidity and could interact with some antiparkinsonian agents: antihypertensives ( $n=956$ ; 33.0% of the patients); lipid-lowering drugs ( $n=756$ ; 26.1%); analgesics ( $n=685$ ; 23.6%); antiulcer medication ( $n=671$ ; 23.2%); diuretics ( $n=450$ ; 15.5%); classical antipsychotics ( $n=387$ ; 13.4%); atypical antipsychotics ( $n=381$ ; 13.1%); levothyroxine ( $n=355$ ; 12.2%); oral hypoglycemic agents and insulins ( $n=274$ ; 9.4%, and from these, 28.5% were using insulin); atypical antidepressants ( $n=256$ ; 8.8%); benzodiazepines and z-drugs ( $n=235$ ; 8.1%); lamotrigine and valproic acid ( $n=190$ ; 6.1%); laxatives ( $n=177$ ; 6.1%); inhaled bronchodilators ( $n=141$ ; 4.9%); gabapentin or pregabalin ( $n=142$ ; 4.9%); tricyclic antidepressants ( $n=25$ ; 4.3%); antidementia medications ( $n=116$ ; 4.0%); metoclopramide ( $n=42$ ; 1.4%); oxybutynin or tolterodine ( $n=22$ ; 0.8%). None of the patients received lithium.

No statistically significant differences were found between receiving comedication and sex (male: 68.7% vs. female: 67.8%). A statistically significant

**Table 1.** Prescription patterns of antiparkinson drugs used in 2,898 patients in Colombia, 2015

| Medication                                   | Prescriptions /users |      | Prescribed dose (mg/day) |           | Sex ratio M:F | Mean age (SD) | Range  |
|----------------------------------------------|----------------------|------|--------------------------|-----------|---------------|---------------|--------|
|                                              | # patients           | %    | Mean                     | Mode      |               |               |        |
| Levodopa total                               | 1318                 | 45.5 | 563.7                    | 500       | 1.2:1         | 72.2 (11.5)   | 30-101 |
| Levodopa/carbidopa tablet                    | 869                  | 30.0 | 600.0                    | 500       | 1.2:1         | 72.5 (11.3)   | 30-101 |
| 100 + 25 mg                                  | 94                   | 3.2  | 350.9                    | 400       | 0.7:1         | 72.3 (11.5)   | 41- 99 |
| 250 + 25mg                                   | 776                  | 26.8 | 629.4                    | 500       | 1.3:1         | 72.5 (11.3)   | 30-101 |
| Levodopa/benserazide tablet                  | 16                   | 0.6  | 525.0                    | 800       | 0.5:1         | 75.4 (10.0)   | 57- 91 |
| 200 + 50 mg                                  |                      |      |                          |           |               |               |        |
| Entacapone/levodopa/carbidopa* coated tablet | 445                  | 15.4 | 712.5 / 479.1            | 600 / 300 | 1.5:1         | 71.3 (12.1)   | 30- 91 |
| 200 + 100 + 25 mg                            | 205                  | 7.1  | 609.8 / 304.9            | 600 / 300 | 1.4:1         | 72.4 (11.2)   | 30- 89 |
| 200 + 150 + 37.5 mg                          | 101                  | 3.5  | 806.6 / 604.9            | 800 / 600 | 1.4:1         | 68.6 (13.4)   | 31- 90 |
| 200 + 200 + 50 mg                            | 95                   | 3.3  | 869.5 / 869.5            | 800 / 800 | 2.7:1         | 69.5 (13.3)   | 36- 91 |
| 200 + 50 + 12.5 mg                           | 44                   | 1.5  | 636.4 / 159.1            | 600 / 150 | 0.8:1         | 74.6 (9.3)    | 50- 90 |
| Biperiden tablet 2 mg                        | 670                  | 23.1 | 3.7                      | 4         | 1.4:1         | 57.4 (16.8)   | 16-101 |
| Amantadine tablet 100 mg                     | 531                  | 18.3 | 204.7                    | 200       | 0.9:1         | 69.7 (11.9)   | 27- 96 |
| Pramipexole sustained release tablet         | 471                  | 16.3 | 2.7                      | 3         | 1.0:1         | 68.0 (10.9)   | 35- 95 |
| 0.375 mg                                     | 31                   | 1.1  | 0.4                      | 0.375     | 0.6:1         | 67.5 (11.7)   | 46- 82 |
| 0.75 mg                                      | 60                   | 2.1  | 0.9                      | 0.75      | 0.8:1         | 70.1 (10.0)   | 43- 88 |
| 1.5 mg                                       | 116                  | 4.0  | 1.7                      | 1.5       | 0.8:1         | 69.3 (11.9)   | 35- 91 |
| 3.0 mg                                       | 156                  | 5.4  | 3.2                      | 3         | 1.3:1         | 67.5 (1.06)   | 38- 95 |
| 4.5 mg                                       | 111                  | 3.8  | 4.6                      | 4.5       | 1.5:1         | 66.2 (10.4)   | 40- 90 |
| Cabergoline tablet 0.5 mg                    | 205                  | 7.1  | 0.1                      | 0.07      | 0.2:1         | 41.8 (11.8)   | 17- 81 |
| Rotigotine transdermal patch                 | 142                  | 4.9  | 17.8                     | 16.8      | 1.1:1         | 68.5 (10.9)   | 36- 87 |
| 18 mg                                        | 92                   | 3.2  | 20.5                     | 16.8      | 1.0:1         | 67.1 (11.8)   | 36- 85 |
| 13.5 mg                                      | 27                   | 0.9  | 15.2                     | 12.6      | 0.9:1         | 70.6 (8.1)    | 51- 83 |
| 9 mg                                         | 26                   | 0.9  | 9.2                      | 8.4       | 2.3:1         | 71.0 (9.8)    | 51- 87 |
| Rasagiline tablet                            | 134                  | 4.6  | 1.0                      | 1         | 1.2:1         | 66.5 (11.9)   | 35- 95 |
| 0.5 mg                                       | 23                   | 0.8  | 0.6                      | 0.5       | 0.9:1         | 68.5 (10.5)   | 50- 83 |
| 1 mg                                         | 111                  | 3.8  | 1.0                      | 1         | 1.2:1         | 66.1 (12.2)   | 35- 95 |
| Bromocriptine tablet 2.5 mg                  | 100                  | 3.5  | 4.1                      | 2.5       | 0.4:1         | 57.1 (18.1)   | 17-103 |
| Selegiline tablet 5 mg                       | 8                    | 0.3  | 9.2                      | 10        | 1.7:1         | 75.1 (8.5)    | 65- 85 |

\* Calculations based on entacapone/levodopa; M:F= male:female; SD: Standard deviation

**Figure 2.** Frequency of antiparkinson medication prescription in combination therapy or monotherapy, Colombia, 2015.

association was found between receiving biperiden and atypical antipsychotics (OR=8.87; 95%CI 6.97-11.29) and classical antipsychotics (OR=184.17; 95%CI 107.99-336.10).

The multivariate analysis of the relationship between the use of comedication and other variables showed that using biperiden, levodopa/benserazide, rasagiline, and being treated in the cities of Pereira or Palmira were statistically associated with more probability of receiving other drug groups. While the variables being male, the use of amantadine, being treated in the city of

Bogotá and belonging to EPS 1, 2, 3, and 5 were associated with a lower likelihood of receiving any comedication (table 3).

### Comparison between cities

We compared the demographic variables and some prescribing indicators among the 60 Colombian cities included in this study; however, because of the low number of patients in some of them, table 4 only shows the seven largest, where 74.7% of the people evaluated resided. It can be seen that the differences were significant for the frequency of the use of monotherapy and for the comedication.

**Table 2.** Multivariate analysis of variables associated with combination treatment in patients on antiparkinson medication, Colombia, 2015

| Variables            | B      | SE   | Wald   | DF   | Sig.   | OR   | 95% CI |         |
|----------------------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|---------|
|                      |        |      |        |      |        |      | Lowest | Highest |
| Male sex             | 0.443  | 0.08 | 27.75  | 1.00 | <0.001 | 1.56 | 1.321  | 1.837   |
| Adult                | -0.704 | 0.11 | 38.02  | 1.00 | <0.001 | 0.49 | 0.396  | 0.619   |
| Young-old            | -0.014 | 0.14 | 0.01   | 1.00 | 0.922  | 0.99 | 0.752  | 1.295   |
| Middle-old           | 0.114  | 0.14 | 0.69   | 1.00 | 0.406  | 1.12 | 0.857  | 1.465   |
| >60 years            | 0.342  | 0.12 | 8.06   | 1.00 | 0.005  | 1.41 | 1.112  | 1.782   |
| City of Barranquilla | 0.803  | 0.15 | 30.03  | 1.00 | <0.001 | 2.23 | 1.675  | 2.975   |
| City of Palmira      | 0.220  | 0.24 | 0.86   | 1.00 | 0.354  | 1.25 | 0.782  | 1.986   |
| EPS 1                | 0.513  | 0.12 | 18.66  | 1.00 | <0.001 | 1.67 | 1.324  | 2.109   |
| EPS 3                | -0.068 | 0.14 | 0.24   | 1.00 | 0.628  | 0.93 | 0.711  | 1.229   |
| EPS 4                | 0.232  | 0.15 | 2.47   | 1.00 | 0.116  | 1.26 | 0.944  | 1.683   |
| Constant             | -1.402 | 0.13 | 108.87 | 1.00 | 0.000  | 0.25 |        |         |

B: Regression coefficient; SE: Standard error; DF: Degrees of freedom; Sig: Significance; OR: odds ratio; 95% CI: Confidence interval of 95 %. EPS: Health insurance company

**Table 3.** Multivariate analysis of variables associated with antiparkinson treatment with comedications, Colombia, 2015

| Variables                | B     | SE   | Wald   | DF   | Sig.   | OR    | 95% CI |         |
|--------------------------|-------|------|--------|------|--------|-------|--------|---------|
|                          |       |      |        |      |        |       | Lowest | Highest |
| Male sex                 | -0.34 | 0.10 | 12.25  | 1.00 | <0.001 | 0.71  | 0.589  | 0.861   |
| Amantadine use           | -0.28 | 0.12 | 5.39   | 1.00 | 0.020  | 0.76  | 0.598  | 0.957   |
| Biperiden use            | 3.91  | 0.25 | 249.32 | 1.00 | <0.001 | 49.77 | 30.644 | 80.843  |
| Entacapone/levodopa use  | 1.77  | 0.15 | 147.84 | 1.00 | <0.001 | 5.86  | 4.409  | 7.799   |
| Levodopa/benserazide use | 0.66  | 0.14 | 23.44  | 1.00 | <0.001 | 1.93  | 1.481  | 2.527   |
| Levodopa/carbidopa use   | -0.08 | 0.55 | 0.02   | 1.00 | 0.887  | 0.93  | 0.317  | 2.698   |
| Rasagiline use           | 1.32  | 0.11 | 133.34 | 1.00 | <0.001 | 3.73  | 2.985  | 4.667   |
| MAOI use                 | 0.02  | 0.80 | 0.00   | 1.00 | 0.977  | 1.02  | 0.215  | 4.869   |
| Young-old                | -0.32 | 0.77 | 0.17   | 1.00 | 0.678  | 0.73  | 0.159  | 3.309   |
| Bogotá                   | -0.94 | 0.18 | 26.37  | 1.00 | <0.001 | 0.39  | 0.271  | 0.558   |
| Pereira                  | 0.60  | 0.21 | 8.45   | 1.00 | 0.004  | 1.82  | 1.216  | 2.730   |
| Palmira                  | 1.03  | 0.36 | 8.16   | 1.00 | 0.004  | 2.79  | 1.380  | 5.638   |
| EPS1                     | -1.37 | 0.22 | 40.47  | 1.00 | <0.001 | 0.25  | 0.167  | 0.388   |
| EPS2                     | -1.43 | 0.23 | 39.59  | 1.00 | <0.001 | 0.24  | 0.154  | 0.374   |
| EPS3                     | -0.90 | 0.23 | 14.56  | 1.00 | <0.001 | 0.41  | 0.258  | 0.647   |
| EPS5                     | -1.17 | 0.21 | 31.87  | 1.00 | <0.001 | 0.31  | 0.206  | 0.465   |
| Constant                 | 1.01  | 0.22 | 20.78  | 1.00 | 0.000  | 2.75  |        |         |

B: Regression coefficient; S.E.: Standard error; DF: Degrees of freedom; Sig: Significance; OR: Odds ratio; 95% CI: Confidence interval of 95%; MAOI: Monoamineoxidase inhibitors; EPS: Health insurance company

**Table 4.** Comparison of some demographic variables and prescribing indicators of antiparkinson medications among Colombian cities, 2015

| Variable                      | Cali        | Bogotá      | Barranquilla | Pereira     | Palmira     | Cartagena   | Manizales   | Colombia    |
|-------------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                               | n=721       | n=702       | n=311        | n=182       | n=85        | n=83        | n=80        | n = 2898    |
| Mean age (SD)                 | 64.6 (16.2) | 62.9 (16.7) | 65.5 (14.3)  | 69.7 (14.0) | 66.9 (16.1) | 58.7 (19.4) | 66.3 (16.5) | 65.1 (16.0) |
| Male (%)                      | 54.6        | 44.3        | 52.7         | 45.6        | 56.5        | 57.8        | 48.8        | 50.7        |
| Monotherapy (%)               | 72.1        | 70.9        | 59.2         | 72.0        | 58.8        | 78.3        | 73.8        | 69.4        |
| Comedication (%)              | 70.6        | 56.8        | 66.2         | 78.6        | 87.1        | 74.7        | 60.0        | 68.2        |
| Prescription (%)              |             |             |              |             |             |             |             |             |
| Levodopa total                | 39.8        | 50.7        | 43.1         | 42.9        | 55.3        | 30.1        | 57.5        | 45.5        |
| Levodopa/carbidopa            | 26.1        | 30.6        | 28.6         | 24.2        | 36.5        | 24.1        | 45.0        | 30.0        |
| Biperiden                     | 35.6        | 6.6         | 19.3         | 13.2        | 35.3        | 44.6        | 7.5         | 23.1        |
| Amantadine                    | 16.1        | 11.1        | 36.3         | 30.2        | 11.8        | 10.8        | 11.3        | 18.3        |
| Pramipexole                   | 10.8        | 20.7        | 16.4         | 14.3        | 12.9        | 12.0        | 32.5        | 16.3        |
| Entacapone/levodopa/carbidopa | 13.2        | 20.5        | 15.1         | 18.7        | 20.0        | 6.0         | 12.5        | 15.4        |
| Cabergoline                   | 5.5         | 10.4        | 6.8          | 6.6         | 1.2         | 10.8        | 7.5         | 7.1         |
| Rotigotine                    | 3.5         | 6.1         | 10.9         | 2.2         | 2.4         | 8.4         | 5.0         | 4.9         |
| Rasagiline                    | 4.2         | 3.3         | 15.4         | 3.8         | 3.5         | 3.6         | 2.5         | 4.6         |
| Bromocriptine                 | 2.9         | 5.3         | 0.3          | 2.7         | 3.5         | 1.2         | 8.8         | 2.0         |
| Levodopa/benserazide          | 1.1         | 0.0         | 0.0          | 0.0         | 1.2         | 0.0         | 0.0         | 3.5         |
| Selegiline                    | 0.3         | 0.1         | 0.6          | 0.5         | 0.0         | 0.0         | 0.0         | 0.3         |
| Mean daily dose to DDD ratio  |             |             |              |             |             |             |             |             |
| Levodopa total                | 0.8         | 1.1         | 0.9          | 0.9         | 0.8         | 1.0         | 0.9         | 0.9         |
| Levodopa/carbidopa            | 0.9         | 1.1         | 1.0          | 0.9         | 1.0         | 1.0         | 0.9         | 1.0         |
| Biperiden                     | 0.4         | 0.4         | 0.4          | 0.3         | 0.4         | 0.4         | 0.4         | 0.4         |
| Amantadine                    | 1.1         | 1.0         | 1.1          | 0.8         | 0.9         | 1.3         | 1.0         | 1.0         |
| Pramipexole                   | 1.0         | 1.1         | 0.8          | 1.2         | 0.8         | 1.3         | 1.0         | 1.1         |
| Entacapone/levodopa/carbidopa | 0.7         | 0.8         | 0.7          | 0.7         | 0.7         | 0.7         | 0.8         | 0.7         |
| Cabergoline                   | 0.03        | 0.03        | 0.06         | 0.03        | 0.03        | 0.04        | 0.03        | 0.03        |
| Rasagiline                    | 1.0         | 1.0         | 0.9          | 1.0         | 1.0         | 1.1         | 1.0         | 1.0         |
| Bromocriptine                 | 0.1         | 0.1         | 0.1          | 0.1         | 0.1         | 0.1         | 0.1         | 0.1         |
| Levodopa/benserazide          | 0.8         | -           | -            | -           | 0.7         | -           | -           | 0.9         |
| Selegiline                    | 2.0         | 2.0         | 1.8          | 2.0         | -           | -           | -           | 1.8         |

DDD: Defined daily dose

The consumption of antiparkinson drugs was also presented as a percentage of DDD so that they could be useful in later comparisons.

### Economic analysis

It is estimated that on average 0.231 DDD per 1,000 inhabitants/day of levodopa/carbidopa are consumed, 0.069 DDD per 1,000 inhabitants/day of biperiden and 0.154 DDD of amantadine per 1,000 inhabitants/day. The total cost of dispensing levodopa/carbidopa for the affiliated population per year was COP\$ 167,398,836 (USD\$ 64,984). The cost of a prescribed daily dose for the 250/25 mg tablet was COP\$ 331.5 (USD\$ 0.13), and the CHD was COP\$ 73.4 (USD\$ 0.03), while the daily cost for the 100/25 mg tablet was COP\$ 2,185 (USD\$ 0.85).

The total cost of the dispensation of biperiden to the affiliated population for a year was COP\$ 49,959,408 (USD\$ 19,392). The cost of a pre-

scribed daily dose for a 2 mg tablet was COP\$ 203.9 (USD\$ 0.08), and the CHD was COP\$ 39.3 (USD\$ 0.02). The total cost of the dispensation of amantadine was COP\$ 172,550,624 (USD\$ 66,984). The cost of a prescribed daily dose for 100 mg tablets was COP\$ 903.8 (USD\$ 0.35), and the CHD was COP\$ 135.9 (USD\$ 0.05).

### Discussion

This study allowed us to determine the prescribing patterns of the antiparkinson drugs used most frequently with patients affiliated to the SGSSS of Colombia; these findings can be used by health managers to make decisions aimed at improving the health care of patients with Parkinson's disease and other movement disorders.

The distribution by sex and age of Parkinson's disease worldwide is diverse depending on the study design, geographic location, and ethnicity (1). Studies in Japan and Italy reported that over

55.0% of patients were women (11,12), while in Sweden 53.9% were men (13). The fact that no sex differences were found after 60 years of age differs from the literature where after this age there is a predominance of males (1).

Levodopa/carbidopa is the most commonly used drug in different studies, and in this case, since it is part of the closed list of drugs that make up the plan of benefits from the SGSSS, its use as gold standard treatment is encouraged (11-13). Otherwise, other medications such as the dopamine agonists, which are not included in this list, had a lower prescription (11,14); but it should be clarified that it is possible to prescribe drugs outside the list, requested through the evaluation of a scientific technical committee or with legal tools for the protection of rights (14). The order of frequency could represent the current recommendations for levodopa use, which is preferred in people over 60 years of age (the most prevalent in this study population), and leaving the use of dopamine agonists for younger patients with the disease (4,15). It is noteworthy that most antiparkinsonian medications are being used at the recommended DDD.

Recent studies have shown similar data on monotherapy (63.0-71.0%) (16), but there are also reports of increased use of combination therapy (50.0%) (12). In the present work, the most frequent combination corresponds to levodopa/carbidopa plus entacapone, unlike other studies where the levodopa/carbidopa plus dopamine agonist association was the most prescribed (12,17).

The analysis of comorbidities showed that they mostly correspond to common diseases in elderly patients, such as hypertension and dyslipidemia, which is consistent with the mean age of the study patients, although the proportion of patients with diabetes mellitus in this study is lower than expected for this age group in general; however, there have been prevalence reports as low as 1.6% in patients with Parkinson's disease (12).

It is important to note that a large proportion of patients received analgesics and antiulcer drugs, which is not consistent with results from other studies where comedication with these groups of drugs does not reach 10%. A high consumption of antipsychotics was observed (26.5% of the patients), associated with the use of biperiden, an expected outcome as this is a drug commonly used for the management of induced Parkinson, especially by neuroleptics (3,18). In the group of

antidepressants, the frequency of use was less than 10%, contrary to those reported in a study with patients diagnosed with Parkinson's disease where depression was identified in about 35% of patients, which may indicate underdiagnosis in this group of patients (19).

Another important aspect of comedication was the presence of drugs used for the management of non-motor symptoms of Parkinson's that relate especially to autonomic disorders, such as the use of laxatives in constipation, the use of oxybutynin and botulinum toxin for alterations in frequency and urinary urgency, or inhibitors of 5-phosphodiesterase in erectile dysfunction (0.1% in this study *versus* 68.0% in patients with Parkinson) (20,21). This may be an indicator that non-motor manifestations are not identified in the medical controls of these patients, and worse, they are not being treated, which can affect the patient's quality of life.

The estimated costs of treatment with the major antiparkinson drugs identified in the study were lower than those reported for other populations (6,22), possibly because generic drugs are used in most cases and some of these prices are regulated by the health authorities.

The differences regarding prescribing patterns between different Colombian cities in the study, including the frequencies of use of some antiparkinson medications (table 4), are not surprising, since variability in health care, particularly in prescribing habits, is a constant finding in pharmaco-epidemiologic studies (23).

This research has certain limitations regarding the interpretation of some results because the information was obtained from databases and not directly from the patient or the prescriber, and no medical records were consulted, which will be addressed with further drug-utilization studies in the second phase of this research line. It is necessary to collect information about the classification as Parkinson's disease or Parkinsonian syndrome subtype, the incidence of adverse events, adherence to prescribed treatment, the degree of control of symptoms and the impact on the quality of life. Since these variables were not assessed, it is unknown whether the prescription was either needed or appropriate. It is noteworthy that the data come from a captive population receiving drugs on a specific list, so the findings apply to populations with similar characteristics of insurance and health care.

From the prescribing patterns found in this study, it can be concluded that, in general, the drug-prescribing habits of medications with high therapeutic value included in the list of essential drugs in the country, mainly in monotherapy and at recommended doses, predominate. A significant number of patients receiving classical and atypical antipsychotics was found; this was associated with drug-induced Parkinsonism, which leads to the use of biperiden in particular. Hypertension, dyslipidemia and pain management were the most common comorbid conditions.

It is recommended to conduct new studies to describe the effectiveness of antiparkinson treatment in this group of patients by assessing the relevance of the dosing and the comedication they receive and providing useful tools to reduce the risk of interactions. Meanwhile, programs of continuing medical education including the results of this study can be implemented aimed at treating physicians of this group of patients as a strategy to improve the prescription of antiparkinson drugs, as has been described before for other pathologies (24).

### Acknowledgments

To Viviana Andrea Orozco, Soffy López and Andrea Orozco.

### Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interests.

### References

- Alves G, Forsaa EB, Pedersen KF, DreetzGjerstad M, Larsen JP. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol*. 2008;255:18-32. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-5004-3>
- World Health Organization. Neurological Disorders: Public Health Challenges. Chapter 3: Neurological disorders: A public health approach. Geneva: WHO; 2006. p. 140-8.
- Nutt JG, Wooten GF. Clinical practice. Diagnosis and initial management of Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2005;353:1021-7. <https://doi.org/10.1056/NEJMc043908>
- Jankovic J, Poewe W. Therapies in Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*. 2012;25:433-47. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e3283542fc2>
- Grupo de Trastornos del Movimiento de la Asociación Colombiana de Neurología. Generalidades de la enfermedad de Parkinson. *Acta Neurol Colomb*. 2014;30:2-7.
- Findley LJ. The economic impact of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2007;13:S8-S12. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2007.06.003>
- Takeuchi Y, Guevara JG. Prevalencia de las enfermedades neurológicas en el Valle del Cauca. Estudio Neuroepidemiológico Nacional (EPINEURO). *Colomb Med*. 1999;30:74-81.
- Pradilla AG, Vesga A BE, León-Sarmiento FE, Grupo GENECO. National neuroepidemiological study in Colombia (EPINEURO). *Rev Panam Salud Pública*. 2003;14:104-11.
- Sánchez JL, Buriticá O, Pineda D, Uribe CS, Palacio LG. Prevalence of Parkinson's disease and parkinsonism in a Colombian population using the capture-recapture method. *Int J Neurosci*. 2004;114:175-82. <https://doi.org/10.1080/00207450490269444>
- Díazgranados JA, Chan L, Gómez LF, Lozano AF, Ramírez M. Descripción de la población de pacientes con enfermedad de Parkinson en un centro médico neurológico en la ciudad de Cali, Colombia. *Acta Neurol Colomb*. 2011;27:205-10.
- Gaida R, Truter I. Prescribing patterns for Parkinson's disease in a South African patient population. *J App Pharm Sci*. 2014;4:29-34. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40307>
- Leoni O, Martignoni E, Cosentino M, Michielotto D, Calandrella D, Zangaglia R, et al. Drug prescribing patterns in Parkinson's disease: A pharmacoepidemiological survey in a cohort of ambulatory patients. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2002;11:149-57. <https://doi.org/10.1002/pds.682>
- Nakaoka S, Ishizaki T, Urushihara H, Satoh T, Ikeda S, Yamamoto M, et al. Prescribing pattern of anti-Parkinson drugs in Japan: A trend analysis from 2005 to 2010. *PLoS One*. 2014;9:e99021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099021>
- Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución No. 5926 de 23 de diciembre de 2014. Cited: October 5, 2015. Available in: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%205926%20de%202014.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%205926%20de%202014.pdf)
- Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: A review. *JAMA*. 2014;311:1670-83. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.3654>
- Trifirò G, Savica R, Morgante L, Vanacore N, Tari M, Moretti S, et al. Prescribing pattern of anti-Parkinson drugs in Southern Italy: Cross-sectional analysis in the years 2003-2005. *Parkinsonism Relat Disord*. 2008;14:420-5. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2007.10.010>
- Tan EK, Yeo AP, Tan V, Pavanni R, Wong MC. Prescribing pattern in Parkinson's disease: Are cost and efficacy overriding factors? *Int J Clin Pract*. 2005;59:511-4. <https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2005.00426.x>
- Gjerden P, Slordal L, Bramness JG. The use of antipsychotic and anticholinergic antiparkinson drugs in Norway after the withdrawal of orphenadrine. *Br J Clin Pharmacol*. 2009;68:238-42. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2009.03446.x>
- Althaus A, Becker OA, Spottke A, Dengler R, Schneider F, Kloss M, et al. Frequency and treatment of depressive symptoms in a Parkinson's disease registry. *Parkinsonism Relat Disord*. 2008;14:626-32. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2008.01.016>
- Mostile G, Jankovic J. Treatment of dysautonomia associated with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009;15(Suppl.3):S224-32. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(09\)70820-X](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(09)70820-X)
- Seppi K, Weintraub D, Coelho M, Pérez-Lloret S, Fox SH, Katzenschlager R, et al. The movement disorder society evidence-based medicine review update: Treatments for the

- non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2011;26(Suppl.3):S42-80. <https://doi.org/10.1002/mds.23884>
22. **Abasolo-Osinaga E, Abecia-Inchaurregui LC, Fernández-Díaz E, Barcenilla-Laguna A, Bañares-Onraita T.** The prevalence and pharmacological cost of Parkinson's disease in Spain. *Rev Neurol.* 2006;43:641-5.
23. **Machado-Alba JE, Morales-Plaza CD.** Patrones de prescripción de antipsicóticos en pacientes afiliados al Sistema General de Seguridad Social en Salud de Colombia. *Biomédica.* 2013;33:418-28. <https://doi.org/10.1016/10.7705/biomedica.v33i3.1529>
24. **Machado-Alba JE, Giraldo-Giraldo C, Machado-Duque ME.** Quality of conventional release verapamil prescription in patients with arterial hypertension. *Rev Calid Asist.* 2015;30:72-8. <https://doi.org/10.1016/j.cali.2015.01.009>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Niveles séricos de adipocitocinas y resistencia a la insulina en el primer trimestre de gestación en adolescentes y su relación con el peso del recién nacido

Islendy Noreña<sup>1,2</sup>, Myriam Patricia Pardo<sup>1</sup>, Ismena Mockus<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Cuidado Materno Perinatal, Facultad de Enfermería, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> División de Lípidos y Diabetes, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Poco se ha estudiado en adolescentes gestantes la fisiología del embarazo con respecto al comportamiento de las adipocitocinas y según el modelo homeostático HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*) para evaluar la resistencia a la insulina y su relación con el peso del recién nacido.

**Objetivo.** Determinar posibles correlaciones entre las adipocitocinas leptina y adiponectina, y el HOMA-IR en adolescentes gestantes de 14 a 17 años, el índice de masa corporal en el primer trimestre de gestación y el peso del recién nacido.

**Materiales y métodos.** En las semanas 11 a 14 de gestación, se midieron las variables bioquímicas de la leptina y la adiponectina, así como de la glucemia y la insulina, y se calculó el puntaje del HOMA-IR. Se obtuvieron los datos sobre las variables antropométricas de las madres y los recién nacidos. En el análisis estadístico se calcularon la correlación de Pearson y el valor de p.

**Resultados.** Se evidenció una correlación positiva entre los niveles séricos de la leptina y el HOMA-IR en el primer trimestre de gestación ( $r=0,5$ ;  $p\leq 0,000$ ) y una negativa entre la adiponectina y el HOMA-IR ( $r=-0,4$ ;  $p=0,017$ ), además de correlaciones positivas del índice de masa corporal con la leptina, la insulina y el HOMA-IR ( $r=0,83$  y  $p<0,000$ ;  $r=0,56$  y  $p=<0,000$ , y  $r=0,54$  y  $p\leq 0,000$ , respectivamente). En madres adolescentes sin obesidad ni antecedentes de dislipidemia, se registró una correlación positiva entre la evaluación HOMA-IR y el peso neonatal ( $r=0,43$ ;  $p=0,012$ ).

**Conclusiones.** La leptina y el HOMA-IR presentaron una correlación positiva, y la adiponectina y el HOMA-IR, una negativa. La leptina y el HOMA-IR se correlacionaron de manera positiva con el IMC. El HOMA-IR se correlacionó con el peso de los recién nacidos de adolescentes sin obesidad ni dislipidemia.

**Palabras clave:** resistencia a la insulina; leptina; adiponectina; embarazo en adolescencia; recién nacido; peso al nacer.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.4035>

### Serum adipokine levels and insulin resistance in the first trimester of pregnancy in adolescents and their relationship with neonatal weight

**Introduction:** The approach to the physiology of pregnancy based on adipokine behavior and the homeostasis-insulin resistance (HOMA-IR) model, along with their relationship to neonatal weight, has been poorly studied in adolescent pregnant women.

**Objective:** To determine possible correlations between adipokines –leptin and adiponectin– and HOMA-IR in pregnant women aged 14 to 17 years, and first-trimester body mass index (BMI) and neonatal weight.

**Materials and methods:** In the weeks 11 to 14 of gestation, the biochemical variables leptin, adiponectin, glycemia and insulin were measured and HOMA-IR was calculated. Maternal and neonatal anthropometric variables were obtained. Statistical analysis was performed with Pearson correlation and the p value.

**Results:** We noticed a positive correlation of serum leptin levels with HOMA-IR in the first trimester of gestation ( $r=0.5$ ,  $p\leq 0.000$ ) and a negative correlation between adiponectin and HOMA-IR ( $r=-0.4$ ;  $p=0.017$ ), along with positive correlations between BMI and leptin, insulin and HOMA-IR ( $r=0.83$  and

#### Contribución de los autores:

Islendy Noreña e Ismena Mockus: concepción y diseño del estudio, análisis e interpretación de resultados

Islendy Noreña y Myriam Patricia Pardo: recolección y consolidación de datos

Todas las autoras participaron en la escritura del manuscrito.

$p < 0.000$ ,  $r = 0.56$  and  $p \leq 0.000$ ;  $r = 0.54$  and  $p \leq 0.000$ , respectively). In adolescent non-obese mothers with no history of dyslipidemia, there was a positive correlation between HOMA-IR and neonatal weight ( $r = 0.43$ ,  $p = 0.012$ ).

**Conclusions:** Leptin and HOMA-IR showed a positive correlation, while adiponectin and HOMA-IR showed a negative correlation. Leptin and HOMA-IR were positively correlated with BMI. HOMA-IR correlated with the weight of neonates of non-obese adolescents without dyslipidemia.

**Key words:** Insulin resistance; leptin; adiponectin; pregnancy in adolescence; infant, newborn; birth weight.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.4035>

El embarazo en mujeres adolescentes es de interés para la salud pública y la ginecoobstetricia. En su estudio prima el componente nutricional, ya que sus alteraciones se asocian con complicaciones durante el periodo prenatal, el parto y el posparto, lo que aumenta los riesgos de un mal resultado obstétrico.

Por una parte, las mujeres gestantes con alteraciones nutricionales, como la obesidad, presentan un mayor riesgo de aborto y una disminución de las tasas de implantación embrionaria, así como predisposición a padecer síndromes hipertensivos, diabetes de la gestación, tromboembolia, infecciones puerperales y complicaciones de las heridas quirúrgicas. En el recién nacido, hay un mayor riesgo de macrosomía o bajo peso, hipoglucemia y de anomalías congénitas, que conllevan hospitalizaciones y estancias prolongadas en la unidad neonatal de cuidados intensivos (1).

Por otra parte, la deficiencia de hierro y la anemia en la gestación se asocian con resultados desfavorables para el feto y el desarrollo del embarazo, tales como retraso en el crecimiento intrauterino, parto prematuro, bajo peso y disminución de la respuesta inmunológica del recién nacido (2). En el 2015 en Colombia hubo un porcentaje mayor de estos casos en las madres menores de 20 años (7,8 % Vs. 7,6 % en madres entre los 20 y los 34 años; y 7,5 % en madres de 35 a 49 años) (3).

Es importante centrar la atención en las mujeres adolescentes gestantes, dado que en nuestro país la incidencia de estos casos sigue siendo elevada. La menarquía temprana, el pronto inicio de relaciones sexuales, los bajos niveles educativo y socioeconómico, el desconocimiento y la no utilización de métodos anticonceptivos constituyen factores de riesgo para el embarazo adolescente (3).

**Correspondencia:**

Isleny Noreña, calle 73 A N° 83-16, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfonos: (57) 391 7918 y (314) 236 9203  
[inorenaa@unal.edu.co](mailto:inorenaa@unal.edu.co)

Recibido: 16/08/17; aceptado: 02/04/18

Según el Fondo de Población de las Naciones Unidas (UNFPA), la región de Latinoamérica y el Caribe presenta la segunda tasa más alta de embarazos del mundo, y se estima que el 15 % de los nacimientos corresponde a mujeres menores de 20 años (4). Según la Encuesta Nacional de Demografía y Salud (ENDS, 2015), la tasa específica de fecundidad en mujeres adolescentes colombianas entre los 15 y los 19 años es de 17,4 %. Además, las mujeres adolescentes gestantes son un grupo de alto riesgo debido a sus necesidades nutricionales, las cuales difieren de las de la mujer adulta; en las adolescentes, se conjugan las necesidades nutricionales para su propio crecimiento con aquellas para el desarrollo fetal (5).

Es bien conocido que el embarazo se asocia con cambios en la ingestión de alimentos, la grasa corporal, el gasto energético y la resistencia a la insulina; además, en varios estudios se ha establecido que las adipocitocinas (leptina y adiponectina) juegan un papel importante en la regulación del metabolismo materno y, en algunos, se sugiere que la leptina guarda relación con la grasa corporal materna y el índice HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*), modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina (6).

Durante el embarazo se genera un estado de resistencia a la leptina asociado con disminución de su señalización en el hipotálamo, cuya posible función es mejorar la movilización de las reservas maternas de grasa para aumentar la disponibilidad de sustratos lipídicos e incrementar su transferencia transplacentaria (7).

En diversos artículos sobre las mujeres adolescentes gestantes, se ha descrito que en la adolescencia aumenta la concentración de leptina asociada con el aumento del tejido adiposo, y el inicio de la menarquía y la función reproductiva. Durante la gestación en las adolescentes, el incremento de la leptina se ha relacionado con retardo del crecimiento intrauterino y un mayor riesgo de bajo peso en el recién nacido (8).

La secreción de adiponectina, por su parte, disminuye gradualmente a medida que avanza la gestación. Estos niveles bajos pueden jugar un papel en el aumento de la resistencia a la insulina, aspecto que favorece la provisión de glucosa para el feto. La adiponectina se correlaciona negativamente con la masa grasa y, a medida que aumenta el tejido adiposo, disminuyen los niveles séricos de esta adipocitocina y aumenta la reserva energética para el feto y la placenta (7).

En estudios previos se han explorado las posibles correlaciones de estos biomarcadores séricos con algunas variables antropométricas fetales. En Chile se llevó a cabo un estudio prospectivo de casos y controles en adultas gestantes que se encontraban entre las semanas 11 y 14 de gestación para determinar la relación entre los niveles de adiponectina en el primer trimestre de gestación y el retardo del crecimiento fetal; se observó que, cuando los niveles de adiponectina eran mayores en el primer trimestre, el recién nacido podía presentar bajo peso (9).

En cuanto a la resistencia a la insulina, Crume, *et al.*, estudiaron las relaciones entre los niveles circulantes de glucosa y lípidos en la madre, y la resistencia a la insulina en la primera y la segunda mitad de la gestación y la composición corporal neonatal. Encontraron una correlación positiva entre el HOMA-IR de la primera mitad de la gestación con la masa grasa neonatal, independientemente del índice de masa corporal (IMC) al comienzo de la gestación. En la segunda mitad de la gestación, se presentó una correlación positiva entre los niveles de glucosa materna y el porcentaje de masa grasa fetal (10).

El desequilibrio entre el consumo y el gasto de energía puede influir en la duración del periodo de gestación y en el peso del recién nacido. Los recién nacidos pequeños o grandes para la edad de gestación se enfrentan a un mayor riesgo de mortalidad y a una variedad de problemas de salud, incluidas las enfermedades metabólicas y cardiovasculares en la edad adulta (11).

La fisiología del embarazo con respecto al comportamiento de las adipocitocinas leptina y adiponectina, el de la insulina y la evaluación HOMA-IR, se ha estudiado principalmente en mujeres adultas gestantes, pero poco en adolescentes gestantes. En este sentido, en este estudio se propuso determinar posibles correlaciones entre las adipocitocinas leptina y adiponectina, el IMC y el puntaje de

el HOMA-IR del primer trimestre de gestación en adolescentes entre 14 y 17 años, así como analizar las posibles correlaciones entre los biomarcadores séricos mencionados y el HOMA-IR con el peso del recién nacido.

## Materiales y métodos

Se hizo un estudio exploratorio, longitudinal, observacional y prospectivo que contó con el aval del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

Se incluyeron mujeres adolescentes de 14 a 17 años con 11 a 14 semanas de su primera gestación confirmada por ecografía, después de la firma del consentimiento y el asentimiento informados. Se descartaron los casos de adolescentes con discapacidades cognitivas, enfermedad mental, síndrome convulsivo, hipotiroidismo o hipertensión arterial previos al embarazo, así como los de embarazo gemelar. La muestra estuvo constituida por 40 adolescentes gestantes captadas en cuatro hospitales públicos de Bogotá.

Las participantes fueron citadas en ayunas en compañía de un acudiente a los respectivos centros de salud, donde asistían a los controles prenatales. Después de explicarles los objetivos y el alcance de la investigación, así como los procedimientos, y tras la firma de los consentimientos y asentimientos informados, se procedió a medir y a tomar la talla de cada participante para calcular el IMC. Se utilizaron una balanza mecánica (Healthometer®) y una cinta métrica. Cada participante debía estar descalza, con ropa ligera y en posición erguida en el momento de ser pesada, y para la talla, debía estar descalza, en posición erguida, con la mirada al frente, talones juntos y rodillas rectas contra una superficie lisa.

Como valores de referencia del peso materno, se tuvieron en cuenta los rangos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y adoptados por el Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia en la Resolución 00002465 de 2016: IMC bajo: menor de 20 kg/m<sup>2</sup>; IMC adecuado: 20 a 24,9 kg/m<sup>2</sup>; sobrepeso: 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup>; obesidad: igual o mayor a 30 kg/m<sup>2</sup> (12).

Se consideró el peso del niño al nacer registrado en la historia clínica confirmado por el reporte verbal de la madre adolescente. Se tuvieron en cuenta los siguientes rangos: bajo peso al nacer: inferior a 2.500 g; peso normal: 2.500 a 4.000 g; peso alto: mayor de 4.000 g (13,14).

Para las mediciones bioquímicas, se obtuvieron 10 ml de sangre venosa de la vena antecubital y, después de la centrifugación, los sueros se dividieron en tres alícuotas. Dos se almacenaron a -80 °C para determinar los niveles séricos de leptina, adiponectina e insulina, utilizando una prueba ELISA (R&D Systems®), y la otra se almacenó entre 2 y 8 °C para determinar la glucemia.

El índice del modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina HOMA-IR, se calculó mediante la siguiente fórmula: (glucemia basal (mmol/L) x insulina basal (μUI/ml))/k (k=22,5). Se recolectó la información de la atención del parto sobre la edad en semanas de gestación al nacer, el tipo de parto, el peso y la talla del recién nacido.

Los datos se analizaron mediante el programa estadístico SPSS™, versión 12. Las correlaciones entre las diferentes variables bioquímicas y antropométricas, se obtuvieron mediante el coeficiente de correlación de Pearson y, para la evaluación de las pruebas de hipótesis, se empleó la prueba de ji al cuadrado.

## Resultados

Las adolescentes gestantes se clasificaron según el IMC en el momento de ingreso en el estudio. Hubo 19 (47 %) con un IMC menor de 20 kg/m<sup>2</sup>, 16 (40 %) con un IMC normal, 4 (10%) con un IMC entre 25 y 29,9 kg/m<sup>2</sup>, y 1 (3 %) con uno mayor de

30 kg/m<sup>2</sup>. En el cuadro 1 se presenta la caracterización general de las adolescentes gestantes y se relacionan las medidas de tendencia central del IMC, los biomarcadores séricos, el índice HOMA-IR, y el peso y la talla de los recién nacidos.

Con el fin de evaluar la relación entre los biomarcadores séricos (leptina, adiponectina, insulina, glucemia) y el IMC inicial de las participantes, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson y sus correspondientes inferencias, así como la prueba de ji al cuadrado para determinar las relaciones significativas (cuadro 2). Se encontró una correlación positiva estadísticamente significativa ( $p < 0,0000$ ) entre los niveles circulantes de leptina y el IMC inicial ( $r = 0,839$ ). Asimismo, se observó una correlación positiva entre el IMC inicial y los niveles de insulina ( $r = 0,56$ ;  $p \leq 0,0001$ ), y entre el índice HOMA-IR y el IMC inicial ( $r = 0,54$ ;  $p = 0,0003$ ).

En el cuadro 3 se presentan las correlaciones entre los biomarcadores séricos del primer trimestre de gestación. Las correlaciones positivas significativas relacionadas con los niveles séricos de leptina, fueron: leptina e IMC inicial ( $r = 0,8$ ;  $p < 0,000$ ), leptina e insulina ( $r = 0,6$ ;  $p = 0,0001$ ), y leptina y el índice HOMA-IR ( $r = 0,5$ ;  $p = 0,0002$ ). En cuanto a los niveles séricos de la insulina, se encontraron las siguientes correlaciones positivas significativas: insulina e IMC inicial ( $r = 0,6$ ;  $p = 0,0002$ ), e insulina y glucemia basal ( $r = 0,5$ ;

**Cuadro 1.** Caracterización de las adolescentes gestantes en estudio

|                                  | n  | Media   | Desviación estándar | Mínimo  | Máximo  | Percentil 25 | Percentil 50 | Percentil 75 |
|----------------------------------|----|---------|---------------------|---------|---------|--------------|--------------|--------------|
| IMC inicial (kg/m <sup>2</sup> ) | 40 | 21,1    | 3,4                 | 14,7    | 33,6    | 19,2         | 20,4         | 22,7         |
| Leptina (ng/ml)                  | 40 | 24,4    | 22,5                | 3,3     | 115,1   | 10,0         | 17,8         | 29,3         |
| Adiponectina (μg/ml)             | 40 | 13,1    | 6,0                 | 3,0     | 29,8    | 9,0          | 13,0         | 16,6         |
| Insulina (μUI/ml)                | 40 | 8,4     | 5,4                 | 2,2     | 30,1    | 5,8          | 7,0          | 9,8          |
| Glucemia basal (mg/dl)           | 40 | 82,3    | 7,2                 | 68,0    | 97,0    | 77,7         | 81,4         | 87,4         |
| HOMA-IR (mmol/L x μUI/ml/ k)     | 40 | 1,7     | 1,3                 | 0,4     | 7,1     | 1,1          | 1,5          | 2,0          |
| Peso neonatal (g)                | 39 | 2.937,9 | 5.33,9              | 1.410,0 | 3.770,0 | 2.665,0      | 3.010,0      | 3.270,0      |
| Talla neonatal (cm)              | 39 | 49,6    | 3,4                 | 38,0    | 56,0    | 49,0         | 50,0         | 51,0         |

IMC: índice de masa corporal; HOMA-IR: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina (*Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*, HOMA-IR)

**Cuadro 2.** Correlaciones entre el índice de masa corporal inicial, los biomarcadores séricos y el índice HOMA-IR

|                        | CT<br>mg/dl | c- LDL<br>mg/dl | c-HDL<br>mg/dl | TGC<br>mg/dl | Leptina<br>ng/ml | Adiponectina<br>μg/ml | Insulina<br>μui/ml | Glucemia<br>mg/dl | HOMA - IR<br>(mmol/l x μUI/ml/k) | IMC<br>inicial |
|------------------------|-------------|-----------------|----------------|--------------|------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------------------------|----------------|
| IMC inicial            |             |                 |                |              |                  |                       |                    |                   |                                  |                |
| Correlación de Pearson | 0,166       | 0,037           | 0,123          | 0,013        | 0,839            | -0,124                | 0,56               | 0,196             | 0,54                             | 1              |
| Sig. (bilateral)       | 0,306       | 0,820           | 0,449          | 0,937        | 0,00000000001    | 0,448                 | 0,00017            | 0,225             | 0,00033                          |                |
| N                      | 40          | 40              | 40             | 40           | 40               | 40                    | 40                 | 40                | 40                               | 40             |

IMC: índice de masa corporal; HOMA-IR: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina (*Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*, HOMA-IR); k=22,5; CT: colesterol total; TGC: triglicéridos

**Cuadro 3.** Correlaciones entre los biomarcadores séricos en el primer trimestre de gestación

|                   |      | CT<br>(mg/dl) | Colesterol<br>HDL (mg/dl) | Colesterol<br>LDL (mg/dl) | TGC<br>(mg/dl) | Leptina<br>(ng/ml) | Adiponectina<br>(μg/ml) | Insulina<br>(μUI/ml) | Glucemia<br>basal<br>(mg/dl) | HOMA-IR<br>(mmol/L x<br>μUI/ml/ k) | IMC<br>inicial<br>(kg/m <sup>2</sup> ) | IMC final<br>(kg/m <sup>2</sup> ) |
|-------------------|------|---------------|---------------------------|---------------------------|----------------|--------------------|-------------------------|----------------------|------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|
| Leptina           | Cor  | 0,3           | 0,1                       | 0,2                       | -0,1           | 1,0                | -0,1                    | 0,6                  | 0,1                          | 0,5                                | 0,8                                    | 0,6                               |
|                   | Sig. | 0,1           | 0,5                       | 0,2                       | 0,7            |                    | 0,6                     | 0,000                | 0,4                          | 0,000                              | 0,0*                                   | 0,000                             |
|                   | N    | 40,0          | 40,0                      | 40,0                      | 40,0           | 40,0               | 40,0                    | 40,0                 | 40,0                         | 40,0                               | 40,0                                   | 40,0                              |
| Adiponectina      | Cor  | 0,4           | 0,4                       | 0,2                       | 0,0            | -0,1               | 1,0                     | -0,4                 | -0,3                         | -0,4                               | -0,1                                   | 0,0                               |
|                   | Sig. | 0,008         | 0,01                      | 0,3                       | 1,0            | 0,6                |                         | 0,025                | 0,048                        | 0,017                              | 0,4                                    | 0,9                               |
|                   | N    | 40,0          | 40,0                      | 40,0                      | 40,0           | 40,0               | 40,0                    | 40,0                 | 40,0                         | 40,0                               | 40,0                                   | 40,0                              |
| Insulina          | Cor  | 0,0           | -0,2                      | 0,0                       | 0,1            | 0,6                | -0,4                    | 1,0                  | 0,5                          | 1,0                                | 0,6                                    | 0,5                               |
|                   | Sig. | 0,9           | 0,2                       | 0,8                       | 0,6            | 0,0001             | 0,0254                  |                      | 0,003                        | 0,0                                | 0,000                                  | 0,003                             |
|                   | N    | 40,0          | 40,0                      | 40,0                      | 40,0           | 40,0               | 40,0                    | 40,0                 | 40,0                         | 40,0                               | 40,0                                   | 40,0                              |
| Glucemia<br>basal | Cor  | 0,0           | -0,3                      | 0,1                       | 0,0            | 0,1                | -0,3                    | 0,5                  | 1,0                          | 0,5                                | 0,2                                    | 0,2                               |
|                   | Sig. | 0,9           | 0,1                       | 0,7                       | 0,9            | 0,4                | 0,0484                  | 0,0030               |                              | 0,000                              | 0,2                                    | 0,2                               |
|                   | N    | 40,0          | 40,0                      | 40,0                      | 40,0           | 40,0               | 40,0                    | 40,0                 | 40,0                         | 40,0                               | 40,0                                   | 40,0                              |
| HOMA-IR           | Cor  | 0,0           | -0,2                      | 0,0                       | 0,1            | 0,5                | -0,4                    | 1,0                  | 0,5                          | 1,0                                | 0,5                                    | 0,5                               |
|                   | Sig. | 1,0           | 0,2                       | 0,9                       | 0,6            | 0,0002             | 0,0175                  | 0,00                 | 0,0003                       |                                    | 0,000                                  | 0,003                             |
|                   | N    | 40,0          | 40,0                      | 40,0                      | 40,0           | 40,0               | 40,0                    | 40,0                 | 40,0                         | 40,0                               | 40,0                                   | 40,0                              |
| IMC inicial       | Cor  | 0,2           | 0,1                       | 0,0                       | 0,0            | 0,8                | -0,1                    | 0,6                  | 0,2                          | 0,5                                | 1,0                                    | 0,9                               |
|                   | Sig. | 0,3           | 0,4                       | 0,8                       | 0,9            | 0,0*               | 0,4                     | 0,0002               | 0,2                          | 0,0003                             |                                        | 0,0*                              |
|                   | N    | 40,0          | 40,0                      | 40,0                      | 40,0           | 40,0               | 40,0                    | 40,0                 | 40,0                         | 40,0                               | 40,0                                   | 40,0                              |

Las correlaciones marcadas con asterisco (\*) indican un valor de  $p < 0,00000$ . CT: colesterol total; TGC: triglicéridos

$p=0,0030$ ). También se encontró una correlación positiva significativa entre el índice HOMA-IR y el IMC inicial ( $r=0,5$ ;  $p=0,0003$ ).

Las siguientes fueron las correlaciones negativas más importantes: adiponectina e índice HOMA-IR ( $r=-0,4$ ;  $p=0,0175$ ), adiponectina e insulina ( $r=-0,4$ ;  $p=0,0254$ ), y adiponectina y glucemia basal ( $r=-0,3$ ;  $p=0,0484$ ). No se encontraron correlaciones de los niveles séricos de colesterol total (HDL y LDL) y de los triglicéridos con el peso del recién nacido.

En cuanto a las correlaciones entre los biomarcadores séricos del primer trimestre de gestación y el peso del recién nacido, se descartó a una paciente, ya que en la semana 18 de gestación presentó un aborto espontáneo. Además, se descartaron tres díadas debido a las siguientes alteraciones maternas: antecedente de hipertrigliceridemia y estado prehipertensivo en el momento del parto; obesidad ( $\text{IMC}=33 \text{ kg/m}^2$ ) y parto prematuro, y sobrepeso ( $\text{IMC}=27,5 \text{ kg/m}^2$ ), con retardo del crecimiento intrauterino y prematuridad. Las tres díadas madre-hijo se retiraron del estudio porque las alteraciones asociadas con la hipertrigliceridemia, el sobrepeso y la obesidad producen cambios significativos en el comportamiento de las adipocitocinas y el índice HOMA-IR, y constituyen un riesgo de malos resultados obstétricos (15,16).

En el cuadro 4 se presentan las semanas de gestación en el momento del nacimiento, el peso de los recién nacidos y el índice HOMA-IR del primer

trimestre de gestación de las díadas definitivas del estudio y, en el cuadro 5 se presenta la correlación positiva entre el índice HOMA-IR y el peso de los recién nacidos ( $r=0,43$ ;  $p=0,012$ ).

## Discusión

Los resultados evidenciaron correlaciones positivas entre los niveles circulantes de los biomarcadores séricos y el IMC inicial. Entre las principales correlaciones está el IMC inicial y la leptina ( $r=0,839$ ;  $p<0,000$ ); esta misma correlación se halló en las mediciones de la leptina en el primer trimestre de gestación de mujeres adultas en el estudio de Kac, *et al.* (17), en Brasil, y en el estudio de Walsh (18) en Irlanda. En estudios previos se ha determinado que los niveles séricos de la leptina, adipocitocina producida principalmente por los adipocitos y la placenta, aumentan simultáneamente con el peso durante la gestación (19-21).

El IMC y los valores séricos de insulina en el primer trimestre de gestación, presentaron una correlación positiva significativa ( $r=0,56$ ;  $p=0,00017$ ), lo que coincide con los hallazgos obtenidos en los estudios de estos autores (17,18). También, el IMC inicial y el índice HOMA-IR presentaron una correlación positiva significativa ( $r=0,54$ ;  $p=0,00033$ ), resultados afines a los reportados en el estudio de Kac, *et al.* (17). Esta correlación puede deberse a que, ante una mayor presencia de masa grasa, aumenta el índice HOMA-IR, indicador de resistencia a la insulina, como en el caso de individuos con un IMC alto.

El aumento del tamaño del adipocito desencadena la secreción de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1), la cual conlleva la infiltración de macrófagos y secretoras de citocinas inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la interleucina 6, que alteran la vía de señalización de la insulina mediante varios mecanismos, entre ellos, la inhibición de la fosforilación en tirosinas de los sustratos del receptor de la insulina (IRS) (22-24). En últimas, disminuye

**Cuadro 4.** Edad de gestación al nacer, valores del peso del recién nacido y del índice HOMA-IR materno en el inicio del embarazo

| Edad de gestación al nacer (semanas) | Peso del recién nacido (g) | HOMA-IR materno (mmol/L x $\mu$ ui/ml/ k) |
|--------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------|
| 35,6                                 | 1.470                      | 0,71                                      |
| 33,4                                 | 2.060                      | 2,01                                      |
| 36,3                                 | 2.310                      | 1,21                                      |
| 37,6                                 | 2.350                      | 1,44                                      |
| 39                                   | 2.420                      | 0,87                                      |
| 38                                   | 2.550                      | 0,63                                      |
| 40                                   | 2.660                      | 1,2                                       |
| 37,1                                 | 2.665                      | 1,57                                      |
| 37                                   | 2.675                      | 1,23                                      |
| 38                                   | 2.780                      | 0,39                                      |
| 37,6                                 | 2.800                      | 1,43                                      |
| 38,5                                 | 2.800                      | 1,47                                      |
| 40,2                                 | 2.810                      | 1,12                                      |
| 40                                   | 2.860                      | 1,62                                      |
| 37,3                                 | 2.880                      | 1,17                                      |
| 39,1                                 | 2.930                      | 1,28                                      |
| 37                                   | 2.980                      | 1,03                                      |
| 40                                   | 3.010                      | 1,94                                      |
| 40                                   | 3.070                      | 1,46                                      |
| 39,6                                 | 3.100                      | 1,59                                      |
| 40                                   | 3.100                      | 2,27                                      |
| 39                                   | 3.120                      | 1,26                                      |
| 39                                   | 3.160                      | 1,39                                      |
| 40,2                                 | 3.180                      | 1,81                                      |
| 40                                   | 3.200                      | 2,3                                       |
| 39                                   | 3.250                      | 1,59                                      |
| 41                                   | 3.260                      | 1,58                                      |
| 40                                   | 3.270                      | 0,68                                      |
| 40                                   | 3.335                      | 0,54                                      |
| 40,2                                 | 3.360                      | 2,05                                      |
| 40                                   | 3.450                      | 0,51                                      |
| 40,1                                 | 3.600                      | 2,25                                      |
| 40,1                                 | 3.640                      | 1,89                                      |
| 39,6                                 | 3.660                      | 3,03                                      |
| 40                                   | 3.680                      | 1,08                                      |
| 40,6                                 | 3.770                      | 1,71                                      |

HOMA-IR: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina

**Cuadro 5.** Correlación entre el peso neonatal y el índice HOMA-IR

| Peso neonatal              | HOMA-IR (mmol/L x $\mu$ UI/ml/ k) |
|----------------------------|-----------------------------------|
| Coeficiente de correlación | 0,430                             |
| p                          | 0,012                             |
| n                          | 36                                |

el transporte y el metabolismo de glucosa en el músculo esquelético y en los adipocitos, en tanto que aumenta la gluconeogénesis en el hígado, por lo cual, en un primer momento, hay hipersecreción de insulina como mecanismo de compensación; posteriormente, esto altera la función de las células beta pancreáticas (como en el caso de mujeres gestantes con obesidad y diabetes mellitus de la gestación) (25).

En cuanto a las principales correlaciones entre los biomarcadores séricos, se encontró una correlación entre la leptina y la insulina ( $r=0,6$ ;  $p<0,000$ ), y entre la leptina y el índice HOMA-IR ( $r=0,5$ ;  $p<0,000$ ). En el estudio de Eriksson, *et al.*, en Suecia, y el de Walsh, *et al.*, en Irlanda, se obtuvieron estos mismos resultados (6,18).

La leptina es producida por los adipocitos, cuyo aumento de tamaño lleva a la producción de factores proinflamatorios que inhiben la señalización del receptor de insulina y provocan la resistencia a esta, lo cual se compensa con la producción de mayores cantidades de esta hormona.

Una de las adolescentes gestantes, cuyos datos se descartaron del análisis final porque desarrolló eclampsia, presentó obesidad en el inicio del embarazo. La obesidad en el embarazo se ha asociado con la diabetes de la gestación, la eclampsia y el parto prematuro (26).

El exceso de nutrientes durante la gestación puede producir cambios epigenéticos que provocan modificaciones del fenotipo a largo plazo y predisponen a enfermedades crónicas como la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus de tipo 2 (27). La ingestión inadecuada de nutrientes durante el embarazo se asocia con cambios en la metilación del promotor del gen de la leptina y en la producción de dicha hormona por la placenta (28,29).

La leptina está involucrada en el adecuado desarrollo y maduración de diferentes órganos, como el páncreas (30). La metilación, un mecanismo epigenético, ocurre también en tejidos fetales. En modelos animales se ha demostrado que el exceso de ingestión de algunos macronutrientes durante la gestación, se asocia con cambios en la metilación de las regiones promotoras del gen de la leptina, su receptor y la adiponectina en la progenie (31).

La relación entre la metilación de promotores y las enfermedades metabólicas es importante, tal como se evidenció en un estudio con monocitos circulantes en adolescentes mexicanos, en el

que se observó que los sujetos con obesidad y resistencia a la insulina presentaban disminución de la metilación de los promotores del gen de la leptina y del gen de adiponectina (32). Asimismo, en un trabajo con monocitos circulantes de personas europeas con obesidad, se evidenció una asociación inversa entre el índice HOMA-IR y la metilación del gen del supresor de señalización de las citocinas (SOCS), molécula que participa en las vías intracelulares de señalización de la insulina y de la leptina (33).

En el presente estudio, se encontraron correlaciones negativas significativas entre la adiponectina, el índice HOMA-IR y la insulina ( $r=-0,4$ ;  $p=0,017$  y  $r=-0,4$ ;  $p=0,025$ , respectivamente), resultados similares a los descritos por Eriksson, Walsh y Lacroix en Canadá, en el primer trimestre de gestación de mujeres adultas (6,18,34).

La adiponectina es una adipocitocina que aumenta la sensibilidad a la insulina y cuyos niveles disminuyen progresivamente durante la gestación; sus concentraciones están inversamente relacionadas con la ganancia de peso en el embarazo (7,35). Es más, la disminución de los valores séricos de la adiponectina en la segunda mitad de la gestación, coincide con el estado de resistencia a la insulina característico del embarazo, como lo demuestran los resultados del estudio de Kac, *et al.* (17).

No se registró un peso superior a los 4.000 g en ningún recién nacido. Cinco de los neonatos presentaron pesos por debajo de los 2.500 g, y dos de ellos fueron prematuros. En este estudio no se determinaron los niveles de leptina en los recién nacidos, pero en investigaciones de Japón, Estados Unidos y Egipto, se han encontrado concentraciones circulantes bajas de esta hormona en los neonatos con retardo del crecimiento intrauterino (36-38). Tales concentraciones podrían tener efectos epigenéticos en el desarrollo de los circuitos hipotalámicos de apetito y saciedad, y predisponer a la hiperfagia, a la disminución del gasto energético y a la obesidad en la edad adulta (30).

En madres adolescentes sanas sin obesidad ni antecedentes de dislipidemia, se observó una correlación positiva significativa entre el índice HOMA-IR y el peso neonatal ( $r=0,43$ ;  $p=0,012$ ), lo cual podría ser el resultado de la resistencia a la insulina que se presenta a lo largo del embarazo. Si desde el inicio de la gestación el índice HOMA-IR es elevado, sus valores aumentarán progresivamente y, cuanto mayor sea la resistencia a

la insulina, mayor será el grado de transferencia fetoplacentaria de nutrientes, principalmente de glucosa.

En el estudio de Yamashita, *et al.*, en Japón, se estudió el índice HOMA-IR en el segundo y el tercer trimestres de gestación de mujeres no diabéticas y se observó la misma correlación con el peso neonatal (39); sin embargo, en el presente estudio se registró este resultado desde el primer trimestre de gestación.

En el estudio de Crume, *et al.*, en Estados Unidos, se obtuvieron resultados similares a los de la presente investigación. Dichos autores hallaron una correlación lineal entre el índice HOMA-IR de la primera mitad de la gestación en mujeres entre 21 y 33 años y el porcentaje de masa grasa neonatal (10), en tanto que en este, se observó que el comportamiento metabólico de las adolescentes gestantes fue similar al de las mujeres adultas embarazadas.

Los resultados de varios estudios han confirmado las relaciones entre el perfil lipídico materno y el peso del recién nacido (40). En el presente estudio no se encontraron correlaciones entre las concentraciones de colesterol total y de triglicéridos, y el peso neonatal. En trabajos previos en Irán y en India, se ha evidenciado una relación positiva del peso neonatal con los niveles séricos de triglicéridos de la madre, determinados en el tercer trimestre del embarazo (41,42). En un estudio en Estados Unidos, se describió una correlación positiva entre los niveles de colesterol total medidos en los tres trimestres de gestación y el peso del recién nacido (43).

Por otra parte, en un estudio llevado a cabo en Ámsterdam, se observaron diferencias en los niveles de colesterol total y triglicéridos en el inicio del embarazo de mujeres de distintos grupos étnicos (44). Los resultados de las mediciones del perfil lipídico en el primer trimestre de gestación de adolescentes en dicho estudio, y los datos disímiles reportados en la literatura médica, corroboran que la determinación de los niveles de lípidos en la primera mitad del embarazo no es de utilidad para predecir el peso neonatal (43).

En este estudio se encontró una correlación significativa entre las concentraciones de adiponectina y las de colesterol total y colesterol HDL, y no se observaron relaciones entre la leptina y el perfil lipídico. En un trabajo previo en Alemania, en el que se midieron los niveles de adiponectina y el

perfil lipídico en las semanas de gestación 16, 22, 30 y 36, se encontró una correlación negativa entre los niveles de adiponectina y los de triglicéridos en los diferentes tiempos, así como una tendencia hacia la correlación positiva entre la adiponectina y el colesterol HDL de significación estadística solo en la semana 36 de embarazo, en tanto que no se evidenció una relación entre la adiponectina, el colesterol total y el LDL (45). En otra investigación en población mexicana en la que se midieron los indicadores bioquímicos en los tres trimestres del embarazo, en el segundo trimestre, se encontró una correlación negativa de la adiponectina con los triglicéridos, y una positiva de la leptina con el colesterol total y el HDL (46). Los hallazgos dispares de las investigaciones podrían deberse a diferencias en las características médicas y étnicas de las mujeres gestantes y los distintos momentos del embarazo en los que se tomaron las muestras de sangre.

Los resultados del presente estudio en adolescentes gestantes de 14 a 17 años residentes en Bogotá, aportan datos para una mejor comprensión del comportamiento metabólico durante el embarazo en la adolescencia. A partir de las mediciones realizadas, así como de la obtención de las medidas antropométricas neonatales, se establecieron correlaciones que permiten un mejor conocimiento de los efectos hormonales de la leptina, la adiponectina y la insulina, y del índice HOMA-IR en el primer trimestre de gestación en el recién nacido.

Este es un estudio piloto del cual se puede partir para próximos análisis que profundicen en la fisiología de la gestación en mujeres adolescentes, con un número mayor de participantes y exploración de los niveles de las adipocitocinas en cada uno de los trimestres de la gestación. Además, sería importante determinar si las adolescentes gestantes continúan o no su crecimiento, y hacer un seguimiento de la dieta para obtener conclusiones más amplias que permitan determinar el comportamiento hormonal, el aporte calórico y los efectos del crecimiento materno en el neonato.

### Agradecimientos

Al Laboratorio de Lípidos y Diabetes, por el préstamo de los equipos requeridos para las mediciones antropométricas y bioquímicas. A las instituciones de salud que permitieron la captación de las adolescentes gestantes, así como a su equipo médico. A Andryu Mendoza, por su asesoría estadística para el análisis e interpretación de los resultados.

### Conflicto de intereses

Las autoras declaran no tener conflictos de intereses relacionados con el desarrollo de esta investigación.

### Financiación

El Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias, brindó apoyo económico a la investigadora principal mediante la Convocatoria Nacional de Jóvenes Investigadores e Innovadores, 2015. El Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, financió los insumos para la obtención y el procesamiento de las muestras.

### Referencias

1. **Colombiana de Salud, S.A.** Guía de atención: Morbilidad materna. Manejo de la obesidad materna antes, durante y después de la gestación. Junio de 2013. 2013. Fecha de consulta: 25 de marzo de 2017. Disponible en: [http://www.colombianadesalud.org.co/GUIAS\\_MATERNO\\_INFANTIL/OBESIDAD%20Y%20EMBARAZO.pdf](http://www.colombianadesalud.org.co/GUIAS_MATERNO_INFANTIL/OBESIDAD%20Y%20EMBARAZO.pdf)
2. **Escudero VL, Parra SB, Herrera MJ, Restrepo MS, Zapata LN.** Estado nutricional del hierro en gestantes adolescentes: Medellín, Colombia. *Rev Fac Nac Salud Pública.* 2014;32:71-9.
3. **Ministerio de Salud y Protección Social, Profamilia.** Encuesta Nacional de Demografía y Salud. Componente demográfico. ENDS Colombia, 2015. Bogotá; 2015. p. 1-430. Fecha de consulta: 11 de marzo de 2017. Disponible en: <http://profamilia.org.co/docs/ENDS%20%20TOMO%20I.pdf>
4. **Fondo de Población de Naciones Unidas -UNFPA- América Latina y el Caribe.** América Latina y el Caribe tienen la segunda tasa más alta de embarazo adolescente en el mundo. Fecha de consulta: 11 de marzo de 2017. Disponible en: <http://lac.unfpa.org/es/news/am%C3%A9rica-latina-y-el-caribe-tienen-la-segunda-tasa-m%C3%A1s-alta-de-embarazo-adolescente-en-el-mund-1>
5. **Guevara-Núñez SP.** Aspectos nutricionales de la gestación. En: Parra Pineda MO, Angel Müller E, editores. *Obstetricia integral siglo XXI.* Primera edición. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2009. p.136-61.
6. **Eriksson B, Löf M, Olausson H, Forsum E.** Body fat, insulin resistance, energy expenditure and serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin before, during and after pregnancy in healthy Swedish women. *Br J Nutr.* 2010; 103:50-7. <https://doi.org/10.1017/S0007114509991371>
7. **Miehle K, Stepan H, Fasshauer M.** Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;76:2-11. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2011.04234.x>
8. **Scholl TO, Stein TP, Smith WK.** Leptin and maternal growth during adolescent pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72:1542-7. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.6.1542>
9. **Valdés ER, Lattes KA, Muñoz HS, Barja PY, Papapietro KV.** First-trimester adiponectin and subsequent development of preeclampsia or fetal growth restriction. *Gynecol Obstet Invest.* 2011;72:152-6. <https://doi.org/10.1159/000328418>

10. **Crume TL, Shapiro AL, Brinton JT, Glueck DH, Martínez M, Kohn M, et al.** Maternal fuels and metabolic measures during pregnancy and neonatal body composition: The Healthy Start Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:1672-80. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-2949>
11. **Costa e Silva LI, Gomes FM, Valente MH, Escobar AM, Brentani AV, Grisi SJ.** The intergenerational effects on birth weight and its relations to maternal conditions, Sao Paulo, Brazil. *Biomed Res Int.* 2015;2015:615034. <https://doi.org/10.1155/2015/615034>
12. **República de Colombia, Ministerio de Salud.** Resolución número 00002465 de 2016. Fecha de consulta: 4 de marzo de 2017. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Resolucion%202465%20de%202016.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resolucion%202465%20de%202016.pdf)
13. **Ministerio de Salud y Protección Social, Colciencias.** Guía de práctica clínica del recién nacido prematuro. Sistema General de Seguridad Social en Salud – Colombia. 2013 Guía 04. p.1-512. Fecha de consulta: 16 de abril de 2017. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/IETS/GPC\\_Completa\\_Premat.pdf](https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/IETS/GPC_Completa_Premat.pdf)
14. **Battaglia FC, Lubchenco LO.** A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr.* 1967;71:159-63.
15. **Chandrasekaran S, Neal-Perry G.** Long-term consequences of obesity on female fertility and the health of the offspring. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2017;29:180-7. <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000364>
16. **Chandi A, Sirohiwal D, Malik R.** Association of early maternal hypertriglyceridemia with pregnancy-induced hypertension. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;292:1135-43. <http://doi.org/10.1007/s00404-015-3706-1>
17. **Kac G, dos Santos Vaz J, Schlüssel MM, Moura AS.** C-reactive protein and hormones but not IL-6 are associated to body mass index in first trimester of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284:567-73. <https://doi.org/10.1007/s00404-010-1573-3>
18. **Walsh JM, Byrne J, Mahony RM, Foley ME, McAuliffe FM.** Leptin, fetal growth and insulin resistance in non-diabetic pregnancies. *Early Hum Dev.* 2014;90:271-4. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2014.03.007>
19. **Münzberg H, Morrison CD.** Structure, production and signaling of leptin. *Metabolism.* 2015;64:13-23. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.09.010>
20. **Tessier DR, Ferraro ZM, Gruslin A.** Role of leptin in pregnancy: Consequences of maternal obesity. *Placenta.* 2013;34:205-11. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2012.11.035>
21. **Zhao Y, Li Q, Li YC.** Effects of body mass index and body fat percentage on gestational complications and outcomes. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014;40:705-10. Fecha de consulta: 25 de marzo de 2018. Disponible en: [http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004\(12\)00470-5/pdf](http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004(12)00470-5/pdf)
22. **Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, et al.** Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res.* 2005;46:2347-55. Fecha de consulta: 20 de marzo de 2018. Disponible en: <http://www.jlr.org/content/46/11/2347.long>
23. **Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM.** Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J Clin Invest.* 1994;94:1543-9. <https://doi.org/10.1172/JCI117495>
24. **Schenk S, Saberi M, Olefsky JM.** Insulin sensitivity: Modulation by nutrients and inflammation. *Clin Invest.* 2008;118:2992-3002. <https://doi.org/10.1172/JCI34260>
25. **Mlinar B, Marc J.** New insights into adipose tissue dysfunction in insulin resistance. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49:1925-35. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.697>
26. **Marchi J, Berg M, Dencker A, Olander EK, Begley C.** Obesity in pregnancy – a review of reviews. *Obes Rev.* 2015;16:621-38. <https://doi.org/10.1111/obr.12288>
27. **Hoffman DJ, Reynolds RM, Hardy DB.** Developmental origins of health and disease: current knowledge and potential mechanisms. *Nutr Rev.* 2017;75:951-70. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nux053>
28. **Misra VK, Trudeau S.** The influence of overweight and obesity on longitudinal trends in maternal serum leptin levels during pregnancy. *Obesity.* 2011;19:416-21. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.172>
29. **Schanton M, Maymó JL, Pérez-Pérez A, Sánchez-Margalet V, Varone CL.** Involvement of leptin in the molecular physiology of the placenta. *Reproduction.* 2018;155:R1-12. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0512>
30. **Briffa J, McAinch A, Romano T, Wlodek M, Hryciw DH.** Leptin in pregnancy and development: A contributor to adulthood disease? *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015;308:E335-50. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00312.2014>
31. **Khalyfa A, Carreras A, Hakim F, Cunningham JM, Wang Y, Gozal D.** Effects of late gestational high-fat diet on body weight, metabolic regulation and adipokine expression in offspring. *Int J Obes.* 2013;37:1481-9. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.12>
32. **García-Cardona MC, Huang F, García-Vivas JM, López-Camarillo C, Del Río-Navarro BE, Navarro-Olivos E, et al.** DNA methylation of leptin and adiponectin promoters in children is reduced by the combined presence of obesity and insulin resistance. *Int J Obes.* 2014;38:1457-65. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.30>
33. **Ali O, Cerjak D, Kent JW, James R, Blangero J, Carless MA, et al.** Methylation of SOCS3 is inversely associated with metabolic syndrome in an epigenome-wide association study of obesity. *Epigenetics.* 2016;11:699-707. <https://doi.org/10.1080/15592294.2016.1216284>
34. **Lacroix M, Battista M-C, Doyon M, Ménard J, Ardilouze J-L, Perron P, et al.** Lower adiponectin levels at first trimester of pregnancy are associated with increased insulin resistance and higher risk of developing gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2013;36:1577-83. <https://doi.org/10.2337/dc12-1731>
35. **Aye LMH, Powell TL, Jansson T.** Review: Adiponectin-The missing link between maternal adiposity, placental transport and fetal growth? *Placenta.* 2013;34(Suppl.):S40-5. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2012.11.024>
36. **Mise H, Yura S, Itoh H, Nuamah M, Takemura M, Sagawa N, et al.** The relationship between maternal plasma leptin levels and fetal growth restriction. *Endocr J.* 2007;54:945-51. <https://doi.org/10.1507/endocrj.K06-225>

37. **Catov JM, Patrick TE, Powers RW, Ness RB, Harger G, Roberts JM.** Maternal leptin across pregnancy in women with small-for-gestational-age infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196:558. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.01.032>
38. **Nezar MA, El-Baky AM, Soliman OA, Abdel-Hady HA, Hammad AM, Al-Haggag MS.** Endothelin-1 and leptin as markers of intrauterine growth restriction. *Indian J Pediatr.* 2009;76:485-8. <https://doi.org/10.1007/s12098-009-0079-0>
39. **Yamashita H, Yasuhi I, Fukuda M, Kugishima Y, Yamauchi Y, Kuzume A, et al.** The association between maternal insulin resistance in mid-pregnancy and neonatal birthweight in uncomplicated pregnancies. *Endocr J.* 2014; 61:1019-24. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ14-0163>
40. **Barrett HL, Nitert MD, McIntyre HD, Callaway LK.** Normalizing metabolism in diabetic pregnancy: Is it time to target lipids? *Diabetes Care.* 2014;37:1484-93. <https://doi.org/10.2337/dc13-1934>
41. **Mossayebi E, Arab Z, Rahmaniyan M, Almassinokiani F, Kabir A.** Prediction of neonates' macrosomia with maternal lipid profile of healthy mothers. *Pediatr Neonatol.* 2014;55:28-34.
42. **Kulkarni SR, Kumaran K, Rao SR, Chougule SD, Deokar TM, Bhalerao A, et al.** Maternal lipids are as important as glucose for fetal growth: Findings from the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetes Care.* 2014;36:2706-13. <https://doi.org/10.2337/dc12-2445>
43. **Boghossian NS, Mendola P, Liu A, Robledo C, Yeung EH.** Maternal serum markers of lipid metabolism in relation to neonatal anthropometry. *Journal Perinatol.* 2017;37:629-35. <https://doi.org/10.1038/jp.2017.22>
44. **Schreuder YJ, Hutten BA, van Eijdsden M, Jansen EH, Vissers MN, Twickler MT, et al.** Ethnic differences in maternal total cholesterol and triglyceride levels during pregnancy: The contribution of demographics, behavioural factors and clinical characteristics. *Eur J Clin Nutr.* 2011; 65:580-9. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.282>
45. **Ritterath C, Rad NT, Siegmund T, Heinze T, Siebert G, Buhling KJ.** Adiponectin during pregnancy: Correlation with fat metabolism, but not with carbohydrate metabolism. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;281:91-6. <https://doi.org/10.1007/s00404-009-1087-z>
46. **Perichart-Perera O, Muñoz-Manrique C, Reyes-López A, Tolentino-Dolores M, Espino y Sosa S, Ramírez-González MC.** Metabolic markers during pregnancy and their association with maternal and newborn weight status. *PLoS One.* 2017;12:1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180874>

## REVISIÓN DE TEMA

# Nueva teoría sobre la depresión: un equilibrio del ánimo entre el sistema nervioso y el inmunológico, con regulación de la serotonina-quinurenina y el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal

Leslie Alejandra Ramírez<sup>1</sup>, Elsy Arlene Pérez-Padilla<sup>2</sup>, Francisco García-Oscos<sup>3</sup>,  
Humberto Salgado<sup>1</sup>, Marco Atzori<sup>4,5</sup>, Juan Carlos Pineda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Neurociencias, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Licenciatura en Rehabilitación, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México

<sup>3</sup> Department of Neuroscience, University of Texas, Dallas, TX, USA

<sup>4</sup> Laboratorio de Neurobiología del Estrés, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

<sup>5</sup> School of Behavioral and Brain Sciences, University of Texas at Dallas, Richardson, TX, USA

La hipótesis sobre las causas de la depresión basada en la acción de la serotonina y del sistema inmunológico, propone que ciertos tipos de estrés distorsionan la relación entre la actividad del sistema inmunitario innato y la del sistema nervioso central.

El estrés causado por una infección o el estrés psicológico excesivo activan receptores de tipo *toll*, como el TLR-4, el factor de transcripción NF- $\kappa$ B, el inflammasoma NLRP3, así como la secreción de interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e interleucina 6 (IL-6); esto causa, en primer lugar, los síntomas generales de enfermedad que aparecen con cualquier infección, pero también los síntomas característicos de la depresión como disforia y anhedonia.

Las evidencias indican que, si el estímulo persiste o se repite en las siguientes 24 horas, se activa la enzima indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) de la vía metabólica de la quinurenina, lo cual incrementa la síntesis del ácido quinolínico y reduce la síntesis de serotonina. El ácido quinolínico activa los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) en el sistema nervioso central y estimula la secreción de, entre otras, las interleucinas IL-6 e IL-1 $\beta$ , las cuales promueven la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y refuerzan la desviación del metabolismo del triptófano hacia la producción de ácido quinolínico, así como de las interleucinas de la inmunidad innata, con lo cual se reduce más la síntesis de serotonina y se consolida el proceso depresivo.

Este proceso puede ser iniciado por las interleucinas estimuladas por una infección, así como por algunas vacunas o por un estrés psicológico excesivo que active el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal simultáneamente con la respuesta inmunológica innata, con lo que se provocaría un proceso de inflamación estéril en el sistema nervioso central.

**Palabras clave:** depresión; sistema nervioso; sistema inmunológico; serotonina; inmunidad innata, interleucina-1beta; interleucina-6; interleucina-10; interferón gamma; neuroglia; sistema hipotálamo-hipófiso-suprarrenal.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3688>

## A new theory of depression based on the serotonin/kynurenine relationship and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis

The serotonergic and immunological hypothesis of depression proposes that certain types of excessive stress distort the relationship between the activities of the innate immune and central nervous systems, so that the stress caused by an infection, or excessive psychological stress, activate toll-like receptors such as the TLR-4, the transcription factor NF- $\kappa$ B, the inflammasome NLRP3, as well as the secretion of interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6) and other factors of the innate immune response, causing first, the general symptoms of the disease which appear with any infection, but also those characteristic of depressive illness such as dysphoria and anhedonia.

The evidence indicates that, if the stimulus persists or recurs within 24 hours, the indole-2, 3-dioxygenase enzyme (IDO) of the kynurenine metabolic pathway, which increases the synthesis of quinolinic acid, is activated with an associated reduction of serotonin synthesis. Quinolinic acid

### Contribución de los autores:

Juan Carlos Pineda: propuesta y dirección del proyecto

Francisco García-Oscos y Humberto Salgado: experimentos y análisis de datos

Leslie Alejandra Ramírez, Elsy Arlene Pérez-Padilla, Humberto Salgado, Marco Atzori y Juan Carlos Pineda: discusión y escritura de la revisión

activates NMDA receptors in the central nervous system and stimulates the secretion of interleukins IL-6 and IL-1 $\beta$ , among others, promoting hyper-activity of the HPA axis and reinforcing a bias of the tryptophan metabolism to produce quinolinic acid, and interleukins by the innate immune system, further reducing the synthesis of serotonin and consolidating the depressive process.

We discuss the evidence showing that this process can be initiated by either interleukin stimulated by an infection or some vaccines or excessive psychological stress that activates the HPA axis together with said innate immune response, causing a process of aseptic inflammation in the central nervous system.

**Key words:** Depression; nervous system; immune system; serotonin; immunity, innate; interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-6; interleukin-10, interferon gamma; neuroglia; pituitary-adrenal system.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3688>

El sistema inmunológico y el sistema nervioso comparten las funciones de reconocer objetos, discernir sus cualidades (si son propios o extraños; inocuos o peligrosos) y de generar una respuesta adaptativa relacionada con ellos.

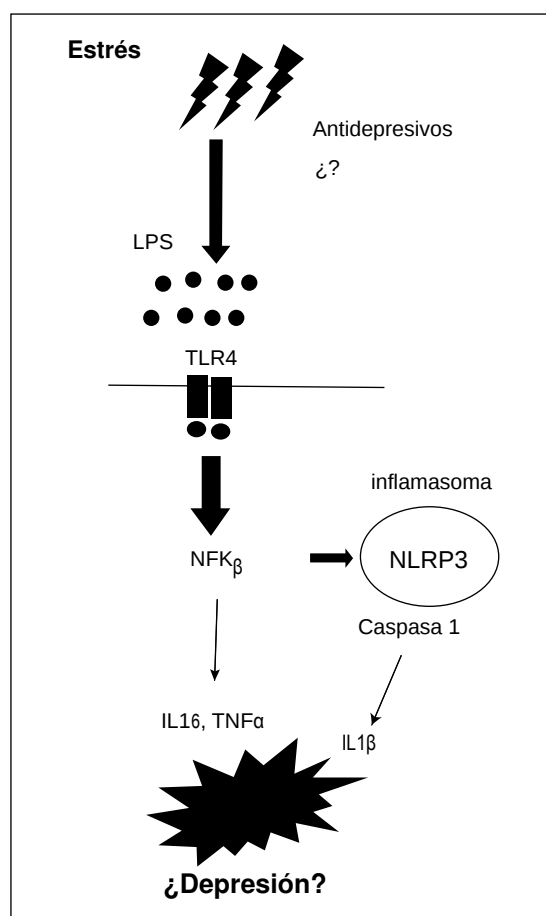
Ambos sistemas desarrollaron reacciones al estrés ambiental relativamente simples y rápidas. Por ejemplo, el sistema nervioso desarrolló el arco reflejo, en tanto que el sistema inmunitario reacciona con la inflamación y el 'reflejo anti-inflamatorio' (1,2). Los dos sistemas expresan reacciones de vigilancia celular destinadas a detectar invasores potencialmente peligrosos presentes en todos los organismos multicelulares (3). Tanto el arco reflejo del sistema nervioso como el reflejo inflamatorio del sistema inmunitario operan mediante respuestas rápidas e innatas (1).

El reflejo inflamatorio depende de la detección de patrones moleculares específicos presentes en los invasores pero no expresados por los tejidos propios. Esto ha resultado tan eficaz que los principales componentes de dicha inmunidad innata están conservados, como la familia de los receptores de tipo *toll* (*Toll-like receptors*, TLR) y los inflamasomas, tanto en las plantas como en los mamíferos (4).

### Inmunidad innata y sistema nervioso

El sistema inmunitario se clasifica según el tipo de respuesta: i) una innata, rápida, que produce inflamación como mecanismo de defensa primario, con especificidad limitada, y ii) una adaptativa más lenta, pero más específica. La inmunidad innata (figura 1) se activa mediante receptores en la membrana extracelular, entre los cuales se

encuentran los de la familia TLR, en tanto que la respuesta inmunitaria aprendida reconoce antígenos muy específicos contra casi cualquier patógeno (1).



**Figura 1.** El estrés provocado por la aplicación de lipopolisacáridos de la pared celular de bacterias Gram negativas o por otras causas, activa la respuesta inmunitaria innata y los receptores de tipo *toll* en la membrana de diversas clases de linfocitos. La activación de los receptores TLR4 induce la activación de la subunidad  $\beta$  del factor necrótico kappa que, a su vez, activa el inflammasoma NLRP3, lo que provoca la liberación de la caspasa 1 y la subsecuente liberación de IL-1 $\beta$  e IL-6. Estas citocinas median la inflamación, los signos generales de enfermedad y, posiblemente, la depresión.

Correspondencia:

Juan Carlos Pineda, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán, Av. Itzaes N° 490 x 59, Mérida, Yucatán, México  
Teléfono: (52 9991) 638 169; fax: (52 9999) 236 120  
pcortes@correo.uady.mx; jcpincor@gmail.com

Recibido: 12/01/17; aceptado: 14/12/17

En la figura 1 se ilustran los principales componentes de la inmunidad innata que, como ya se dijo, están muy conservados tanto en plantas como en animales, incluidos los mamíferos (4). El sistema nervioso de los mamíferos también puede detectar estímulos inflamatorios directamente, lo que le permite reconocer fuentes potenciales de daño utilizando el dolor como señal, así como modular la respuesta a la infección (1,2). Un ejemplo de la interacción directa entre el sistema nervioso y el sistema inmunitario, es el caso de la influencia de la noradrenalina y de la acetilcolina en la reacción conocida como reflejo inflamatorio, o su contraparte, el reflejo antiinflamatorio, este último producido en la llamada vía colinérgica antiinflamatoria (3).

El reflejo inflamatorio puede concebirse como el circuito de un reflejo prototípico análogo al arco reflejo del sistema nervioso y capaz de mantener una respuesta inmunitaria equilibrada, homeostática, en la cual participan ambos sistemas; en dicho reflejo, los mediadores moleculares de la inmunidad innata activan señales eléctricas aferentes en el nervio vago. Los potenciales de acción viajan por la vía aferente de este nervio al tronco del encéfalo, en donde modulan las interneuronas del núcleo del tracto solitario que, a su vez, regulan los núcleos motores del nervio vago. Los axones de las neuronas eferentes de estos núcleos descienden por el nervio vago hasta el ganglio celíaco, por donde viajan las señales eléctricas a una estación de retransmisión para propagar las señales al nervio esplénico y al bazo. La vía de señalización culmina en el bazo con la liberación del neurotransmisor acetilcolina, el cual activa los receptores nicotínicos  $\alpha 7$  (nAChR) que se expresan en los macrófagos del bazo e inhiben la secreción de las citocinas (2).

Se ha podido comprobar que el reflejo inflamatorio y el antiinflamatorio modulan de manera recíproca diversos sistemas, como el cardíaco y el digestivo, así como estructuras del sistema nervioso central relacionadas con el control del ánimo (2,3). Este circuito controla y modula la respuesta inmunitaria innata en un marco de tiempo específico y rápido, y puede activarse o inhibirse por acción de la modulación de diversas regiones del cuerpo donde la actividad eléctrica del nervio vago puede suprimir tónicamente la actividad de los linfocitos que participan en la respuesta inmunitaria innata, como sucede en el control neural de la frecuencia cardíaca. Otra evidencia de dicho control es la respuesta hipersensible o desinhibida frente a estímulos invasivos o infecciosos, cuando los

componentes del sistema nervioso (por ejemplo, el nervio vago o el esplénico) o los componentes moleculares de la vía colinérgica antiinflamatoria, se eliminan experimentalmente o se inhiben farmacológicamente (1,3).

### Respuesta inmunitaria innata y depresión

Es posible que la regulación del reflejo neural en la respuesta inmunitaria innata se haya originado desde un comienzo en la evolución de la inmunidad. En un estudio del 2009, Aballay, *et al.*, evidenciaron que en *Caenorhabditis elegans*, un gusano nematodo que posee un sistema inmunitario innato primitivo y un sistema nervioso evolutivamente antiguo, se expresan genes que activan la respuesta inmunitaria innata, la cual conduce a cambios específicos de comportamiento, incluida la evitación de los agentes patógenos, así como la migración para alejarse del sitio donde se encuentran olores patógenos (5,6).

Según el estudio de Maier, *et al.*, en 1998, la inflamación sistémica se correlaciona con cambios en el cerebro, independientemente del suceso iniciador (una infección, un factor de estrés psicológico o el dolor), y los síntomas o las manifestaciones conductuales de la depresión emergen impulsados por los mismos cambios en el cerebro (7). Estos autores especularon que durante la evolución surgió primero el sistema inmunitario para luchar contra los patógenos. Cuando los organismos multicelulares requirieron de un mecanismo para reaccionar ante una amenaza psicológica externa, el cuerpo recurrió al mismo sistema inmunitario ya existente.

Maes, *et al.*, hicieron planteamientos similares y propusieron una conexión evolutiva entre los factores psicológicos estresantes y la activación inflamatoria (7,8). Pace, *et al.*, por su parte, sugirieron en un estudio del 2012 que el sistema inmunitario innato puede activarse solo por el estrés provocado por una amenaza psicológica, como la expectativa del ataque de un depredador, sin necesidad de un factor material de estrés, y que dicha característica es un factor adaptativo (9). Este fenómeno ya había sido planteado por Smith en 1991, en su teoría de los macrófagos en la depresión, en la cual postuló que las citocinas secretadas durante el estrés de una infección producían depresión (10).

Según esta propuesta, las concentraciones en sangre de los marcadores biológicos inflamatorios, como la proteína G reactiva y el fibrinógeno, se incrementan en los pacientes con depresión clínica

(10). Smith, Maes, *et al.*, y Pace, *et al.*, sugirieron que tanto la fase aguda de la inflamación debida a una infección como la disforia de la depresión, responden a los mismos mecanismos (8,9,10). Las citocinas proinflamatorias responsables de la reacción inflamatoria en su fase aguda, también causan otras manifestaciones clínicas de depresión, incluidos la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, la alteración del metabolismo de la serotonina y los síntomas neurovegetativos.

### **Objetivo de la revisión temática**

Considerando que, a pesar de haber sido formulada hace más de 20 años, la teoría inmunológica de la depresión no ha tenido una amplia difusión, en esta revisión nos propusimos describir la secuencia histórica de los principales datos comprobados y las observaciones experimentales sobre las interacciones entre el sistema inmunitario innato, el sistema nervioso central, el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y la vía metabólica del aminoácido triptófano, que condujeron a enunciar dicha teoría.

La información se presenta organizada históricamente y se resalta su contribución como respaldo de la teoría inmunológica de la depresión.

### **Inmunidad innata y sistema nervioso**

La inmunidad innata depende de la detección específica de los patrones moleculares presentes en los organismos invasores, como los que se expresan en la pared celular de las bacterias Gram negativas, pero no así en los tejidos del huésped. Los principales componentes de la inmunidad innata (figura 1) están muy conservados tanto en plantas como en animales, incluidos los mamíferos (4) y los humanos (11).

### **La enfermedad depresiva y las citosinas**

Como ya se señaló, una de las primeras observaciones sobre la relación del sistema inmunitario con la depresión clínica fue el aumento de las concentraciones en sangre de los marcadores biológicos inflamatorios, como la proteína G reactiva y el fibrinógeno, en pacientes con depresión (10). Con base en estas observaciones, Smith presentó la teoría de los macrófagos en la depresión, en la cual propuso que la fase aguda de la inflamación causada por una infección responde a los mismos mecanismos que la anhedonia y la disforia observadas durante la depresión.

En apoyo de esta teoría, se reportó que muchos pacientes con cáncer o con hepatitis C que recibían inmunoterapia habían desarrollado síntomas

de depresión (12,13). La investigación sistemática de estos síntomas demostró que son causados por el tratamiento que reciben los pacientes, y reveló que estos pueden dividirse en dos categorías distintas. En la primera categoría, los signos neurovegetativos y los síntomas somáticos de depresión, los cuales son de aparición temprana y están presentes en todos los pacientes, incluyen manifestaciones parecidas a las de la gripe, como fatiga, anorexia, dolor y trastornos del sueño. En la segunda categoría se incluyen los síntomas psicológicos de la depresión, entre ellos, las alteraciones cognitivas leves y los síntomas propios del estado de ánimo depresivo, los cuales frecuentemente se acompañan de ansiedad e irritabilidad. Estos síntomas tardan más en aparecer y son experimentados hasta por la mitad de los pacientes (14,15).

De hecho, cuando se examinó a los pacientes que desarrollaron los síntomas psicológicos de la depresión, se encontró que después de la primera inyección de IFN- $\alpha$  tuvieron una mejoría en el control homeostático del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, lo que evidenció que la vulnerabilidad frente a la depresión inducida por la inmunoterapia involucra factores tanto fisiológicos como de riesgo psicológico (14,15). En estos pacientes, el tratamiento previo con paroxetina, un antidepresivo tricíclico e inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina, redujo los síntomas psicológicos, pero tuvo poco efecto sobre la sintomatología neurovegetativa (14). Por otro lado, el antidepresivo tricíclico imipramina redujo los índices depresivos y disminuyó la inflamación producida por el estrés (16).

Estas observaciones sugerían que la depresión inducida por la inmunoterapia efectivamente podría ser producto de un proceso inflamatorio en pacientes vulnerables (17,18), dado que la administración sistémica o central de un antagonista soluble del receptor IL-1, el IL-1ra, es capaz de revertir los cambios conductuales inducidos en un modelo animal de depresión producido imponiendo el aislamiento social a los roedores. Como se verá en las siguientes secciones, estos resultados se han podido reproducir ampliamente (19).

En este contexto surgió la siguiente pregunta: ¿es la respuesta inmunológica a los agentes infecciosos el origen de la depresión? Para responderla, se estudió la relación entre los síntomas que la reacción inmunitaria innata produce cuando hay infección, y aquellos de la depresión (18,19).

## Síntomas generales de enfermedad y síntomas de depresión

Los síntomas generales de enfermedad constituyen un conjunto coordinado de cambios conductuales que se verifica en individuos enfermos durante el curso de una infección (18,20). Algunos de ellos producen una sensación de malestar general y desinterés por las actividades placenteras, que se asemeja a la anhedonia. La disforia, o ánimo decaído, y la anhedonia son los dos síntomas específicos que caracterizan a los trastornos depresivos, pero también forman parte de la reacción individual al estrés ambiental y son controlados por la respuesta inmunitaria de la vía celular o la humoral y, por consiguiente, aparecen en múltiples enfermedades (21).

En roedores se ha demostrado que la administración sistémica o central de las citocinas IL-1 $\beta$  o IL-6, o del TNF- $\alpha$  induce el espectro completo de los síntomas generales de enfermedad, dependiendo de la dosis y la duración de la administración (22). En general, los animales inyectados con estas citocinas permanecen en un rincón de su jaula, en una postura encorvada, y muestran poco o ningún interés en su entorno físico y social a menos que sean estimulados. Específicamente, expresan disminución de la actividad motora, aislamiento social, reducción de la ingestión de alimentos y agua, alteración de la cognición y, a menudo, aumento de la sensibilidad al dolor (23), síntomas estos que se observan también durante la depresión. Además, en los animales sometidos a estos protocolos, también se registró aumento de los índices depresivos en las pruebas conductuales que miden la depresión, como el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado y el volumen de ingestión de solución con sacarosa (23). Sin embargo, no todo concuerda con lo observado en pacientes con depresión, pues los animales también presentaron un aumento del sueño de ondas lentas, lo cual no sucede en los casos humanos (24).

## Respuesta inmunitaria innata en el sistema nervioso periférico

La respuesta inmunitaria innata periférica controla el cerebro mediante varios medios que actúan en paralelo. Una primera ruta involucra los nervios aferentes del sistema nervioso autónomo. Las citocinas producidas localmente activan los nervios aferentes primarios del nervio vago durante una infección abdominal o visceral (25) o, el nervio trigémino, durante una infección en boca y lengua (26). La segunda es la ruta humoral, la cual activa

los TLR en células similares a los macrófagos que residen en los órganos circunventriculares. Entre estos, los macrófagos asociados con el plexo coroideo reaccionan a los patrones moleculares asociados con agentes patógenos de la circulación, mediante la producción de citocinas proinflamatorias (27,28). Una tercera vía incluye los transportadores de citocinas en la barrera hematoencefálica: las citocinas proinflamatorias entran en la circulación sistémica y, desde ahí, pueden tener acceso al cerebro mediante estos sistemas de transporte (29). Por último, está la ruta que involucra los receptores de IL-1 $\beta$  e IL-6, que se encuentran en los macrófagos perivasculares y las células endoteliales de las vénulas del cerebro (30).

El acoplamiento de estas vías de comunicación del sistema inmunitario al cerebro conduce a la producción de citocinas proinflamatorias por parte de las células microgliales mediante la acción convergente de dos eventos con diferentes cursos de tiempo: uno que lleva a la activación de la vía neural aferente rápida y otro de propagación más lenta que lleva el mensaje de las citocinas dentro del cerebro. La activación de la vía neural, probablemente, sensibiliza estructuras cerebrales blanco para la producción y la acción de las citocinas que se propagan desde los órganos circunventriculares y el plexo coroideo en el cerebro (16,31).

En este sentido, se ha propuesto que el cerebro forma una 'imagen' de la respuesta inmunitaria periférica innata, cuyos componentes moleculares primarios son similares a los de la reacción descrita en la periferia, sin que la formación de esta 'imagen inmunológica' en el cerebro implique una invasión de las células inmunitarias en el parénquima cerebral, lo que indica que las alteraciones no se deben al daño tisular producido directamente por la infección (29,30,32).

Sin embargo, no se sabe aún cuáles son los circuitos del cerebro que median las diversas acciones del comportamiento depresivo causado por estrés o los síntomas generales de enfermedad provocados por las citocinas. Por ejemplo, no es probable que los síntomas generales de enfermedad y el aislamiento social inducidos por las citocinas, estén mediados por las mismas áreas del cerebro que producen la reducción del consumo de alimentos o la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (33), o la disrupción del control ejecutivo orquestado por la corteza prefrontal (34,35). La conducta en los modelos de depresión, la cual se ha relacionado con las células de la capa

granular del giro dentado, de la capa de células piramidales del hipocampo y de la hipófisis (36), es influenciada por los receptores de las citocinas IL-1 $\beta$  e IL-6 (30,34,37,38).

En trabajos previos de nuestro grupo, se ha evidenciado que la IL-6 es capaz de modular las corrientes inhibitorias GABA-érgicas producidas por la estimulación de las fibras recurrentes en la corteza prefrontal o auditiva de la rata (34,35). Recientemente, mediante registros intracelulares se encontró, en la preparación del corte de cerebro mantenido en condiciones *in vitro*, que esta interleucina también puede modular la influencia de la norepinefrina sobre las corrientes inhibitorias posinápticas (*Inhibitory Postsynaptic Current*, IPSC) en la segunda y la tercera capa de la corteza auditiva primaria (A1) de roedores.

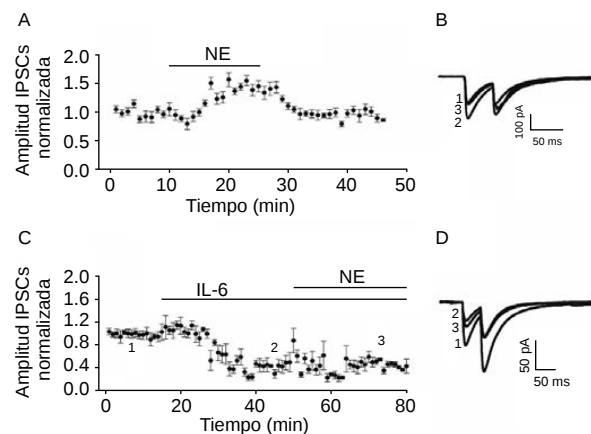
En la figura 2A se evidencia la influencia de la norepinefrina en dichas corrientes inhibitorias GABA-érgicas posinápticas registradas en neuronas piramidales de la segunda y la tercera capa de la corteza auditiva de ratón. Como ya se había observado, la norepinefrina (20  $\mu$ M) incrementó de manera reversible la amplitud de tales corrientes inhibitorias (39). Este resultado sugirió que la sensibilidad auditiva del ratón podría incrementarse bajo la influencia de esta amina biogénica. Sin embargo, en el presente trabajo se pudo demostrar que la activación de la inmunidad innata por inflamación cambia radicalmente esta relación.

En otro experimento (figura 2B), se demostró la acción de la IL-6 en las mismas corrientes con la aplicación de 10 ng/ml de IL-6 directamente en una neurona piramidal de la segunda y la tercera capa de la corteza auditiva. En la figura se ven las corrientes inhibitorias antes y después de la aplicación de los 10 ng/ml de IL-6.

Como se aprecia, la aplicación de la interleucina produjo una reducción de su amplitud, de aproximadamente el 50 % (figura 2B). Sin embargo, cuando se aplicó norepinefrina en presencia de la IL-6, ya no se produjo ningún cambio en las corrientes sinápticas inhibitorias, lo que sugiere que, cuando la inmunidad innata se activa, la norepinefrina pierde la modulación positiva sobre las corrientes inhibitorias que sí se produce en condiciones de control, lo cual contribuye a incrementar la excitabilidad del sistema (figura 2B). Aun cuando estos resultados no implican necesariamente cambios en la respuesta conductual, concuerdan con las modificaciones observadas en dicha reacción con la aplicación de la citosina IL-6 (34,39).

## Receptores de tipo *toll* 4 y citocinas IL-1 $\beta$ e IL-6 en la depresión

Además de la citocina IL-1 $\beta$  y la IL-6, que con frecuencia se han relacionado con la depresión, también se han encontrado relaciones con otras moléculas y receptores de la respuesta inmunitaria innata, en particular los receptores de tipo *toll* 4 (TLR4) (13). La activación de tales receptores desencadena procesos de transcripción proinflamatorios mediante proteínas adaptadoras que inducen la transcripción de los factores NF-kappa B, AP-1 e IRF3 (40,41). A su vez, la activación de estos factores de transcripción promueve la de la producción de citocinas proinflamatorias, incluidas la IL-1 $\beta$ , el TNF- $\alpha$ , la IL-6, y la CXCL10, así como el incremento de proteínas como la ciclooxygenasa 2 (COX-2), lo que resulta en un aumento de la señalización proinflamatoria observada en el paradigma de choques eléctricos inevitables en roedores, en el modelo del fenómeno de desesperanza aprendida (42,43).



**Figura 2.** La citosina IL-6 bloquea la influencia de la norepinefrina en las corrientes sinápticas inhibitorias (IPSC) en neuronas piramidales de la capa 2-3 del área A1 en la corteza temporal de la rata. **A.** Curso temporal de la amplitud de las IPSC mediante la estimulación de las fibras aferentes cercanas al sitio de registro antes y después de la aplicación de norepinefrina (20  $\mu$ M) directamente en el baño. **B.** IPSC sobrepuestas en el punto indicado por los mismos números en A durante este experimento. **C.** Como en A, curso temporal de la amplitud de las IPSC antes y después de la aplicación de IL-6 recombinante de rata (10 ng/ml; R & D Systems®, Minneapolis, Minnesota) y de norepinefrina (20  $\mu$ M) en presencia de la IL-6 (aplicación directamente en el baño). **D.** Como en B, las IPSC sobrepuestas en el punto indicado por los mismos números durante el experimento mostrado en C. La IL-6 fue activada en una solución salina amortiguada con fosfato en una concentración de 0,5 g/1 ml. La norepinefrina (20  $\mu$ M) se aplicó iontopóricamente en el sitio de registro. Los puntos indican el promedio de la amplitud de las IPSC.

Una diferencia notable entre el fenómeno producido por el aumento de la señalización de las neurocininas y el de la neuroinflamación, y la depresión mayor, es la reversibilidad de los efectos. El aumento de citocinas centrales resultante de infecciones que no son graves, del ejercicio o del estrés moderado, produce cambios neuronales reversibles (44). Estos cambios neuronales provocados por las citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ , incluyen la estimulación de los receptores de NMDA y del ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA), y el equilibrio de su activación, así como la disminución de la expresión de los receptores GABA<sub>A</sub> en las neuronas, lo que provoca un aumento de la excitabilidad reversible (45). En la enfermedad depresiva, a esto se suma la activación del sistema serotoninérgico pasadas las 24 horas; además, estos cambios pueden continuar durante semanas, meses o años (44).

### El metabolismo del triptófano y la serotonina y la depresión

Uno de los mediadores moleculares clave en la inducción del desarrollo de los síntomas depresivos en los seres humanos después de la administración de la citosina IFN- $\alpha$ , es la enzima indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), que convierte el triptófano en quinurenina, un precursor de la neurotoxina 3-hidroxiquinurenina, o en ácido quinurénico, un metabolito neuroprotector (46) (figura 3).

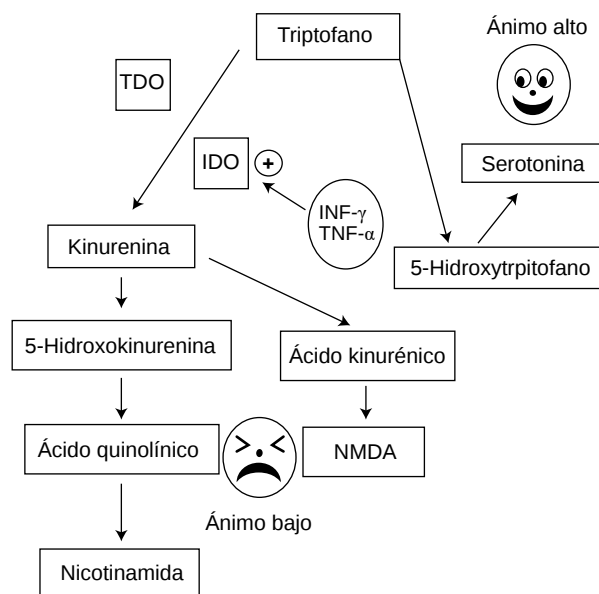
De hecho, la producción de metabolitos de triptófano neurotóxicos después de la activación de la IDO, se considera un paso esencial en el proceso fisiopatológico de la depresión, lo cual se suma al hecho de que durante el estrés se reduce la síntesis del 5-hidroxitriptófano (5-HT) en el cuerpo y la de la serotonina en el cerebro (46). La activación de la IDO lleva a la producción de 3-hidroxiquinurenina y ácido quinolínico, los cuales producen síntomas de la depresión análogos a los síntomas generales de enfermedad. Dichos metabolitos son agonistas de los receptores NMDA y potencialmente neurotóxicos, en tanto que el ácido quinurénico es un antagonista de dichos receptores y, generalmente, se considera neuroprotector (47-50) (figura 3).

Las citocinas proinflamatorias incrementan la enzima quinurenina-3-mono-oxigenasa, la cual degrada la quinurenina en la 2-hidroxiquinurenina y, de este modo (figura 3), desvían la vía de quinurenina hacia la formación de dichas sustancias neurotóxicas. O'Connor, *et al.*, demostraron que la administración periférica de IDO inducía un estado

de depresión. El bloqueo de su activación directamente con un antagonista de dicha activación, o indirectamente con fármacos antiinflamatorios, impide la aparición del comportamiento depresivo porque atenúa la expresión de citocinas proinflamatorias inducidas por lipopolisacáridos que activan la inmunidad innata (32,51,52).

En línea con estas observaciones, cuando se produjo el modelo de depresión mediante la aplicación de lipopolisacáridos en roedores, aumentó la expresión de IDO en el cerebro 24 horas después de la inyección (53), tiempo que coincide con el de la aparición del comportamiento depresivo (54). El aumento de la actividad enzimática de la IDO se asoció con un aumento en la relación entre quinurenina y triptófano en la periferia y en el cerebro, procesos que ocurren también 24 horas después de la aplicación de los lipopolisacáridos (55,56). Los análogos de los lipopolisacáridos producen el mismo efecto en el cerebro de la rata (57).

En las ratas que recibieron interferón alfa recombinante humano, el índice depresivo (tiempo de inmovilidad) se incrementó en la prueba de nado forzado. Sin embargo, su aplicación no incrementó la relación entre quinurenina y triptófano en el cerebro. El antidepresivo tricíclico imipramina bloqueó los efectos conductuales del interferón, pero no



**Figura 3.** El metabolismo del triptófano puede incrementar la actividad de la enzima triptófano hidroxilasa, aumentando las concentraciones del 5-hidroxitriptófano y promoviendo un estado eutímico del sistema, o incrementar la actividad de la enzima indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) y las concentraciones de ácido quinolínico promoviendo un estado depresivo.

tuvo efecto sobre dicha relación (58). En apoyo de la hipótesis de que la activación del sistema inmunitario innato produce trastornos del ánimo, la supresión del gen *IDO-1*, que codifica para la IDO, abolió el desarrollo del comportamiento depresivo inducido por la vacuna contra la tuberculosis (BCG) (59).

### **Eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal en la inflamación y en la depresión**

Se ha demostrado que el estrés crónico y la activación de las vías proinflamatorias se acompañan de resistencia de los receptores a los glucocorticoides (60). Por ejemplo, en un estudio de monocitos de sangre periférica de los cuidadores de pacientes con tumor cerebral maligno, se evidenció que el estrés producía resistencia funcional a los glucocorticoides, liberando la activación de las vías de control proinflamatorio de la transcripción (61). En otro estudio, la exposición recurrente a los estímulos estresantes aumentó significativamente la expresión del ARN mensajero y los niveles de proteínas plasmáticas de la IL-1 $\beta$ . Por último, los ratones que carecían del receptor IL-1 $\beta$  exhibieron hipertrofia suprarrenal y elevación de los niveles séricos de corticosterona como reacción al estrés (52).

También se ha reportado repetidamente que la concentración de la hormona cortisol se encuentra elevada en las personas deprimidas (62,63). De hecho, la falta de inhibición de la hormona liberadora de corticotropina de las neuronas parvocelulares en el núcleo paraventricular del hipotálamo, es la causa inmediata de las elevaciones de cortisol (52). Una vez activado, el hipocampo se comunica con el núcleo paraventricular del hipotálamo a través de conexiones en el núcleo ventral de la estría terminal (BNST), e inhibe la liberación de corticotropina. El BNST es probablemente un núcleo crucial en la regulación de la liberación de corticotropina en situaciones de estrés crónico (64-66).

### **Eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal e inflamación**

La inflamación inducida podría estimular la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal por medio de la acción directa de las citocinas en el cerebro, o mediante la inducción de resistencia a los glucocorticoides (67). De hecho, la hiperactividad es un marcador de la resistencia a los glucocorticoides e indica que la acción de las hormonas gluco-corticoides en los tejidos blanco resulta

ineficaz, lo cual podría conducir a la activación del sistema inmunitario. Existe gran interés por encontrar la causa de esta alteración (67).

En diversos modelos animales de la depresión, se ha evidenciado que esta se asocia con una disminución de la expresión de los glucocorticoides en el cerebro de fenotipo depresivo (67-69). En los humanos, dicha privación aumenta el riesgo de depresión. Por el contrario, un ambiente de seguridad temprana provocó un incremento en la expresión de dichos receptores en el hipocampo, así como disminución de la propensión a la depresión en la edad adulta (69). Los resultados de estos estudios sugirieron que las circunstancias en los primeros años de vida modulan la expresión de los receptores de glucocorticoides en el hipocampo, lo que, a su vez, puede modular los comportamientos relacionados con el estrés en la edad adulta. Aunque estos estudios no proporcionan una relación causal directa entre la expresión de los glucocorticoides y los comportamientos relacionados con la depresión, en las pruebas de correlación constituyen una clara evidencia de que las alteraciones en su actividad serían un factor importante en la etiología de la depresión (67).

En ratones modificados genéticamente con la inactivación específica de la señalización de los receptores de tipo *tol* en el hígado y en la médula ósea, se encontró que, durante la inflamación sistémica, se produce una modulación cruzada del sistema inmunitario y el suprarrenal que afecta la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal (70). En algunos estudios, se ha demostrado que la señalización de los TLR4 es capaz de estimular el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal (71), y que su activación es suficiente para causar la liberación de glucocorticoides de las células suprarrenales (72). Además, pueden causar un incremento en la expresión del gen *CRH* en las neuronas paraventriculares del hipotálamo (73), así como aumento de la corticotropina en el suero. Los protocolos conductuales que producen estrés crónico variable o estrés por derrota social, pueden sensibilizar el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y la respuesta inmunitaria a la exposición posterior a los lipopolisacáridos, e inducir diferencialmente respuestas incrementadas a las neurocininas y a las citocinas periféricas (74).

### **Glía y depresión**

Como lo señalaron Raison, *et al.*, las células gliales están implicadas tanto en la fisiopatología de la depresión mayor como en la acción de los

antidepresivos. En diversos estudios, se han abordado las alteraciones en la morfología y en el número de astrocitos, microglías y oligodendrocitos durante el proceso depresivo en humanos y en modelos animales de la depresión (17). Estas observaciones se han vinculado a pruebas funcionales de las alteraciones en el sistema de las células gliales y de las neuronas, los cambios en la concentración de los neurotransmisores o sustancias inmunoactivas o en el estado de mielinización, así como en la formación de las sinapsis (75).

Se ha evidenciado, además, una relación causal entre la disfunción de los astrocitos y la depresión, demostrada, por ejemplo, porque la destrucción selectiva de los astrocitos frontocorticales mediante la toxina selectiva del ácido L- $\alpha$  gliotoxina-aminoadípico, es suficiente para desencadenar la depresión (76). Asimismo, el fenotipo de tipo depresivo también apareció debido a la inhibición funcional de los astrocitos mediante la remoción de su sinaptobrevina-2, o al bloqueo de la liberación vesicular (77). Además, se ha reportado que diversas alteraciones moleculares en los astrocitos producen signos de depresión, como la alteración de la conexina 43, que participa en uniones comunicantes (78), o el bloqueo del receptor IP3 de tipo 2 (77), o la acuaporina-4 (79). Los tratamientos que alivian los síntomas depresivos, como los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (80), la terapia electroconvulsiva o la estimulación cerebral profunda (81), pueden recuperar la función de los astrocitos (82).

Las observaciones sobre lo que ocurre en el proceso depresivo indican que la actividad neuronal, lejos de actuar de manera aislada, lo hace en estrecha interacción con el sistema inmunitario y el sistema nervioso por medio de los astrocitos y de las microglías, que interactúan estrechamente en la actividad sináptica integrando la estructura llamada sinapsis 'cuadripartita' (del término *quadrupartite synapse*). A diferencia de la descripción clásica de los dos componentes, previos y posteriores a la sinapsis, en la actualidad se reconocen cuatro componentes: la célula presináptica, la célula posináptica y la participación estrecha de los astrocitos y la microglía (83).

El hallazgo de la capacidad de la glía para influir en la neurotransmisión serotoninérgica ilustra cómo no se trata simplemente de reemplazar antiguas concepciones sobre la causa de los síntomas depresivos (como la alteración del metabolismo de la serotonina), sino de complementar la teoría con

la participación de los mecanismos neuroinmunitarios y ampliar la explicación de los mecanismos neurales de la enfermedad. Se ha confirmado, por ejemplo, que la administración de glucocorticoides emuló el estrés inducido por la sensibilización inmunológica (84), efecto que fue bloqueado por un antagonista de los receptores de glucocorticoides, lo que indicaría que la señalización de estos receptores también sería un factor esencial en la génesis de la depresión mayor (84).

### **Teoría de la depresión por la traducción de la señal social**

Actualmente, el protocolo conductual para simular la enfermedad depresiva en roedores usado con más frecuencia se conoce como "protocolo de derrota social". Slavich, *et al.*, propusieron la teoría "de depresión por la traducción de la señal social", en la cual se enmarca el protocolo conductual mencionado.

Esta teoría propone que las situaciones que impliquen amenaza social se representan neurológicamente en regiones del cerebro, como la ínsula anterior y la región dorsal de la corteza cingulada anterior. Ambas regiones procesan las experiencias de afecto negativo o las situaciones que se detectan como un error insoluble (85,86). Aunque estas regiones no regulan directamente la actividad inflamatoria, tienen conexiones anatómicas con regiones del cerebro de nivel inferior, incluidos los núcleos de control autonómico del hipotálamo y el tronco cerebral, los cuales influyen en la inflamación sistémica mediante la modulación de la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y el sistema nervioso simpático (87).

La producción de cortisol asociada con la activación del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, suprime la actividad inflamatoria, en tanto que la producción de epinefrina y norepinefrina relacionada con el sistema nervioso simpático, promueve la inflamación mediante la interacción con las células inmunitarias para iniciar la activación de los factores de transcripción NF- $\kappa$ B y AP-1. Estas interacciones desvían la vía metabólica del triptófano hacia la activación de la enzima IDO-2, e inducen la activación de los factores NF- $\kappa$ B y AP-1 que regulan la expresión de genes de la respuesta inmunitaria proinflamatoria, incluidas la IL-1 $\beta$ , la IL6 y el TNF. Una vez activados, los genes asociados producen secuencias de aminoácidos que forman la base para diferentes proteínas, como las citocinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  (87).

El aumento de la actividad inflamatoria induce, a su vez, algunos de los síntomas somáticos, vegetativos, cognitivos y afectivos de la depresión, cuyos efectos son mediados por varias vías que no son mutuamente excluyentes.

### Conclusión

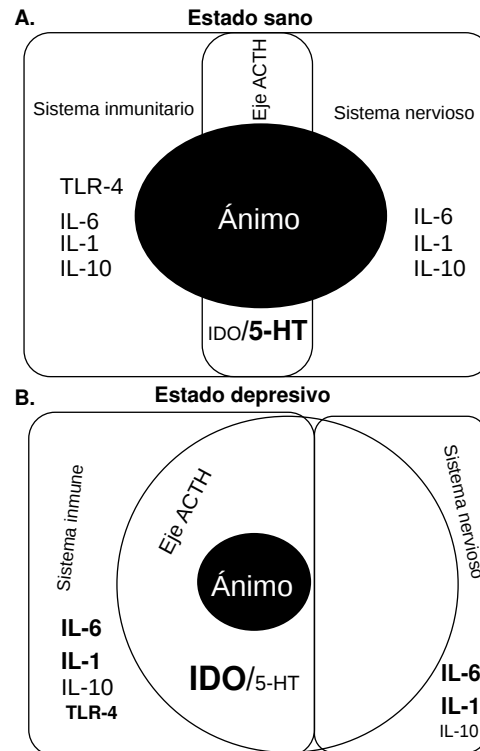
Se ha descrito cómo la actual teoría de la depresión basada en la actividad de la serotonina y del sistema inmunitario incorpora los factores propuestos en hipótesis previas, tales como la participación de la respuesta inmunitaria innata que contribuye a activar la vía metabólica del triptófano regulada por la actividad de la enzima IDO, la cual interactúa con las reacciones del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y del sistema inmunitario innato. Pero, en contraste con las antiguas teorías sobre la depresión, que consideraban de manera aislada diferentes aspectos de la enfermedad, esta integra la participación de los factores señalados: el sistema serotoninérgico, su interacción con la vía de la quinurenina, el sistema adrenérgico, el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, y el equilibrio de los receptores NMDA/AMPA y los del tipo kainato, resaltando el papel de la modulación cruzada entre las vías de los TLR4, el IDO-glutamato y el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal.

Como se ilustra en la figura 4A, la teoría más reciente propone que en las personas sanas se da la interacción equilibrada de los sistemas inmunitario y nervioso mediada por la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y por la relación entre la serotonina y la quinurenina, en la cual predomina la serotonina (tasa > 1). En individuos propensos, esta relación se ve alterada cuando hay un exceso de estrés. En la figura 4B se muestra el incremento de la influencia del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y de la enzima IDO, lo cual reduce dicha tasa (tasa < 1), y condiciona la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y del sistema inmunitario, lo que, sumado a la hipoactividad del sistema nervioso, promueve la adaptación corporal al estrés y los cambios conductuales característicos de la enfermedad depresiva (43,88,89).

Las interacciones entre estos sistemas ya han producido nuevas propuestas de tratamiento para la depresión mayor (90,91).

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses relacionado con este manuscrito.



**Figura 4.** Interacción de los sistemas inmunitario y nervioso, y el eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal en el estado sano y en el depresivo. **A.** En el estado sano, las respuestas del sistema inmunitario y del nervioso se mantienen en equilibrio frente a la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y la relación entre la actividad de las enzimas IDO y la triptófano hidroxilasa. Dicho equilibrio produce un acoplamiento perfecto entre las áreas de influencia del sistema nervioso y las del inmunitario representadas por los óvalos que aparecen anclados en la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, y la relación de la actividad entre las enzimas indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) y triptófano hidroxilasa (TPH). **B.** En el estado depresivo, aumenta la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y de la vía de la quinurenina, así como los niveles de la enzima IDO y las interleucinas proinflamatorias IL-6 e IL-1b, en tanto que disminuye el de interleucinas antiinflamatorias como la IL-10, entre otras. En esta condición, las áreas del sistema inmunitario y del nervioso ya no se acoplan de manera perfecta y aparecen como dos áreas independientes.

### Financiación

CONACYT CB2011-1674-Q a JCP; CB-2013-02 221653 a MA y CB-2011-168943 a HS.

### Referencias

1. Sankowski R, Mader S, Valdes-Ferrer SI. Systemic inflammation and the brain: Novel roles of genetic, molecular, and environmental cues as drivers of neurodegeneration. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:28. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00028>
2. Rosas-Ballina M, Olofsson PS, Ochani M, Valdés-Ferrer SI, Levine YA, Reardon C, et al. Acetylcholine-synthesizing T cells relay neural signals in a vagus nerve circuit. *Science.* 2011;334:98-101. <https://doi.org/10.1126/science.1209985>

3. **Medzhitov R, Janeway CA Jr.** Innate immunity: The virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*. 1997; 91:295-8. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80412-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80412-2)
4. **Jones JD, Dangl JL.** The plant immune system. *Nature*. 2006;444:323-9. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
5. **Aballay A.** Neural regulation of immunity: Role of NPR-1 in pathogen avoidance and regulation of innate immunity. *Cell Cycle*. 2009;8:966-9. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(02\)01396-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(02)01396-9)
6. **Aballay A, Drenkard E, Hilbun LR, Ausubel FM.** *Caenorhabditis elegans* innate immune response triggered by *Salmonella enterica* requires intact LPS and is mediated by a MAPK signaling pathway. *Curr Biol*. 2003;13:47-52. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(02\)01396-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(02)01396-9)
7. **Maier SF, Watkins LR.** Cytokines for psychologists: Implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol Rev*. 1998;105:83-107. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.105.1.83>
8. **Maes M, Song C, Lin AH, Bonaccorso S, Kenis G, De Jongh R, et al.** Negative immunoregulatory effects of antidepressants: Inhibition of interferon-gamma and stimulation of interleukin-10 secretion. *Neuropsychopharmacology*. 1999;20:370-9. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00088-8](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00088-8)
9. **Pace TW, Mletzko TC, Alagbe O, Musselman DL, Nemeroff CB, Miller AH, et al.** Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress. *Am J Psychiatry*. 2006;163:630-3. <https://doi.org/10.1176/ajp.2006.163.9.1630>
10. **Smith RS.** The macrophage theory of depression. *Med Hypotheses*. 1991;35:298-306. [https://doi.org/10.1016/0306-9877\(91\)90266-2](https://doi.org/10.1016/0306-9877(91)90266-2)
11. **Hernández JC, Montoya CJ, Urcuqui-Inchima S.** The role of toll-like receptors in viral infections: HIV-1 as a model. *Biomédica*. 2007;27:280-93. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i2.225>
12. **Maes M, Smith R, Scharpe S.** The monocyte-T-lymphocyte hypothesis of major depression. *Psychoneuroendocrinology*. 1995;20:111-6. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(94\)00066-J](https://doi.org/10.1016/0306-4530(94)00066-J)
13. **Schiepers, OJ, Wichers MC, Maes M.** Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005;29:201-17. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.11.003>
14. **Capuron L, Gummnick JF, Musselman DL, Lawson DH, Reemsnyder A, Nemeroff CB, et al.** Neurobehavioral effects of interferon-alpha in cancer patients: Phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology*. 2002;26:643-52. [https://doi.org/S0893-133X\(01\)00407-9](https://doi.org/S0893-133X(01)00407-9)
15. **Constant A, Castera L, Dantzer R, Couzigou P, de Ledinghen V, Demotes-Mainard J, et al.** Mood alterations during interferon-alfa therapy in patients with chronic hepatitis C: Evidence for an overlap between manic/hypomanic and depressive symptoms. *J Clin Psychiatry*. 2005;66:1050-7.
16. **Ramírez K, Sheridan JF.** Antidepressant imipramine diminishes stress-induced inflammation in the periphery and central nervous system and related anxiety- and depressive-like behaviors. *Brain Behav Immun*. 2016;57:293-303. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.05.008>
17. **Raison CL, Capuron L, Miller AH.** Cytokines sing the blues: Inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*. 2006;27:24-31. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.11.006>
18. **Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW.** From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9:46-56. <https://doi.org/10.1038/nrn2297>
19. **Cattaneo A, Macchi F, Plazzotta G, Veronica B, Bocchio-Chiavetto L, Riva MA, et al.** Inflammation and neuronal plasticity: A link between childhood trauma and depression pathogenesis. *Front Cell Neurosci*. 2015;9:40. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00040>
20. **Dantzer R, O'Connor JC, Lawson MA, Kelley KW.** Inflammation-associated depression: From serotonin to kynurenine. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36:426-36. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.09.012>
21. **O'Brien SM, Scott LV, Dinan TG.** Cytokines: Abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment. *Hum Psychopharmacol*. 2004;19:397-403. <https://doi.org/doi/10.1002/hup.609>
22. **Dantzer R.** Cytokine-induced sickness behavior: Where do we stand? *Brain Behav Immun*. 2001;15:7-24. <https://doi.org/10.1006/brbi.2000.0613>
23. **Leonard BE.** The HPA and immune axes in stress: The involvement of the serotonergic system. *Eur Psychiatry*. 2005;20(Suppl.3):S302-6. [https://doi.org/10.1016/S0924-9338\(05\)80180-4](https://doi.org/10.1016/S0924-9338(05)80180-4)
24. **González-Peña D, Nixon SE, O'Connor JC, Southey BR, Lawson MA, McCusker RH, et al.** Microglia transcriptome changes in a model of depressive behavior after immune challenge. *PLoS One*. 2016;11:e0150858. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150858>
25. **Dantzer R, Bluthé RM, Laye S, Bret-Dibat JL, Parnet P, Kelley KW.** Cytokines and sickness behavior. *Ann N Y Acad Sci*. 1998;840:586-90. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09597.x>
26. **Watkins LR, Wiertelak EP, Goehler LE, Mooney-Heiberger K, Martínez J, Furness L, et al.** Neurocircuitry of illness-induced hyperalgesia. *Brain Res*. 1994;639:283-99. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91742-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91742-6)
27. **Quan N, Whiteside M, Herkenham M.** Time course and localization patterns of interleukin-1 beta messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. *Neuroscience*. 1998; 83:281-93. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00350-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00350-3)
28. **Hasegawa-Ishii S, Inaba M, Umegaki H, Unno K, Wakabayashi K, Shimada A.** Endotoxemia-induced cytokine-mediated responses of hippocampal astrocytes transmitted by cells of the brain-immune interface. *Sci Rep*. 2016;6:254-57. <https://doi.org/10.1038/srep25457>
29. **Banks WA.** The blood-brain barrier in psychoneuroimmunology. *Neurol Clin*. 2006;24:413-9. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2006.03.009>

30. **Konsman J P, Vígues S, Mackerlova L, Bristow A, Blomqvist A.** Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: Relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by peripheral inflammatory stimuli. *J Comp Neurol.* 2004;472:113-29. <https://doi.org/10.1002/cne.20052>
31. **Dantzer R, Konsman JP, Bluthé RM, Kelley KW.** Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: Parallel or convergent? *Auton Neurosci.* 2000;85:60-5. [https://doi.org/10.1016/S1566-0702\(00\)00220-4](https://doi.org/10.1016/S1566-0702(00)00220-4)
32. **Lenart N, Brough D, Denes A.** Inflammasomes link vascular disease with neuroinflammation and brain disorders. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016;36:1668-85. <https://doi.org/10.1177/0271678X16662043>
33. **Ericsson A, Kovacs KJ, Sawchenko PE.** A functional anatomical analysis of central pathways subserving the effects of interleukin-1 on stress-related neuroendocrine neurons. *J Neurosci.* 1994;14:897-913. <https://doi.org/10.1002/jnr.23550>
34. **García-Oscos F, Peña D, Housini M, Cheng D, López D, Cuevas-Olguín R, et al.** Activation of the anti-inflammatory reflex blocks lipopolysaccharide-induced decrease in synaptic inhibition in the temporal cortex of the rat. *J Neurosci Res.* 2015;93:859-65. <https://doi.org/10.1002/jnr.23550>
35. **García-Oscos F, Peña D, Housini M, Cheng D, López D, Borland MS, et al.** Vagal nerve stimulation blocks interleukin 6-dependent synaptic hyperexcitability induced by lipopolysaccharide-induced acute stress in the rodent prefrontal cortex. *Brain Behav Immun.* 2015;43:149-58. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.07.020>
36. **Parnet P, Kelley KW, Bluthé RM, Dantzer R.** Expression and regulation of interleukin-1 receptors in the brain. Role in cytokines-induced sickness behavior. *J Neuroimmunol.* 2002;125:5-14. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(02\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(02)00022-X)
37. **Tang MM, Lin WJ, Pan YQ, Guan XT, Li YC.** Hippocampal neurogenesis dysfunction linked to depressive-like behaviors in a neuroinflammation induced model of depression. *Physiol Behav.* 2016;161:166-73. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.04.034>
38. **Vogelzangs N, de Jonge P, Smit JH, Bahn S, Penninx BW.** Cytokine production capacity in depression and anxiety. *Transl Psychiatry.* 2016;6:e825. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.92>
39. **Salgado H, García-Oscos F, Patel A, Martinolich L, Nichols JA, Dinh L, et al.** Layer-specific noradrenergic modulation of inhibition in cortical layer II/III. *Cereb Cortex.* 2011;21:212-21. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq081>
40. **Xu Y, Tao X, Shen B, Horng T, Medzhitov R, Manley JL, et al.** Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains. *Nature.* 2000;408:111-5. <https://doi.org/10.1038/35040600>
41. **Watters TM, Kenny EF, O'Neill LA.** Structure, function and regulation of the Toll/IL-1 receptor adaptor proteins. *Immunol Cell Biol.* 2007;85:411-9. <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100095>
42. **Akira S, Takeda K.** Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* 2004;4:499-511. <https://doi.org/10.1038/nri1391>
43. **Cheng Y, Pardo M, Armini R de S, Martínez A, Mouhsine H, Zagury JF, et al.** Stress-induced neuroinflammation is mediated by GSK3-dependent TLR4 signaling that promotes susceptibility to depression-like behavior. *Brain Behav Immun.* 2016;53:207-22. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.12.012>
44. **McCusker RH, Kelley KW.** Immune-neural connections: How the immune system's response to infectious agents influences behavior. *J Exp Biol.* 2013;216:84-98. <https://doi.org/10.1242/jeb.073411>
45. **Viviani B, Boraso M, Marchetti N, Marinovich M.** Perspectives on neuroinflammation and excitotoxicity: A neurotoxic conspiracy? *Neurotoxicology.* 2014;43:10-20. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.03.004>
46. **Yeh KY, Shou SS, Lin Y X, Chen C C, Chiang C Y, Yeh CY.** Effect of Ginkgo biloba extract on lipopolysaccharide-induced anhedonic depressive-like behavior in male rats. *Phytother Res.* 2015;29:260-6. <https://doi.org/10.1002/ptr.5247>
47. **Remus JL, Dantzer R.** Inflammation models of depression in rodents: Relevance to psychotropic drug discovery. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2016;19:9. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw028>
48. **Wichers MC, Maes M.** The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon-alpha-induced depression. *J Psychiatry Neurosci.* 2004;29:11-7.
49. **Muller N, Schwarz MJ.** The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: Towards an integrated view of depression. *Mol Psychiatry.* 2007;12:988-1000. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002006>
50. **Hashimoto K.** Emerging role of glutamate in the pathophysiology of major depressive disorder. *Brain Res Rev.* 2009;61:105-23. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.05.005>
51. **O'Connor JC, Andre C, Wang Y, Lawson MA, Szegedi SS, Lestage J, et al.** Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressive-like behavior in mice in response to bacillus Calmette-Guérin. *J Neurosci.* 2009;29:4200-9. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5032-08.2009>
52. **Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Carvalho LA, Pariante CM.** Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011;35:722-9. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.04.011>
53. **Lestage J, Verrier D, Palin K, Dantzer R.** The enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase is induced in the mouse brain in response to peripheral administration of lipopolysaccharide and superantigen. *Brain Behav Immun.* 2002;16:596-601. [https://doi.org/10.1016/S0889-1591\(02\)00014-4](https://doi.org/10.1016/S0889-1591(02)00014-4)
54. **Frenois F, Moreau M, O'Connor J, Lawson M, Micon C, Lestage J, et al.** Lipopolysaccharide induces delayed FosB/DeltaFosB immunostaining within the mouse extended amygdala, hippocampus and hypothalamus, that parallel the expression of depressive-like behavior. *Psychoneuroendocrinology.* 2007;32:516-31. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.03.005>
55. **O'Connor JC, Lawson MA, Andre C, Moreau M, Lestage J, Castanon N, et al.** Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Mol Psychiatry.* 2009;14:511-22. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002148>

56. Walker AK, Budac DP, Bisulco S, Lee AW, Smith RA, Beenders B, *et al.* NMDA receptor blockade by ketamine abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in C57BL/6J mice. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38:1609-16. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.71>
57. Gibney SM, McGuinness B, Prendergast C, Harkin A, Connor TJ. Poly I:C-induced activation of the immune response is accompanied by depression and anxiety-like behaviours, kynurenine pathway activation and reduced BDNF expression. *Brain Behav Immun*. 2013;28:170-81. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.11.010>
58. Fischer CW, Elfving B, Lund S, Wegener G. Behavioral and systemic consequences of long-term inflammatory challenge. *J Neuroimmunol*. 2015;288:40-6. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.08.011>
59. O'Connor JC, Lawson MA, Andre C, Briley EM, Szegedi SS, Lestage J, *et al.* Induction of IDO by bacille Calmette-Guerin is responsible for development of murine depressive-like behavior. *J Immunol*. 2009;182:3202-12. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802722>
60. Miller GE, Chen E, Sze J, Marin T, Arévalo JM, Doll R, *et al.* A functional genomic fingerprint of chronic stress in humans: Blunted glucocorticoid and increased NF-kappaB signaling. *Biol Psychiatry*. 2008;64:266-72. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.03.017>
61. Hayden MS, West AP, Ghosh S. SnapShot: NF-kappaB signaling pathways. *Cell*. 2006;127:1286-7. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.12.005>
62. Muller MB, Holsboer F. Mice with mutations in the HPA-system as models for symptoms of depression. *Biol Psychiatry*. 2006;59:1104-15. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.02.008>
63. Pace TW, Miller AH. Cytokines and glucocorticoid receptor signaling. Relevance to major depression. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1179:86-105. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04984.x>
64. Sapolsky RM, Meaney MJ, McEwen BS. The development of the glucocorticoid receptor system in the rat limbic brain. III. Negative-feedback regulation. *Brain Res*. 1985;350:169-73.
65. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10:397-409. <https://doi.org/10.1038/nrn2665>
66. Littrell JL. Taking the perspective that a depressive state reflects inflammation: Implications for the use of antidepressants. *Front Psychol*. 2012;3:297. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2012.00297>
67. Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Choudhury S, Musaelyan K, Myint AM, *et al.* Interleukin-1beta: A new regulator of the kynurenine pathway affecting human hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37:939-49. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.277>
68. Pariante CM, Miller AH. Glucocorticoid receptors in major depression: Relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry*. 2001;49:391-404. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)01088-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(00)01088-X)
69. Hennessy MB, Kaiser S, Sachser N. Stability and change: Stress responses and the shaping of behavioral phenotypes over the life span. *Front Zool*. 2015;12(Suppl.1):S18. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-12-S1-S18>
70. Anisman H, Zaharia MD, Meaney MJ, Merali Z. Do early-life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? *Int J Dev Neurosci*. 1998;16:149-64. [https://doi.org/10.1016/S0736-5748\(98\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S0736-5748(98)00025-2)
71. Kanczkowski W, Alexaki VI, Tran N, Grossklaus S, Zacharowski K, Martinez A, *et al.* Hypothalamo-pituitary and immune-dependent adrenal regulation during systemic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:14801-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313945110>
72. Mohn CE, Fernández-Solari J, De Laurentiis A, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Rettori V. Adrenal gland responses to lipopolysaccharide after stress and ethanol administration in male rats. *Stress*. 2011;14:216-26. <https://doi.org/10.3109/10253890.2010.532254>
73. Loum-Ribot E, Lafon P, Chaigniau M, Tramu G, Corio M. Glucocorticoids down-regulate lipopolysaccharide-induced de novo production of neurotensin mRNA in the rat hypothalamic, paraventricular, corticotrophin-releasing hormone neurons. *Neuroimmunomodulation*. 2006;13:170-8. <https://doi.org/10.1159/000098130>
74. Gibb J, Al-Yawer F, Anisman H. Synergistic and antagonistic actions of acute or chronic social stressors and an endotoxin challenge vary over time following the challenge. *Brain Behav Immun*. 2013;28:149-58. <https://doi.org/10.1159/000098130>
75. Oliveira JF, Gomes CA, Vaz SH, Sousa N, Pinto L. Glial plasticity in depression. *Front Cell Neurosci*. 2016;10:163. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00163>
76. Banasr M, Duman RS. Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry*. 2006;64:863-70. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.008>
77. Cao X, Li LP, Wang Q, Wu Q, Hu HH, Zhang M, *et al.* Astrocyte-derived ATP modulates depressive-like behaviors. *Nat Med*. 2013;19:773-7. <https://doi.org/10.1038/nm.3162>
78. Sun JD, Liu Y, Yuan YH, Li J, Chen NH. Gap junction dysfunction in the prefrontal cortex induces depressive-like behaviors in rats. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37:1305-20. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.319>
79. Di Benedetto B, Malik VA, Begum S, Jablonowski L, Gómez-González GB, Neumann ID, *et al.* Fluoxetine requires the endfeet protein aquaporin-4 to enhance plasticity of astrocyte processes. *Front Cell Neurosci*. 2016;10:8. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00008>
80. Czeh B, Simon M, Schmelting B, Hiemke C, Fuchs E. Astroglial plasticity in the hippocampus is affected by chronic psychosocial stress and concomitant fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31:1616-26. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300982>
81. Etievant A, Lucas G, Dkhissi-Benyahya O, Haddjeri N. The role of astroglia in the antidepressant action of deep brain stimulation. *Front Cell Neurosci*. 2016;9:509. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00509>
82. Kong H, Sha LL, Fan Y, Xiao M, Ding JH, Wu J, *et al.* Requirement of AQP4 for antidepressive efficiency of fluoxetine: Implication in adult hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34:1263-76. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.185>

83. **Rial D, Lemos C, Pinheiro H, Duarte JM, Goncalves FQ, Real JI, *et al.*** Depression as a glial-based synaptic dysfunction. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:521. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00521>
84. **Sapolsky RM, Pulsinelli WA.** Glucocorticoids potentiate ischemic injury to neurons: therapeutic implications. *Science.* 1985;229:1397-400. <https://doi.org/10.1126/science.4035356>
85. **Eisenberger NI.** The pain of social disconnection: Examining the shared neural underpinnings of physical and social pain. *Nat Rev Neurosci.* 2012;13:421-34. <https://doi.org/10.1038/nrn3231>
86. **Slavich GM, O'Donovan A, Epel ES, Kemeny ME.** Black sheep get the blues: A psychobiological model of social rejection and depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010;35:39-45. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.01.003>
87. **Slavich GM, Cole SW.** The emerging field of human social genomics. *Clin Psychol Sci.* 2013;1:331-48.
88. **Frank MG, Thompson BM, Watkins LR, Maier SF.** Glucocorticoids mediate stress-induced priming of microglial pro-inflammatory responses. *Brain Behav Immun.* 2012;26:337-45. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.10.005>
89. **Zacharowski K, Zacharowski PA, Koch A, Baban A, Tran N, Berkels R, *et al.*** Toll-like receptor 4 plays a crucial role in the immune-adrenal response to systemic inflammatory response syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:6392-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601527103>
90. **Hernández ME, Mendieta D, Pérez-Tapia M, Bojalil R, Estrada-García I, Estrada-Parra S, *et al.*** Effect of selective serotonin reuptake inhibitors and immunomodulator on cytokines levels: An alternative therapy for patients with major depressive disorder. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:267871. <https://doi.org/10.1155/2013/267871>
91. **Arreola R, Becerril-Villanueva E, Cruz-Fuentes C, Velasco-Velázquez M A, Garcés-Álvarez M E, Hurtado-Alvarado G, *et al.*** Immunomodulatory effects mediated by serotonin. *J Immunol Res.* 2015;2015:354957. <https://doi.org/10.1155/2015/354957>

## CARTA AL EDITOR

Cali, 1° de agosto de 2018

Señores  
Comité Editorial  
Revista *Biomédica*  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C.

Estimados señores:

He leído con detenimiento el artículo de Palomino-Devia, *et al.* (1), titulado “Niveles de actividad física, calidad de vida relacionada con la salud, autoconcepto físico e índice de masa corporal: un estudio en escolares colombianos”, publicado recientemente en la revista *Biomédica*, y me permito hacer los siguientes comentarios en torno al índice de masa corporal (IMC).

Como lo plantean los autores en su introducción (1), es bien sabido que para el diagnóstico del sobrepeso y la obesidad en adultos y en niños, se debe contar con indicadores antropométricos como el IMC y, en el caso específico de los niños, este debe considerarse con respecto a la edad. Sin embargo, en el artículo mencionado no se alude a la clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2), la cual se adoptó para Colombia en la Resolución 2465 del 14 de junio del 2016 emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social, en la que se establece que, en los niños entre los 5 y los 17 años de edad, el sobrepeso corresponde a un IMC ubicado entre las líneas de puntuación de  $\geq 1$  y  $\leq 2$  desviaciones estándar, en tanto que, en la obesidad infantil, este se sitúa por encima de la línea de puntuación de  $+2$  desviaciones estándar.

Además, los autores comparan sus resultados con los obtenidos en los estudios de dos Santos, *et al.* (3), y Muros, *et al.* (4), quienes utilizan los puntos de corte empleados por Cole, *et al.* (5), para clasificar el sobrepeso y la obesidad. Dichos puntos de corte responden a una nueva definición del sobrepeso y la obesidad en la infancia, basada en datos internacionales combinados para el IMC y vinculada al punto de corte de la obesidad adulta, el cual está entre 25 y 30 kg/m<sup>2</sup>.

Estos dos comentarios me sirven para anotar que hubiera sido interesante conocer el resultado de la pregunta de investigación relacionada directamente

con la presencia de la obesidad o el sobrepeso según la OMS, y compararlos con los resultados de Santos, *et al.* (3), quienes estudiaron 212 adolescentes portugueses entre 12 y 16 años de edad y encontraron una prevalencia entre moderada y alta de sobrepeso y obesidad, así como de colesterol/HDL. Asimismo, hallaron una alta prevalencia de hipertensión arterial sistémica y niveles de actividad física bajos a moderados. Además, la relación entre el IMC y el riesgo metabólico (glucosa en ayunas, triglicéridos, colesterol/HDL, presión arterial sistólica y circunferencia de la cintura), demostró que los adolescentes obesos presentaban mucho mayor riesgo metabólico que los adolescentes con sobrepeso y los eutróficos. En la comparación con los resultados del estudio de Muros, *et al.* (4), en 106 estudiantes españoles de 12,0 $\pm$ 0,9 años, se evidenció que los hombres hacían más actividad física que las mujeres ( $\geq 2$  horas de actividad física extraescolar de intensidad moderada a vigorosa), y que los estudiantes con peso normal eran más activos que aquellos con sobrepeso u obesidad y tenían mejor calidad de vida.

Carlos Alberto Velasco-Benítez  
Departamento de Pediatría, Universidad del Valle,  
Cali, Colombia

## Referencias

1. **Palomino-Devia C, Reyes-Oyola FA, Sánchez-Oliver A.** Niveles de actividad física, calidad de vida relacionada con la salud, autoconcepto físico e índice de masa corporal: un estudio en escolares colombianos. *Biomédica*. 2018;38: 224-31. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3964>
2. **de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J.** Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *BWHO*. 2007; 85:660-7. <https://doi.org/10.2471/BLT.07.043497>
3. **dos Santos FK, Ferreira Gomes TNQ, de Souza MC, Chaves RN, de Vilhena DN, Sampaio Pereira SI, et al.** Physical activity, BMI and metabolic risk in Portuguese adolescents. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum*. 2016;18:103-13. <https://doi.org/10.5007/1980-0037.2016v18n1p103>
4. **Muros-Molina JJ, Som-Castillo A, López-García de la Serrana H, Zabala-Díaz M.** Asociaciones entre el IMC, la realización de actividad física y la calidad de vida en adolescentes. *CCD*. 2009;4:159-65.
5. **Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH.** Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: International survey. *BMJ*. 2000;320:1240.

\*\*\*

Ibagué, 23 de agosto de 2018

Señores  
Revista *Biomédica*  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C.

Apreciados editores:

Agradecemos las observaciones del doctor Carlos Alberto Velasco-Benítez sobre nuestro artículo y al respecto expresamos lo siguiente:

1. En nuestro artículo publicado en *Biomédica* en junio de 2018, sí se presenta la clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud, incluida en el primer considerando de la Resolución 2465 del 14 de junio de 2016 (1) expedida por el Ministerio de Salud y Protección Social, en la cual se alude a “los patrones de crecimiento infantil publicados en los años 2006-007 por la Organización Mundial de la Salud-OMS- para la clasificación antropométrica del estado nutricional en niñas, niños y adolescentes menores de 18 años de edad”. Según la OMS, dichos patrones tienen validez para cualquier grupo poblacional que cumpla con esas características.
2. El doctor Velasco se refiere, asimismo, al estudio de Muros, *et al.* (2), en el cual los autores acogieron la clasificación basada en los puntos de corte definidos por Cole, *et al.* (3), y no a los incorporados en la resolución mencionada. Naturalmente, cuando se discuten los resultados de un estudio, se contrastan con otros que no responden exactamente a las mismas características, pues lo importante es su discusión y su análisis comparativo. En este sentido, aclaramos que se hace alusión a un estudio multicéntrico sobre el patrón de crecimiento (1), en el cual se hizo un seguimiento longitudinal de niños desde el nacimiento hasta los 24 meses de edad. En este se recogieron los datos primarios sobre el crecimiento en 8.440 lactantes y niños pequeños saludables alimentados con leche materna, y de antecedentes étnicos y entornos culturales muy diversos (Brasil, Ghana,

India, Noruega, Omán y Estados Unidos). Este estudio tiene la peculiaridad de que fue concebido específicamente para elaborar un patrón, seleccionando a niños saludables que vivieran en condiciones favorables para alcanzar plenamente su potencial genético de crecimiento.

3. Esta referencia no fue tomada en cuenta: dos Santos FK, Ferreira Gomes TNQ, de Souza MC, Chaves RN, de Vilhena DN, Sampaio Pereira SI, *et al.* Physical activity, BMI and metabolic risk in Portuguese adolescents. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2016; 18:103-13. doi: <http://dx.doi.org/10.5007/1980-0037.2016v18n1p103>. No obstante, se incluyeron más de 100 estudios de diferentes partes del mundo tanto en América, en Europa y en Asia, para realizar las diferentes discusiones y el análisis de cada variable.

Por último, las sugerencias planteadas por el doctor Velasco-Benítez no afectan ni cambian de ninguna manera las conclusiones del estudio, puesto que son aspectos para tener en cuenta en futuras investigaciones.

Agradecemos el tiempo invertido en leer y analizar el artículo. Siempre estaremos dispuestos a escuchar todos los aportes que lleguen.

Atentamente,

Felipe Augusto Reyes-Oyola  
Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad del Tolima, Santa Helena Parte Alta, Ibagué, Colombia

## Referencias

1. **Organización Mundial de la Salud.** Patrones de crecimiento infantil. Fecha de consulta: 15 de enero de 2017. Disponible en: [http://www.who.int/childgrowth/standards/tr\\_summary/es/](http://www.who.int/childgrowth/standards/tr_summary/es/)
2. **Muros J, Castillo A, López H, Zábala M.** Asociaciones entre el IMC, la realización de actividad física y la calidad de vida en adolescentes. *Cultura, Ciencia y Deporte.* 2009; 12:159-65.
3. **Dos Santos FK, Ferreira Gomes TNQ, de Souza MC, Chaves RN, de Vilhena DN, Sampaio Pereira SI, et al.** Physical activity, BMI and metabolic risk in Portuguese adolescents. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2016;18:103-13. doi: <http://dx.doi.org/10.5007/1980-0037.2016v18n1p103>

## Información e instrucciones para los autores

*Biomédica* es la revista científica del Instituto Nacional de Salud de Colombia. Su fin primordial es la difusión de trabajos originales que contribuyan a ampliar los conocimientos en biomedicina.

### Política editorial de la revista

*Biomédica* acepta y se acoge a los lineamientos establecidos por el *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE) ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)), por *Equator Network* (<http://www.equator-network.org/>) y por el *Committee on Publication Ethics* (COPE) (<http://publicationethics.org/>) para garantizar la calidad de las publicaciones científicas, su transparencia, integridad y debida salvaguarda de los principios éticos que rigen la investigación biomédica.

La política de reconocimiento de autoría de la revista *Biomédica* se ciñe a la orientación del ICMJE. Este Comité señala que

“El crédito de autoría debe basarse solamente en:

- (1) contribuciones sustanciales a la concepción y el diseño del manuscrito, o a la adquisición, análisis e interpretación de los datos;
- (2) la redacción del manuscrito o la revisión crítica de contenido intelectual importante;
- (3) la aprobación final de la versión que se publicará, y
- (4) la asunción de la responsabilidad frente a todos los aspectos del manuscrito, para garantizar que los asuntos relativos a la exactitud o integridad de cualquier parte del mismo sean apropiadamente investigados y resueltos.

Para que a alguien se le reconozca como autor, debe satisfacer las cuatro condiciones mencionadas. La adquisición de fondos, la recolección de datos o la supervisión general del grupo de investigación por sí mismos, no justifican la autoría”.

La revista *Biomédica* no acepta la inclusión o el retiro de autores después de haberse iniciado el proceso editorial de los manuscritos. En casos excepcionales en que ello se permita, es obligatorio obtener el consentimiento por escrito de los autores cuyos nombres vayan a ser eliminados del manuscrito o agregados a él. Además, se debe enviar una declaración firmada haciendo constar que todos los autores reúnen los criterios de autoría y que no existen otros autores que, reuniendo los criterios,

hayan sido omitidos, y volver a mencionar en detalle la contribución de cada persona a la investigación y al manuscrito.

### Registro de ensayos clínicos

*Biomédica* apoya las políticas de registro de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud y del *International Committee of Medical Journal Editors*. Por consiguiente, solamente aceptará para publicación los manuscritos de investigaciones clínicas que hayan recibido un número de identificación en uno de los registros de ensayos clínicos validados por los criterios establecidos por las instituciones antes mencionadas. El número de identificación y el sitio de registro se deben incluir al final del resumen del manuscrito.

### Derechos de autor

Ninguna publicación, nacional o extranjera, puede reproducir ni traducir los artículos ni sus resúmenes, sin previa autorización escrita del Comité Editorial de la revista *Biomédica*.

### Declaración de privacidad

Los nombres y las direcciones de correo electrónico suministradas a la revista se utilizarán exclusivamente para los propósitos declarados y no se pondrán a disposición de ninguna otra persona o institución.

### Proceso editorial

Todo material propuesto para publicación en la revista será revisado inicialmente por el Comité Editorial y enviado luego para evaluación externa a evaluadores o pares científicos. Para facilitar este paso, junto con el manuscrito, los autores deben enviar a través del sistema en línea, un archivo complementario que contenga el nombre, la afiliación y el correo electrónico de cuatro posibles evaluadores nacionales y cuatro internacionales. Los nombres de los evaluadores sugeridos no deben incluirse dentro del manuscrito.

Una vez que el autor reciba los comentarios de los evaluadores, debe proceder a contestarlos punto por punto y a incorporar las modificaciones correspondientes en el texto, en un plazo de dos semanas. Si en el transcurso de las cuatro semanas siguientes, *Biomédica* no ha recibido la respuesta de los autores, el Comité Editorial retirará el manuscrito.

Una vez aceptado el manuscrito para publicación, el Comité Editorial no aceptará modificaciones sobre su contenido y se solicitará enviar una declaración de cesión a la revista de los derechos de reproducción, la cual debe ser firmada por todos los autores. Además, los autores deben hacer revisar la calidad del inglés del manuscrito o del resumen, por parte de un experto en el idioma, y enviar la certificación a la revista en un plazo menor a dos semanas.

La revista *Biomédica* se reserva el derecho de aceptar o rechazar los manuscritos sometidos para publicación, y hará sugerencias que tiendan a mejorar su presentación y a garantizar la integridad de la publicación.

Los manuscritos originales aceptados para publicación, se mantendrán en los archivos de la revista durante mínimo un año a partir de la fecha de publicación.

Después de la edición y la corrección de estilo, los autores recibirán las galeradas del artículo, las cuales deben ser cuidadosamente revisadas y devueltas al editor en un término máximo de 48 horas.

La revista *Biomédica* es de acceso libre e incluye metadatos de citación para todas las referencias de los artículos publicados y las deposita en CrossRef (<http://www.crossref.org/>).

### Información general sobre los manuscritos

*Biomédica* publica trabajos científicos, escritos en español o en inglés, en las siguientes categorías.

**Artículo original:** trabajo inédito derivado de una investigación biomédica que aporta información nueva sobre aspectos específicos y contribuye de manera relevante al conocimiento científico.

**Comunicación breve:** es el informe de resultados parciales o finales de una investigación, cuya divulgación rápida sea de gran importancia.

**Nota técnica:** describe en detalle una técnica de laboratorio novedosa o modificaciones de una técnica ya establecida, enfatizando las ventajas que tiene el procedimiento o la innovación desarrollados.

**Ensayo:** es un manuscrito filosófico, literario o científico que presenta la opinión sustentada del autor sobre un tema específico o de actualidad.

**Comentario:** manuscrito sobre un artículo publicado en la revista.

**Reseña histórica:** es un manuscrito que destaca personajes o sucesos y su contribución al desarrollo de las ciencias biomédicas o de las políticas en salud.

**Revisión de tema:** presenta el estado actual del conocimiento sobre un tema; puede ser de dos tipos:

- 1) solicitada directamente por el Comité Editorial a personas expertas en el tema,
- 2) presentada por profesionales interesados en un tema en particular. En este caso, se debe enviar inicialmente al Comité Editorial la propuesta en la que se indique por qué el tema escogido es pertinente para los lectores de *Biomédica*, así como una breve descripción del contenido, las referencias clave, las publicaciones de los autores sobre el tema que serán incluidas (requisito obligatorio), los datos inéditos de los autores que se incluirán en la revisión (requisito obligatorio), la probable extensión del documento y el número aproximado de ilustraciones.

En ambas casos, los autores deben estructurar la revisión de la siguiente manera:

- incluir un resumen con énfasis en el significado de los hallazgos recientes;
- una introducción al tema, señalando hitos pasados y desarrollos presentes;
- encabezamientos en el texto, con el objeto de hacer más provechosa su lectura;
- la revisión debe incluir un análisis crítico de la bibliografía y los datos propios de los autores;
- el desarrollo del tema queda a discreción del autor, pero se aconseja que incluya tablas, esquemas y figuras, que hagan ágil el texto y ofrezcan una comprensión más rápida de su contenido. En caso de usar figuras tomadas total o parcialmente de otras publicaciones, los autores deben adjuntar el permiso de la casa editorial que ostente los derechos de autor para su reproducción en *Biomédica*.

**Imágenes en biomedicina:** es un trabajo ilustrado con fotografías que muestran y explican de manera didáctica un concepto, una estructura, una enfermedad o un diagnóstico biomédico. Debe incluir un comentario corto que resalte la importancia del tema ilustrado.

**Haga usted el diagnóstico:** pretende retar la capacidad diagnóstica de los lectores, utilizando

ilustraciones o fotografías de casos clínicos o de hallazgos microscópicos. Consta de dos partes, la presentación clínica y los hallazgos correspondientes, y el diagnóstico correcto; este último aparece en una página aparte y debe acompañarse de un comentario actualizado sobre la entidad que se pretende ilustrar.

**Presentación de casos:** son ejemplos de casos clínicos que destacan alguna particularidad o señalan un hallazgo especial de la enfermedad, con una revisión breve de las publicaciones pertinentes.

**Cartas al editor:** los lectores pueden solicitar aclaraciones o presentar comentarios sobre el material publicado en la revista. La decisión sobre la publicación de las cartas recibidas queda a discreción del Comité Editorial.

**Comentarios bibliográficos:** son escritos críticos breves sobre libros de salud o de biomedicina.

#### **Preparación del manuscrito**

Los autores deben ceñirse a las indicaciones del *International Committee of Medical Journal Editors*, que se encuentran publicadas como *Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (Updated December 2013)* (<http://icmje.org/icmje-recommendations.pdf>).

El manuscrito debe incluir las siguientes secciones.

**Hoja de presentación:** esta sección debe incluir

- título (máximo 165 caracteres),
- título corto para los encabezamientos de las páginas (máximo 50 caracteres),
- título en inglés (máximo 165 caracteres),
- un párrafo con los nombres completos de los autores únicamente con el primer apellido,
- la afiliación institucional integrada por grupo, institución, ciudad y país. La afiliación institucional se relaciona con los autores con números en superíndice y en ella se deben omitir cargos y títulos académicos,
- datos de correspondencia: nombre del autor responsable, dirección completa, número telefónico y de fax, y dirección electrónica, y
- párrafo donde los autores declaren cuál fue el aporte al documento de cada uno de ellos.

**Resúmenes:** el trabajo debe incluir un resumen estructurado en español e inglés, con los subtítulos introducción, objetivo, materiales y métodos,

resultados y conclusión. Los resúmenes no deben exceder las 250 palabras. No se permite el uso de referencias ni se recomienda la inclusión de siglas o acrónimos.

**Palabras clave:** se requieren de 6 a 10 palabras clave en cada idioma; consulte los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) del índice de la Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS) en <http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>; para verificar las de inglés, consulte los *Medical Subject Headings* (MeSH) del *Index Medicus* en <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>.

**Texto:** todo el manuscrito, incluso la página del título, los resúmenes, las referencias, las leyendas de figuras y cuadros, debe estar escrito en letra Arial de 12 puntos de tamaño a doble espacio y alineado a la izquierda, sin dejar espacios extras entre párrafos; se debe dejar un solo espacio después del punto y seguido o del punto y aparte.

Los cuadros se deben configurar en letra Arial de 10 puntos de tamaño a espacio sencillo.

Se debe usar letra bastardilla o cursiva para los términos científicos, sin subrayarlos.

Los números decimales en español deben separarse de los números enteros por comas, no por puntos.

**Formato electrónico:** el manuscrito se debe enviar en Word, preferiblemente en la versión 97-2003. Además de ser adjuntas al documento de Word, las figuras se deben enviar preferentemente como fichero complementario en formato tiff (*Tagged Image File Format*) de 300 dpi (*dots per inch*). Las gráficas elaboradas en *PowerPoint* o *Word* son de baja resolución, por lo tanto, no se deben incluir este tipo de imágenes en formato electrónico. Las ilustraciones se imprimen en una columna (75 mm) o en dos columnas (153 mm); por consiguiente, se deben enviar las ilustraciones del tamaño en que van a quedar impresas. Si las ilustraciones son en color y se remiten en formato electrónico, se deben enviar en archivos CMYK en formato tiff (*Tagged Image File Format*) de alta resolución. Si la imagen no tiene texto incluido, la resolución óptima para los archivos CMYK es de 300 dpi; si incluye texto, la resolución recomendada es de 600 dpi y, si son de blanco y negro, de 1.200 dpi. La fuente preferida para las gráficas es Helvética. Si sus archivos son de Macintosh, debe convertirlos a uno de los formatos mencionados. Se requiere una lista completa de los archivos enviados, que incluya los programas cuyo formato se utilizó.

**Agradecimientos:** cuando en esta sección se nombren personas, los autores deben certificar que ellos tienen conocimiento y están de acuerdo con aparecer en los agradecimientos. Esto no es necesario cuando se nombran entidades.

**Conflicto de intereses y financiación:** los autores deben incluir, antes de las referencias del manuscrito, un párrafo en el que expresen si existen conflictos de intereses o si no los hay. Además, debe presentarse otro párrafo que incluya la fuente de financiación de la investigación adelantada.

*Biomédica* acoge las recomendaciones del ICMJE y adopta el formato de declaración de potenciales conflictos de intereses, el cual debe ser diligenciado individualmente por cada uno de los autores del manuscrito y enviado junto con la carta de remisión. El formulario electrónico está disponible en <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/>.

**Referencias bibliográficas:** es indispensable observar estrictamente las indicaciones de los requisitos uniformes para manuscritos del área biomédica. Se le asigna un número a cada referencia citada del texto, así como a los cuadros y a las figuras, en orden ascendente. Los números de las referencias se anotan entre paréntesis y no como superíndice.

Las comunicaciones personales, los datos sin publicar, los manuscritos en preparación o sometidos para publicación y los resúmenes de trabajos presentados en congresos, se deben citar entre paréntesis en el cuerpo del manuscrito y no en la sección de referencias.

La abreviatura exacta de la revista citada se debe consultar en la lista de publicaciones periódicas del *Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>); si la revista no aparece, se escribe el título completo de la revista. Solo se deben transcribir los seis primeros autores del artículo, seguidos de *et al.* Se recomienda la inclusión de referencias nacionales y latinoamericanas, para lo cual se puede consultar Lilacs, Pubindex, Latindex, Redalyc, Sibra y otras fuentes bibliográficas pertinentes.

En caso de dudas sobre la forma correcta de citar una referencia (artículo científico, libro, tesis, página de internet, etc.), se sugiere consultar la página [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html), en la cual se encuentran ejemplos de todos y cada uno de los posibles casos.

A continuación se dan algunos ejemplos para el estilo de las referencias, siguiendo las normas de Vancouver.

**Revista científica:** la forma adecuada de citar revistas científicas es la siguiente (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

**Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla.** Título. Abreviatura de la revista. Año;volumen:página inicial-página final. <http://dx.doi.org/>

Ejemplo:

**Sánchez J, Villada OA, Rojas ML, Montoya L, Díaz A, Vargas C, et al.** Efecto del zinc aminoquelado y el sulfato de zinc en la incidencia de la infección respiratoria y la diarrea en niños preescolares de centros infantiles. *Biomédica*. 2014;34:79-91. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1581>

**Alter G, Malenfant JM, Altfeld M.** CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods*. 2004;294:15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2004.08.008>

**Libro o documento:** la forma adecuada de citar libros o documentos es (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

**Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla.** Título. Edición (en los casos que corresponda). Ciudad de publicación: editorial; año. página inicial-página final o número total de páginas.

Ejemplo:

**Bernard HR.** Research methods in anthropology: Qualitative and quantitative approaches. Second edition. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 1994. 585 p.

**Capítulo de libro o documento:** la forma adecuada de citar capítulos de libros o documentos es la siguiente (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

**Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla.** Título del capítulo. En: autor del libro, editores. Título del libro. Edición (en los casos que corresponda). Ciudad de publicación: editorial; año. página inicial-página final.

Ejemplo:

**Franco JL, Orrego JC, Montoya CJ, Patiño PJ.** Síndrome de infección recurrente. En: Correa JA, Gómez JF, Posada R, editores. *Fundamentos de Pediatría*. Tercera edición. Medellín: Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas; 2007. p. 15-50.

**Documentos en páginas web:** la forma adecuada de citar documentos publicados en páginas web, es la siguiente (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

**Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla.** Título. Fecha de consulta: día, mes, año. Disponible en: página exacta en donde abre el documento.

Ejemplo:

**Ministerio de la Protección Social.** Actualización integral del POS 2013. Fecha de consulta: 26 de febrero del 2014. Disponible en: <http://www.pos.gov.co/Documents/LISTADO%20MEDICAMENTOS%20ACUERDO%20008%20CRES.pdf>.

**Cuadros y figuras:** los cuadros se elaboran usando el formato de Word; abstenerse de preparar archivos en columnas o tabulados en el texto mismo del manuscrito.

En las preparaciones de microscopio, se deben mencionar la coloración y el aumento según el objetivo utilizado, sin incluir el valor del ocular.

Cuando se utilicen cuadros o figuras que ya hayan sido publicados, se requiere enviar la autorización de la casa editorial que ostenta los derechos de reproducción.

#### **Remisión del manuscrito**

El manuscrito debe ser remitido a través del sistema en línea disponible en el enlace de información para autores en <http://www.revistabiomedica.org/>.

Sin embargo, se debe enviar la carta impresa de remisión firmada en original por todos los autores, en la que conste que todos conocen y están de acuerdo con su contenido, y que el manuscrito no ha sido publicado anteriormente ni se ha sometido a publicación simultánea en otra revista, a la oficina de la revista ubicada en la siguiente dirección:

Revista Biomédica

Instituto Nacional de Salud

Avenida Calle 26 N° 51-20, bloque B, oficina B-245

Bogotá, D.C., Zona 6, Colombia, S.A.

Los autores radicados en otros países pueden enviar la carta de remisión firmada y escaneada desde sus correos electrónicos personales, al correo de la revista ([biomedica@ins.gov.co](mailto:biomedica@ins.gov.co)), informando que se entrega por este medio por encontrarse en el exterior.

Solo cuando se reciba la carta de remisión en la oficina de la revista (autores nacionales), o todos los correos (autores internacionales), se iniciará el proceso de revisión editorial del manuscrito.

Al someter un manuscrito para publicación en *Biomédica*, los autores aceptan con su firma, explícita o implícitamente, que:

- 1) Conocen las instrucciones para los autores y las han seguido detalladamente.
- 2) Todos los autores cumplen todos los criterios internacionalmente aceptados para ser considerados como tal.
- 3) No se ha excluido de la lista de autores el nombre de ningún autor que reúna los requisitos para serlo.
- 4) Todos los autores conocen la versión final del manuscrito sometido para publicación y están de acuerdo con ella.
- 5) No se ha incurrido en conducta alguna que pueda considerarse como transgresión de la integridad científica o de los principios éticos que rigen las publicaciones científicas.

## BIOMÉDICA

### Lista de verificación

Con el fin de comprobar que se hayan cumplido todas las instrucciones correspondientes a las normas de publicación de la revista *Biomédica*, le solicitamos que diligencie en línea la siguiente lista de verificación y la presente junto con su manuscrito.

#### Categoría

- |                                               |                                                    |                                       |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Artículo original    | <input type="checkbox"/> Comunicación breve        | <input type="checkbox"/> Nota técnica |
| <input type="checkbox"/> Revisión de tema     | <input type="checkbox"/> Reseña histórica          | <input type="checkbox"/> Ensayo       |
| <input type="checkbox"/> Comentario           | <input type="checkbox"/> Imágenes en biomedicina   |                                       |
| <input type="checkbox"/> Presentación de caso | <input type="checkbox"/> Haga usted el diagnóstico |                                       |
| <input type="checkbox"/> Carta al editor      | <input type="checkbox"/> Reseña bibliográfica      |                                       |

#### 1- Presentación

- ☐ Texto escrito a doble espacio en fuente Arial de 12 puntos de tamaño y alineado a la izquierda
- ☐ Páginas numeradas consecutivamente en la esquina inferior derecha

#### 2- Título

- ☐ Se incluyen los títulos en español e inglés (máximo 165 caracteres).
- ☐ Se incluye el título abreviado en español, o inglés en los casos pertinentes (máximo 50 caracteres).
- ☐ Los autores aparecen sólo con su afiliación institucional, sin mencionar cargos ni títulos académicos.
- ☐ El autor de la correspondencia suministró los datos completos: nombre, apellidos, dirección, teléfono, fax y dirección electrónica.

#### 3- Resumen

- ☐ Se incluye el resumen estructurado en español e inglés, con una extensión máxima de 250 palabras y con los siguientes subtítulos: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones.
- El resumen estructurado solo se requiere para artículos originales y comunicaciones breves.

#### 4- Palabras clave

- ☐ Se incluyen 6 a 10 por artículo en cada idioma.
- ☐ Se usan las palabras clave en español e inglés indexadas en los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) (<http://decs.bvs.br/E/homepagee.html>) y *Medical Subject Headings* (MeSH) (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>).

#### 5- Estructura del artículo original, nota técnica y comunicación breve

Se incluyen los siguientes apartados:

- ☐ Introducción
- ☐ Materiales y métodos
- ☐ Resultados
- ☐ Discusión
- ☐ Agradecimientos
- ☐ Declaración de conflicto de intereses

- \_\_\_ Financiación
- \_\_\_ Referencias
- \_\_\_ Cuadros y figuras con sus respectivas leyendas

## **6- Figuras**

- \_\_\_ Se incluye cada una en página aparte, con su respectiva leyenda.

## **7- Cuadros**

- \_\_\_ Se adjuntan en hoja aparte, elaborados en el modelo de tablas de Word, configurados en Arial 10 a espacio sencillo.
- \_\_\_ Se ordenan secuencialmente.
- \_\_\_ Se incluye la leyenda correspondiente.

## **8- Referencias**

- \_\_\_ Las referencias se numeran según el orden de su aparición en el texto.
- \_\_\_ Se ordenan secuencialmente y en el formato adecuado, tal y como lo indican las normas de *Biomédica* en las instrucciones para los autores.
- \_\_\_ Cuando se citan referencias en los cuadros, éstas deben seguir el orden que se venía usando en el texto.

## **9- Abreviaturas y siglas**

- \_\_\_ Se anotan entre paréntesis después de la primera vez que aparezcan, en forma completa y en el idioma original, los términos que se abrevian. Debe evitarse el uso y la creación de siglas que no sean universalmente reconocidas.

## **10- Nomenclatura**

- \_\_\_ Los nombres taxonómicos de género y especie están escritos en letra cursiva.
- \_\_\_ Los nombres de microorganismos se escriben completos la primera vez que se citan, incluso en el título y en el resumen; después, se usa solamente la inicial del género y el nombre completo de la especie.

## **11- Consideraciones generales**

- \_\_\_ Se envió carta impresa firmada por todos los autores o, en caso de autores radicados en el extranjero, una carta de remisión firmada y escaneada desde sus correos electrónicos personales.
- \_\_\_ Se incluyó el formato de declaración de conflicto de interés diligenciado por cada uno de los autores.
- \_\_\_ Se obtuvo autorización del Comité de Ética para la experimentación en humanos o animales, la cual debe incluirse al final de la sección de Materiales y métodos.
- \_\_\_ Se incluyeron el sitio y el número de registro del ensayo clínico, para la intervención y experimentación en humanos.
- \_\_\_ Los autores certifican al Comité Editorial que las personas mencionadas en los agradecimientos tienen conocimiento de dicha mención y están de acuerdo con aparecer en ellos.
- \_\_\_ Todos los manuscritos incluyen una declaración sobre la fuente de financiación.
- \_\_\_ Se envían los nombres de los cuatro evaluadores nacionales y los cuatro internacionales, con sus respectivos datos (nombre, afiliación institucional y correo electrónico).

## Instructions to authors

### Scope and policy

*Biomédica* is the quarterly journal of the *Instituto Nacional de Salud of Colombia* [Colombia's National Institute of Health]. Its main purpose is to publish the results of original research that may contribute to expand knowledge in biomedicine.

### Editorial policy

*Biomédica* accepts and subscribes the guidelines established by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)), by the Equator Network (<http://www.equator-network.org/>) and by the Committee on Publication Ethics (COPE) (<http://publicationethics.org/>) in order to guarantee the quality of scientific publications, their transparency, integrity and full compliance with the ethical principles applicable to biomedical research.

*Biomédica's* policy on authorship adheres to the ICMJE guidelines, which state in this regard that:

"Authorship should be based solely on the following:

- 1) Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
- 2) drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
- 3) final approval of the version to be published, and
- 4) responsibility for all aspects of the manuscript to ensure that matters concerning accuracy and completeness of any of its sections have been appropriately investigated and solved.

All authors should meet these four conditions. Fund raising, data collection or general supervision of the research group do not justify authorship."

*Biomédica* will not accept the inclusion or withdrawal of any author from the original list once the manuscript has started the editorial process. In exceptional, applicable cases, it will be mandatory to obtain written consent of the author(s) whose name(s) are to be removed from or added to the manuscript. Besides, written consent should be sent stating that all authors meet authorship criteria, and that there are no other authors who meet these criteria and are not mentioned. The document should also describe in detail the contribution of each participant to the research work and to the article.

### Clinical trials registration

*Biomédica* subscribes the policies of the World Health Organization (WHO) and the International Committee of Medical Journals Editors (ICMJE) regarding clinical trials registration. Therefore, it will accept for publication only those manuscripts on clinical research exhibiting the identification number from one of the clinical trial registries validated according to the criteria established by WHO and the ICMJE. The identification number and place of registry should be mentioned after the Abstract.

### Copyright notice

No national or foreign publication may reproduce or translate articles or abstracts from *Biomédica* without previous written authorization by the Editorial Board.

### Privacy statement

The names and e-mail addresses provided to *Biomédica* will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.

### Editorial process

All manuscripts submitted for publication to *Biomédica* will be reviewed by the Editorial Board and sent for peer review to at least two experts. To facilitate this process, authors must suggest and send via the journal on-line platform the names, institutional affiliation and e-mail addresses of four national and four international reviewers whose names should not be included in the manuscript.

Once the authors receive the reviewers' comments, they must address each comment, in addition to incorporating the corresponding modifications in the text. The authors must reply to the reviewer comments within two weeks after receiving them; if *Biomédica* has not received the authors' reply during the following four weeks, the paper will be withdrawn.

Once the paper has been accepted for publication, the Editorial Board will not accept modifications in its content, and it will request a copyright transfer statement signed by all authors. Additionally, authors should certify the quality of the English language in the manuscript or in the abstract on a document signed by an expert and sent to the journal before two weeks.

The original manuscripts of articles accepted to be published will remain in the journal files for a minimum of one year after publication. Once the paper has been accepted for publication, and after editing and style correction, authors will receive the galley proofs, which must be carefully reviewed and returned to the editors within 48 hours after receipt by the authors.

*Biomédica* is an open access journal and it includes citation metadata for all references in published articles, all of which are deposited in CrossRef (<http://www.crossref.org/>).

### General information on manuscripts

*Biomédica* will publish scientific papers written in Spanish or English, in the following categories:

**Original articles:** Unpublished manuscripts resulting from biomedical research which present new information about specific aspects and provides a relevant contribution to scientific knowledge.

**Short communication:** Report of partial or final results of research whose rapid disclosure is of great importance.

**Technical note:** Detailed description of a new laboratory technique or of modifications done to an established technique, emphasizing the advantages that the process has, or the importance of the innovation developed.

**Essay:** A philosophical, literary, or scientific manuscript that presents an author's documented opinion about a specific topic or a topic of current interest.

**Commentary:** A manuscript about an article published in the journal.

**History:** A manuscript that places emphasis on historical personalities or facts, and their contributions to the development of biomedical sciences or health policies.

**Topic review:** the current state of the art on a specific topic; it includes two categories:

- 1) Requested by the Editorial Board to experts on a topic.
- 2) Presented by professionals interested in a particular topic. For this option, authors must send a proposal indicating why the topic selected is relevant to the readers of *Biomédica* including a brief description, some key references, publications by the authors on the topic that are to be cited (mandatory), unpublished data by the authors that are to

be included (mandatory), the probable size of the manuscript and the approximate number of illustrations.

In both categories, authors should include the following elements:

- An abstract with emphasis on the significance of recent findings;
- a pointed introduction to the topic showing past landmarks and present developments;
- appropriate subtitles to facilitate a better understanding of the manuscript;
- the development of the topic is left to the discretion of the authors, but they are advised to include tables, graphics and figures to provide a clearer understanding of the text. In case figures are taken partially or totally from other publications, authors must attach the permission from the copyright holder for their reproduction in *Biomédica*.

**Images in biomedicine:** An illustrated paper with photographs demonstrating and explaining a concept, a structure, a disease or a biomedical diagnosis. It must include a short commentary emphasizing the importance of the illustrated topic.

**Make your own diagnosis:** The purpose of papers presented in this category is to challenge the diagnostic ability of readers, using illustrations or photographs of clinical data, or microscopic findings. It has two parts, the clinical presentation and the corresponding findings in the first part, and the correct diagnosis in the second part. The latter should appear on a separate page and with an updated comment on the disease it highlights.

**Case presentation:** Clinical cases with peculiar presentations or special features of diagnostic value and a brief review of the relevant literature.

**Letters to the editor:** Readers can request explanations or comment on articles published in the journal. The decision to publish these letters lies on the Editorial Board.

**Book review:** Brief critical writings on books about health and biomedicine.

### Preparation of the manuscript

Please follow the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors that are published as "Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals" (updated December 2013) (<http://icmje.org/icmje-recommendations.pdf>).

The manuscript must include the following sections:

**Presentation page:** This section must include the following items:

- Manuscript title (maximum 165 characters)
- Running title for page headlines (maximum 50 characters)
- Spanish title (maximum 165 characters)
- A paragraph with the authors' full names (include only first family name)
- The institutional affiliation of each author including the name of their group, institution, city and country. The link of authors' names and institutional affiliation should be done using numbers in superscript. Omit positions held and academic qualifications.
- Name of corresponding author, along with postal address, telephone and fax numbers and e-mail address
- A paragraph stating authors' specific contribution to the article.

**Abstracts:** The manuscript must include a structured abstract (introduction, objective, materials and methods, results and conclusions) in both Spanish and English, not longer than 250 words. The use of references is not allowed in the abstract, and the inclusion of abbreviations and acronyms is not recommended.

**Key words:** No more than ten key words in each language are permitted. Authors are advised to verify the English keywords in the Medical Subject Headings (MeSH) of the Index Medicus available from <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>, and the Spanish keywords in *Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS)* of the Latin American and Caribbean Health Sciences index available from <http://decs.bvs.br>

**Text:** All manuscripts, including the presentation page, abstracts, references, tables and titles of figures and tables, should be in double space. Leave only a single space after the end of each paragraph. Use Arial font size 12 for the text and for table and figure titles, and do not justify the text (left justified). Use italic letters for species names or scientific terms; do not underline for italicization.

**Electronic format:** The manuscript must be received as an MS Word™ file, preferably in the 97-2003 version. Figures should come attached

to the Word document and they should be sent preferably in a 300 dpi tiff format. Graphics made with Power Point™ or MS Word programs are not acceptable because of low resolution. Illustrations are printed in a single column (75 mm) or in two columns (153 mm), therefore, illustrations must be sent in one of these two print sizes. In the case of color illustrations, please use CMYK files in a high resolution tiff format. The best resolution for CMYK files is 300 dpi if the image does not include text. If the image includes text, the recommended resolution is 600 dpi; if it is black and white, the recommended resolution is 1200 dpi. The recommended font for graphics is Helvetic. If your files are Macintosh, please convert them to one of the above formats. A complete list of the files must be sent including the names of the programs in which they were formatted.

**Acknowledgements:** Authors should certify that persons mentioned in the Acknowledgements have been informed and they have agreed to it. This is not required in the case of institutions.

**Conflicts of interest and financial support statements:** Authors must place these statements before the References section in separate paragraphs.

*Biomédica* subscribes the ICMJE recommendations in this respect and adopts their format for the statement of potential conflicts of interest, which should be filled out individually by each author and sent along with the letter of submission. The electronic format is available from <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/>.

**References:** Strict adherence to the guidelines of the uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals is required. A number is assigned to each reference as it appears in the manuscript, the tables and figures in ascending order. The reference numbers are placed within parenthesis (not as indices or superscripts).

Personal communications, unpublished data, manuscripts in preparation or submitted for publication, and abstracts presented at congresses or other scientific meetings must not be numbered but rather referenced in the text within parenthesis.

Consult the periodical publications list of Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/tsd7serials7lij.html>) for exact abbreviations of journal names. If the journal is not listed, write its full title. Include only the first six authors of the article, followed by *et al.* The inclusion of national and Latin-American references

is recommended. For this purpose, please consult Lilacs, Latindex, Sibra, or Colciencia's indices, and other pertinent bibliographic sources.

The following are some examples of references from different types of publications according to the Vancouver style.

**Scientific journal:** The adequate way of citing scientific journals is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title. Journal's abbreviated name. Year;volume:initial page-last page. <http://dx.doi.org/>

Examples:

**Alter G, Malenfant JM, Altfeld M.** CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods*. 2004;294:15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2004.08.008>

**Sánchez J, Villada OA, Rojas ML, Montoya L, Díaz A, Vargas C, et al.** Efecto del zinc aminoquelado y el sulfato de zinc en la incidencia de la infección respiratoria y la diarrea en niños preescolares de centros infantiles. *Biomédica*. 2014;34:79-91. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1581>

**Book or document:** The adequate way of citing books or documents is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title. Edition (when applicable). Place of publication: Publisher; year. Initial page-last page or total number of pages.

Example:

**Bernard HR.** Research methods in anthropology: Qualitative and quantitative approaches. Second edition. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 1994. 585 p.

**Book chapter or document:** The adequate way of citing book chapters or documents is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title of chapter. In: name of book author(s), editor(s). Title of book. Edition (when applicable). Place of publication: Publisher; year. Initial page - last page or total number of pages.

Example:

**Restrepo A, Tobón AM, Agudelo CA.** Paracoccidioidomycosis. In: Hospenhal DR, Rinaldi MG, editors. *Diagnosis and treatment of human mycoses*. 1st edition. Totowa, NJ: Humana Press; 2008. p. 127-331.

**Documents in web sites:** The adequate way of citing documents published in web sites is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title. Citation date: day, month, year. Available from: exact link to open the document.

Example:

**Nucci M, Colombo AL.** Clinical manifestations and diagnosis of acute/subacute paracoccidioidomycosis. UpToDate. 2012. Citation date: October 15, 2012. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-acute-subacute-paracoccidioidomycosis>.

**Tables and figures:** Tables must be formatted using the Word processing tool for this purpose. Do not include columns or tabulations within the text of the manuscript.

Regarding microscope slides, include the staining and lens increase in the objective, but do not include the value of the ocular.

In the case of tables or figures previously published, an authorization by the copyright holder should be attached for publication in *Biomédica*.

### Manuscript submission

The manuscript should be submitted to *Biomédica's* on-line platform using the link "*Información para autores*", available from <http://www.revistabiomedica.org/>. However, a printed letter signed by all authors stating that they know the contents of the manuscript, that they agree to its submission for publication in *Biomédica*, and explicitly stating that the manuscript has not been published or submitted for publication to any other journal should be sent to the following address:

Revista Biomédica  
Instituto Nacional de Salud  
Avenida Calle 26 No. 51-20, bloque B, oficina B-245  
Bogotá D.C., Zona 6, Colombia

Authors living in foreign countries may send the letter signed and scanned via e-mail to *Biomédica's*

e-mail: [biomedica@ins.gov.co](mailto:biomedica@ins.gov.co), explaining that they do so because they are settled abroad.

Once the printed letter of submission (in the case of local authors), or the e-mails (in the case of authors abroad) have been received at *Biomédica*'s office, the editorial review process will start.

The submission of a manuscript to *Biomédica* for publication implies the acceptance by the authors of the following:

- Full knowledge and strict adherence to the instructions to authors;

- compliance with the internationally accepted authorship criteria;
- inclusion of all authors that meet authorship criteria;
- total agreement with the final version of the manuscript submitted for publication, and
- no engagement in any conduct that may be considered a transgression of the scientific integrity or the ethical principles of scientific publications.

## Checklist for submitted manuscripts

For the purpose of verifying that authors have complied with *Biomédica's* publication guidelines, the corresponding author should include the following checklist along with the manuscript:

### Category

- |                                               |                                                  |                                         |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Original article     | <input type="checkbox"/> Short communication     | <input type="checkbox"/> Technical note |
| <input type="checkbox"/> Topic review         | <input type="checkbox"/> Historical paper        | <input type="checkbox"/> Essay          |
| <input type="checkbox"/> Commentary           | <input type="checkbox"/> Images in biomedicine   |                                         |
| <input type="checkbox"/> Case presentation    | <input type="checkbox"/> Make your own diagnosis |                                         |
| <input type="checkbox"/> Letter to the editor | <input type="checkbox"/> Book review             |                                         |

### 1. Presentation

- ☐ Text written in double space, in Arial font size 12 point, on one side of letter-size pages
- ☐ Pages numbered consecutively

### 2. Title

- ☐ Title in Spanish and English (maximum 165 characters)
- ☐ Running title in the same language used in the text of the manuscript (Spanish or English, maximum 50 characters)
- ☐ Authors' names with institutional affiliations (do not include current positions or academic titles)
- ☐ Corresponding author's information: name, postal address, phone number, fax number, e-mail address

### 3. Abstracts

- ☐ Structured abstract both in Spanish and English (maximum 250 words) using the following subtitles: Introduction, Objective(s), Materials and methods, Results, Conclusion(s). The inclusion of a structured abstract applies only for original articles and short communications.

### 4. Keywords

- ☐ 6 to 10 per manuscript in each language
- ☐ Keywords in English previously verified in the Medical Subject Headings (MeSH) of Index Medicus available from <http://www.nlm.nih.gov/mesh7meshhome.htm>, and Spanish keywords verified in *Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS)* of the Latin American and Caribbean Health Sciences index available from <http://decs.bvs.br>

### 5. Structure of an original article, technical note or short communication

Include the following sections:

- ☐ Introduction
- ☐ Materials and methods
- ☐ Results
- ☐ Discussion
- ☐ Acknowledgements
- ☐ Conflicts of interest statement
- ☐ Financial support statement

\_\_\_ References

\_\_\_ Tables and figures with their corresponding titles.

## **6. Figures**

\_\_\_ Figures should go on a separate page with its corresponding title

## **7. Tables**

\_\_\_ Tables should go on a separate page, in Word format using font Arial size 10 and single space

\_\_\_ Tables should be numbered consecutively in their order of appearance in the text

\_\_\_ Include titles for all tables and figures.

## **8. References**

\_\_\_ References should be numbered consecutively according to the order of citation in the text.

\_\_\_ *Biomedica*'s guidelines for citing references must be followed strictly.

\_\_\_ If references are cited in tables or figures, please continue with the consecutive order used in the text.

## **10. Use of abbreviations and acronyms**

\_\_\_ Write the complete term in its original language with the corresponding abbreviation in parenthesis.  
Avoid using abbreviations and acronyms that are not universally accepted.

## **11. Nomenclature**

\_\_\_ Names of genus and species are written in italics

\_\_\_ Microorganisms scientific names should be written in full the first time they appear in the text, as well as in the title and in the abstracts; after, just use the first letter of the genus followed by a dot and the complete name of the species.

## **12. General considerations**

\_\_\_ Printed letter of submission signed by all authors. In the case of authors living abroad, the letter should be signed, scanned and sent from their personal e-mails.

\_\_\_ Conflicts of interest statement in the corresponding form filled out by each author.

\_\_\_ Manuscripts presenting results from research conducted on human subjects or animals include an explicit statement that ethical clearance was requested and obtained from an institutional ethics committee. This statement goes at the end of the Materials and methods section.

\_\_\_ Site and registration number for clinical trials in human subjects.

\_\_\_ Authors certify that the persons whose names are mentioned in the Acknowledgements section are fully aware of this and agree to their inclusion.

\_\_\_ The financial support statement was included.

\_\_\_ The names, institutional affiliation and e-mails of the four national and four international reviewers suggested by the authors were included in the letter of submission.